

OCORRÊNCIA DE AFLATOXINAS EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS E O DESENVOLVIMENTO DE ENFERMIDADES

Renata Akemi Prieto Sakata¹; Sandra Papesky Sabbag²; Janini Tatiane Lima Souza Maia³

1. Farmacêutica especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas pelas Faculdades Oswaldo Cruz
2. Professora nos cursos de especialização das Faculdades Oswaldo Cruz
3. Doutoranda em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa
(janinitatimaia@yahoo.com.br)

Data de recebimento: 07/10/2011 - Data de aprovação: 14/11/2011

RESUMO

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por fungos, que se desenvolvem naturalmente em alimentos como amendoim, milho, feijão, arroz e trigo e podem causar micotoxicoses, razão pela qual é importante compreender seus mecanismos de ação e desenvolver métodos de prevenção e controle. Apresentam grande variedade em suas estruturas químicas podendo afetar o metabolismo de carboidratos e lipídios, e a síntese de esteróides, proteínas e ácidos nucleicos. Quando ativadas metabolicamente podem alterar a estrutura do DNA e RNA por meio de ligação covalente branda e reversível ou ligação covalente irreversível.

As aflatoxinas são um grupo de micotoxinas bastante difundidas, produzidas por fungos do gênero *Aspergillus* e relatadas como hepatotóxicas, mutagênicas, imunossupressoras e neoplásicas. A depender da quantidade ingerida, frequência de ingestão e idade do indivíduo podem relacionar-se a cirrose, necrose do fígado, encefalopatia e aumento da susceptibilidade a hepatite B. Dentre as aflatoxinas destacam-se as denominadas B1, G1, B2 e G2, especialmente a B1 que tem elevada hepatotoxicidade. A biotransformação das aflatoxinas ocorre principalmente no fígado e diferentes enzimas podem atuar na detoxificação. Os produtos formados são bastante solúveis em água possibilitando sua rápida excreção através da urina, bile ou fezes. A potência de seus efeitos depende do balanço entre múltiplas vias de ativação metabólica e detoxificação. A aflatoxicose pode ser aguda ou crônica, não havendo tratamentos específicos para combatê-la. As medidas preventivas ainda são as melhores opções e passam pela adoção de boas práticas durante a colheita, secagem e armazenamento dos produtos, especialmente grãos. Na produção de rações animais podem ser empregados bentonitas e silicatos de alumínio que atuam como adsorventes das micotoxinas. Conclui-se que há necessidade de mais informações dose-reposta para aflatoxicoses agudas e crônicas, sobre os mecanismos e processos envolvidos na ação das aflatoxinas. Também é necessário o desenvolvimento de técnicas de detecção rápidas e de baixo custo. Tais informações permitiriam maior acurácia no estabelecimento de limites toleráveis, no monitoramento e fiscalização da ocorrência dessas toxinas, além de facilitar o tratamento adequado em casos de intoxicação. Medidas educativas no sentido da prevenção do desenvolvimento de fungos durante a produção, armazenamento e industrialização dos alimentos são também necessárias.

PALAVRAS-CHAVE: aflatoxinas, micotoxinas, carcinoma hepatocelular, toxicidade

OCCUR OF AFLATOXIN IN FOOD PRODUCTS AND DEVELOPMENT OF DISEASE

ABSTRACT

The mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by fungi that grow naturally in foods such as peanuts, corn, beans, rice, wheat and can cause mycotoxicoses, so it is important to understand their mechanisms of action and develop methods of prevention and control. Show a lot of variety in their chemical structures may affect the metabolism of carbohydrates and lipids, and the synthesis of steroids, proteins and nucleic acids. When activated metabolically they can change the structure of DNA and RNA through soft and reversible covalent link or connection covalently bound irreversible. The aflatoxins are a group of mycotoxins fairly distributed, produced by fungi of the genus *Aspergillus* and reported as hepatotoxic, mutagenic, immunosuppressive and neoplastic. According with the amount ingested, frequency of intake and age of the individual can relate to cirrhosis, necrosis of the liver, encephalopathy and increased susceptibility to hepatitis B. The main aflatoxins are B1, G1, B2 e G2 especially the B1 which has high hepatotoxicity. Its biotransformation occurs mainly in the liver through of enzymes different that can act in detoxification. The products formed are quite soluble in water enabling its rapid excretion in the urine, bile or feces. The power of its effects depends on the balance between multiple routes of metabolic activation and detoxification. The aflatoxicose may be acute or chronic, with no specific treatments to combat it. Preventive measures are still the best option and good practices during the harvesting, drying and storage of products, especially grains must be made. It is concluded that there is a need for more information for dose-response aflatoxicoses acute or chronic, on the mechanisms and processes involved in the action of aflatoxins. It also requires the development of techniques for rapid detection and low cost. Such information would allow greater efficiency in the establishment of tolerable limits, in the tracking and monitoring of the occurrence of these toxins, as well as facilitate the proper treatment in cases intoxication. Educational measures must be made to prevention of the development of fungi for the production, storage, and industrialization food.

KEYWORDS: aflatoxin, mycotoxins, hepatocellular carcinoma, toxicity.

INTRODUÇÃO

A história das micotoxinas começa em 1960, quando um surto de mortes inexplicáveis de aves no Reino Unido (especialmente perus) foi investigado. O surto ficou mundialmente conhecido como 'Doença X dos perus'. Investigações posteriores levaram à conclusão que o problema estava na ração que estava contaminada com uma substância fluorescente produzida pelo *Aspergillus flavus*, um fungo filamentosso produtor de grandes quantidades de aflatoxinas (BENNETT & KLICH, 2003; CALVO, 2005).

A presença de micotoxinas em alimentos é um sério problema para saúde pública e para a qualidade dos alimentos. Apesar do conhecimento sobre a toxicidade dos metabólitos secundários produzidos por inúmeras espécies de fungos filamentosos e da crescente preocupação em se investigar e evitar intoxicações, são ainda registrados, na atualidade, surtos de aflatoxicose (BENNETT & KLICH, 2003; LEWIS, et al., 2005).

As micotoxinas provem do metabolismo secundário de fungos, cujas principais características são: amplo espectro de toxicidade, baixo peso molecular,

não-imunogenicidade, termo-estabilidade e atuação em baixas concentrações (BOK et al., 2004). A maioria das micotoxinas afetam órgãos e tecidos, induzindo várias patologias, tais como Síndrome de Reye, hepatocarcinoma, necrose aguda, cirrose e encefalopatia (HOCKING, 2006; SCHMIDT & RODRICK, 2003).

As aflatoxinas são um grupo de micotoxinas de intensa importância em alimentos e rações. As aflatoxinas podem ser produzidas por três espécies de fungos do gênero *Aspergillus* que comprometem a saúde pública causando preocupação econômica e ambiental: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus* e *A. ochraceus* (CALVO, 2005). Os principais tipos de interesse médico-sanitário são identificados como B1, B2, G1 e G2. Estes compostos caracterizam-se pela elevada toxicidade que apresentam. A aflatoxina B1 é a que apresenta maior poder toxigênico, seguida de G1, B2 e G2 (COULOMBE, 1991).

A hipótese de associação causal entre a ingestão de aflatoxinas e o desenvolvimento de enfermidades humanas continua sendo ainda hoje, objeto de controvérsias. Mesmo assim, desde a descoberta das aflatoxinas, em 1960, diversos países adotaram limites de tolerância para essas toxinas em produtos destinados ao consumo humano (HARRISON, 1993; FAO, 2004; KOLOSOVA et al., 2006). Desconhece-se, contudo, se estes valores ainda representam ou não, risco significativo para o desenvolvimento de enfermidades. Portanto, O objetivo deste trabalho é mostrar importantes características das aflatoxinas, bem como o mecanismo de ação e possíveis danos ocasionados a animais e homens pela ingestão das mesmas.

MICOTOXINAS

As micotoxinas compreendem um conjunto complexo de substâncias tóxicas e compostos químicos venenosos, produzidos por fungos, diferenciando-se das toxinas bacterianas por não serem de natureza protéica e nem imunogênica. Há muitos desses compostos, mas apenas alguns deles são regularmente encontrados em alimentos e rações animais como grãos e sementes. Entretanto, aqueles que realmente são encontrados em alimentos têm grande importância para a saúde humana e animal (FAO, 2001).

A contaminação de alimentos e rações por micotoxinas pode variar de acordo com as condições ambientais, métodos de processamento, produção e armazenamento dos produtos. A temperatura é um dos principais fatores envolvidos nesse processo e, em grãos, a faixa viável para a sua produção situa-se entre 11 e 37°C. Os fungos toxigênicos podem infectar os cultivos em crescimento, em consequência de danos causados por insetos e outros agentes e produzir toxinas antes da colheita, durante essa e após seu armazenamento (ZLOTOWSKI et al., 2004; MALLMANN et al., 1994).

Dentre as micotoxinas que ocorrem com maior frequência em alimentos tem-se: a) as aflatoxinas que podem ser produzidas por fungos como *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nominus*, e dentre os vários tipos destacam-se B1, B2, G1 e G2 (YU et al., 2005; BOK et al., 2004);

b) as fumonisinas e os tricotecenos, que incluem deoxinivalenol e zearalenona, são produzidos por fungos do gênero *Fusarium* (POZZI et al., 2002);

c) a patulina produzida por diversas espécies de fungos sendo que o mais citado é do gênero *Penicillium* (MACHINSKI JR & MÍDIO, 1995);

d) as ocratoxinas produzidas por diversas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (LEESON et al., 1995)

Diferenças genéticas contribuem com que algumas cepas das espécies de fungos não sejam produtoras de micotoxinas. Porém, se for controlado o crescimento de fungos, controla-se indiretamente a produção de micotoxinas (OGA, 1996). Por outro lado, a inexistência de sinais de contaminação fúngica não isenta completamente o alimento da presença de toxinas, uma vez que elas podem permanecer no produto mesmo depois da eliminação dos fungos (SABINO, 1996).

A contaminação por micotoxinas pode variar de acordo com as condições ambientais (nutrientes, luz, oxigênio, temperatura, pH, umidade relativa do ar e do substrato), métodos de processamento, produção e armazenamentos dos produtos. A temperatura é o fator que mais influencia na contaminação, sendo que em grãos esta varia entre 11 e 37°C (ZLOTOWSKI et al., 2004).

Mecanismo de atividade bioquímica

Nenhum mecanismo de ação é genérico para as micotoxinas, nem sequer uma mesma, em circunstâncias diferentes. Dessa forma, o mecanismo de ação de uma micotoxina em células de mamíferos pode não ser aplicável para plantas e microorganismos, se estiver envolvida atividade metabólica (OGA, 1996).

A diversidade de doenças de animais e humanas atribuídas às micotoxinas são devidas ao seu tamanho relativamente pequeno e à grande variedade de suas estruturas químicas, sendo que os sintomas das micotoxicoses são resultados de interações das micotoxinas com moléculas funcionais e organelas da célula animal (OGA, 1996; SONGSERMSAKUL & RAZZAZI – FAZELI, 2008)

As micotoxinas causam alterações metabólicas que envolvem inibição da síntese protéica, ácidos nucleicos e lipídios, stress oxidativo e interrupção do ciclo celular, (CREPPY et al., 2004; LUMEIJ, 1997; BRADBURN & COKER, 1993; ELLIS et al., 1991). Tais alterações provocam lesões em alguns órgãos, o que pode comprometer a capacidade alimentar e reprodutiva de animais (D'MELLO et al., 1999), por causar efeitos biológicos como carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, hepatotoxicidade e micotoxicoses (ELLIS et al., 1991; BRADBURN & COKER, 1993). Ratos submetidos à dieta contaminada com níveis elevados de zearalenona apresentaram efetivas alterações metabólicas (SZKUDELSKA, 2002).

Compreendendo o mecanismo de ação das micotoxinas sobre os processos vitais dos seres vivos, torna-se possível o desenvolvimento de métodos eficazes para o seu controle e prevenção.

Detecção de micotoxinas

Como nem todas as linhagens entre os fungos micotoxigênicos são produtoras de toxinas torna-se necessário a aplicação de métodos que propiciem a rápida e fácil identificação das mesmas (SAITO & MACHIDA, 1999). No entanto, as micotoxinas ocorrem e exercem seus efeitos em quantidades extremamente pequenas nos alimentos, o que requer geralmente uma amostragem, preparação de amostras, extração e técnicas de análise sofisticadas para a identificação e avaliação quantitativa da toxicidade (FAO, 2001).

As análises quantitativas e qualitativas de toxinas produzidas por fungos podem ser realizadas por cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS), cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS), cromatografia gasosa-espectroscopia infravermelho (GC-IV), imunoenaios pelo método ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), aglutinação de látex (RPLA), imunodifusão, imunoafinidade, biosensores separação imunomagnética e imunohistoquímica

(PALLARONI & VON HOLST, 2003; PETTERSSON; 2003; van der GAAG, et al., 2003; SOLEAS et al., 2001; SCOTT & TRUCKSESS, 1997; PESTKA et al., 1994). Outros tipos de técnicas de detecção de micotoxinas, como aplicação de biosensores de ressonância plásmica de superfície, eletrocinética capilar, transdução eletroquímica e monitoramento de injeção de fluxo, vêm sendo desenvolvidos no intuito de simplificar, acelerar e minimizar o custo das análises (GARDEN & STRACHAN, 2001; AMMIDA et al., 2004; KOLOSOVA et al., 2006)

Apesar de serem oficialmente aceitas e validadas, as técnicas analíticas CLAE, CCD e GC demandam altos custos de instrumentação e manutenção, que restringem o seu uso (SYDENHAM & SHEPHARD, 1996). As propriedades cromatográficas das amostras podem ainda apresentar aspectos visíveis semelhantes o que pode comprometer a interpretação dos resultados obtidos. (VALENTA, 1998). Dessa forma, o ensaio imunológico é considerado a técnica analítica alternativa na análise de micotoxinas em alimentos (XIULAN et al., 2005; KOLOSOVA et al., 2006).

Prevenção e controle das micotoxinas

A contaminação por micotoxinas em alimentos e derivados não configura um problema apenas de países pobres. A economia de muitos países é afetada por a ocorrência de micotoxinas interferir ou impedir a exportação, reduzir a produção animal e agrícola e comprometer a saúde humana (LEUNG et al., 2006). A contaminação durante o armazenamento está associada aos fungos das espécies *Aspergillus* e *Penicillium*, enquanto que as espécies do gênero *Fusarium* podem contaminar com micotoxinas produzidas antes ou pós-colheita (KABAK et al., 2006).

A contaminação ocasionada por micotoxinas, em geral, não pode ser visualizada a olho nu, sendo assim, os produtos uma vez contaminados seguem para comercialização, com a presença de compostos capazes de provocar enfermidades e muitas vezes levar à morte. Tal mecanismo resulta em uma exposição contínua a pequenas doses de micotoxinas, levando animais ou até mesmo seres humanos a desenvolver patologias crônicas ou toxicoses difusas (CALVO, 2005).

Todos os consumidores de uma cadeia alimentar podem ser contaminados por meio de grãos infectados ração, leite, ovos e carnes contendo micotoxinas. Torna-se crucial, portanto, o controle da contaminação nas diferentes etapas de produção, armazenamento e processamento de alimentos, o que requer a utilização de técnicas que visam monitorar a dispersão das micotoxinas (PITT & KOCHING; CALVO, 2005).

Inúmeros fatores atuam em conjunto favorecendo a contaminação de uma cultura ou forragem por fungos, o que dificulta o controle da ocorrência de micotoxinas. As mudanças climáticas, por exemplo, contribuem para que fungos que não eram encontrados em determinadas áreas agora sejam agentes contaminantes (MABBETT, 1999). O monitoramento dos grãos ou da própria planta, como a escolha de genótipos de plantas mais resistentes à contaminação por fungos tóxicos, é uma das recomendações práticas fundamentais para o controle de micotoxinas, quantificando os níveis de contaminação dos produtos, subprodutos e derivados de origem vegetal, para assim prevenir e controlá-las no cultivo, colheita e pós-colheita (SABINO, 1999).

Como método preventivo, o uso de inibidores de crescimento fúngico em grãos armazenados é uma alternativa viável, o que não exclui a necessidade de se conseguir matérias-primas para rações animais livres da produção de micotoxinas. As

ações preventivas, no entanto, podem falhar, dessa forma, os métodos de detoxificação utilizados podem ser por remoção física de grãos ardidos, remoção de micotoxinas por solventes, destruição por calor ou degradação de micotoxinas por microorganismo ou substâncias químicas (SANTURIO, 2000). Tais métodos podem ser caros e inviáveis economicamente, no entanto, diversos são os trabalhos que vem sendo desenvolvidos para a busca de alternativas para detoxificação de micotoxinas (SOUZA et al., 2010; PIRES, 2009; PRADO et al., 2006; OLIVEIRA, 2007; PINTO et al., 2005; RASOOLI & ABYANEH, 2004).

Apesar de mais de quatro décadas de descoberta das micotoxinas, nenhum método de prevenção e controle mostrou-se seguro, eficaz e definitivo (PRADO et al., 2006). Atualmente, o monitoramento da qualidade dos alimentos e procedimentos reguladores é o método utilizado para o controle de micotoxinas, sendo que inúmeros países já estabeleceram limites máximos de contaminação em alimentos e rações animais, principalmente para as aflatoxinas (TEIXEIRA et al., 2008).

Dentre as micotoxinas, merece destaque o estudo das aflatoxinas, devido a maior ocorrência em grãos e aos relevantes efeitos patogênicos causados em homens e animais.

AFLATOXINAS

As aflatoxinas são metabólitos secundários que podem ser produzidos por fungos como *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nominus* (YU et al., 2005). Podem ser encontradas em inúmeros produtos alimentícios, como milho, trigo, farinha de trigo, cevada, nozes, pistache, arroz, amêndoa, feijão, semente de algodão, coco, gengibre, pimenta e pimenta malagueta, frutas, pimentão-doce, frutas secas e cerveja, além de estar presente em rações e produtos de origem animal contaminados por rações (HOLLINGER & EKPERIGIN, 1999; JAIMEZ et al., 2000; STROKA et al., 2000; CHIAVARO et al., 2001; YONG & COUSIN, 2001; PAPP et al., 2002; BLESA et al., 2003; VENTURA et al., 2004; LIU et al., 2006).

Essas micotoxinas são derivadas do bisfurano cumarina e consideradas como responsáveis por lesões hepáticas de natureza cancerígena que se manifestam em animais e no homem (MERCK, 1996; OGA, 1996; PAPP et al., 2002). Substratos com elevado teor de umidade ou grãos com danos mecânicos e predominância de altas temperaturas e umidade relativa do ar contribuem com a biossíntese de aflatoxinas (BULLERMAN et al., 1984; JAIMEZ et al., 2000; PAPP et al., 2002; TARÍN et al., 2004; ABBAS et al., 2006).

As aflatoxinas compõem-se de quatro substâncias principais: B1, B2, G1 e G2. As aflatoxinas M1 e M2 constituem-se como metabólitos hidroxilados de AFB1 e AFB2, respectivamente, que são encontrados no leite e derivados, carne e excretados na urina (DINIZ, 2002; CHIAVARO et al., 2001) (Figura 1). O metabólito mais importante é a aflatoxina B1 (AFB1), devido sua elevada hepatotoxicidade e maiores concentrações nos substratos, seguida de G1, B2 e G2. As aflatoxinas são comumente encontradas em diversos alimentos utilizados como ração de animais, principalmente em grãos (MALLMANN et al., 1994). São toxinas de baixo peso molecular, e de reduzida hidrossolubilidade, porém, são bastante solúveis em solventes de polaridade intermediária (MERCK, 1996).

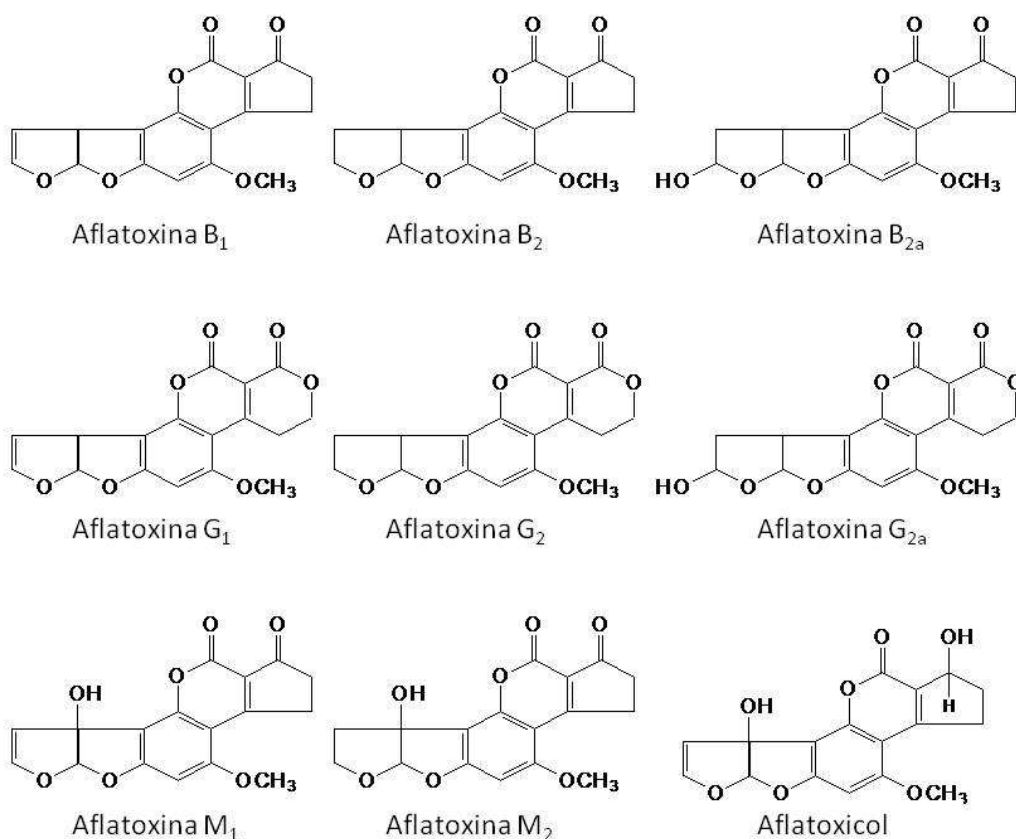


FIGURA 1 – Estrutura química das principais aflatoxinas.
Fonte: WILSON, 2005 (adaptado)

Alguns produtos alimentícios como amendoim, milho, feijão, arroz, trigo, entre outros, podem conter aflatoxinas desenvolvidas de forma natural. Dentre eles, o amendoim é o mais sensível, sendo que a invasão de microorganismos neste cereal pode ocorrer no solo, durante o processo de formação de sementes, na colheita, nas fases de secagem, beneficiamento e armazenamento (BRUNO, 2000).

Todos os cereais, sem exceção, devem ser alvos de controle, pois podem estar contaminados. O arroz e o feijão, entretanto, exigem um olhar mais atento, por se tratar de alimentos que diariamente estão na mesa do brasileiro. Estudos anteriores demonstraram que o arroz não é um dos alimentos mais suscetíveis às aflatoxinas, mas pode contê-las (NUNES et al., 2003).

Efeitos da aflatoxina B1

A aflatoxina B1 é um pró-carcinógeno que para a manifestação de seus efeitos tóxicos requer a ativação metabólica, cuja forma ativada é o composto 8,9-óxido de AFB1 (WOGAN, 1992). Tal composto pode reagir rapidamente por ligações covalentes, com sítios nucleofílicos de macromoléculas como nucleotídeos (DNA e RNA) e proteínas, o que comprova seu maior efeito tóxico quando comparado ao das outras três aflatoxinas (WOGAN, 1992; SANTOS et al., 2001).

Quando consumidas em doses elevadas as aflatoxinas podem ser letais, porém, no caso de exposições subletais podem levar a toxicidade crônica, o que resulta em neoplasias em diversas espécies de animais (COULOMBE, 1991). Os

efeitos tóxicos apresentados dependem da estrutura química da toxina, da sua concentração nos alimentos e rações, do tempo de exposição, animal afetado, quantidade consumida, sexo e estado nutricional (FINK, 1999).

Os primeiros efeitos agudos observados oriundos da AFB1 são danos estruturais e funcionais no fígado, incluindo necrose celular, hemorragias, lesões, fibrose e cirrose (EATON & GROOPMAN, 1994). Quando a exposição às toxinas causa efeitos crônicos, pela ingestão de pequenas doses por longo período, pode conduzir a efeitos mais significativos do que a exposição aguda (MILLER, 1994).

O consumo de rações contendo farelo, milho, ou qualquer outro alimento contaminado com aflatoxinas, pode causar a morte de animais ou diminuir o seu desempenho, desenvolvimento e produção, de maneira que só será percebida quando o prejuízo já ocorreu (MALLMANN et al., 1994). Alimentos e rações contaminados com aflatoxinas ingeridos por mamíferos podem acarretar o aparecimento de produtos de biotransformação destas toxinas em seu leite e conseqüentemente em seus derivados (GALVANO et al., 1996).

Mecanismo de toxicidade e biotransformação da aflatoxina B1

A absorção das aflatoxinas se dá no trato gastrointestinal, sendo, por conseguinte, biotransformadas por enzimas hepáticas com funções oxidases que pertencem à família de enzimas do sistema citocromo P-450 (FORRESTER et al., 1990). A ativação metabólica de AFB1 produz o composto AFB1-epóxido (8,9-óxido de AFB1), por meio da epoxidação da dupla ligação do éter vinílico da molécula de AFB1 (PAPP et al., 2002).

A forma ativada de AFB1 é altamente eletrofílica e as ligações ocorridas com nucleotídeos e proteínas conduz a formação de adutos, caracterizando a primeira lesão bioquímica, ou ainda podem se conjugar a glutatona reduzida (HSIEH & ATKINSON, 1991; FATEMI et al., 2006). Diversos tipos de carcinomas são resultados da ligação entre AFB1 e as guaninas da molécula de DNA, devido a modificação estrutural que compromete a atividade biológica deste nucleotídeo (TONG et al., 2006; LIN et al., 2006).

Os efeitos mutagênicos se processam em duas fases distintas denominadas iniciação e promoção de neoplasia (REDDY et al., 2006). As mutações ocorridas a nível celular determinam a fase de iniciação, e a promoção neoplásica se dá com expressão fenotípica das modificações primárias (GEYIKOGLU & TÜRKEZ, 2005). As lesões bioquímicas geradas em RNA e proteínas caracterizam mecanismos de toxicidade aguda da AFB1 por conduzir à morte celular (CHOY, 1993).

A epoxidação e as reações de hidroxilação e de O-demetilação estão relacionadas com a biotransformação da AFB1, em que há formação das aflatoxinas M1 (AFM1), Q1 (AFQ2) e B2a (AFB2a) nas reações de hidroxilação enquanto que P1 (AFP1) se forma na reação de O-demetilação (BIEHL & BUCK, 1987). A redução de AFB1 produz aflatoxicol (AFL) pela ação enzimática da fração solúvel de preparações hepáticas. Aparentemente a aflatoxicol, bem como os outros derivados, é menos tóxica do que AFB1, porém a conversão AFB1 para AFL é reversível, o que pode acarretar em um reservatório de AFB1 (OGA, 1996; COULOMBE, 1991). A biotransformação da AFB1 para AFM1 em mamíferos resulta no aparecimento de produtos no leite, devido a ingestão de alimentos e rações contaminadas, sendo que a taxa de conversão está em torno de 0,3 a 6,2 % (GALVANO et al., 1996; CREPPY, 2002). AFM1 foi o primeiro metabólito derivado de AFB1 a ser identificado (OGA, 1996).

Os compostos formados pela epoxidação ou pela biotransformação de AFB1 são altamente solúveis em água o que facilita a rápida excreção pela urina ou fezes, o que sugere que o mecanismo de detoxificação de AFB1 esteja vinculado à formação de seus derivados (BIEHL & BUCK, 1987; CALONI et al., 2006). No entanto, a potencialidade de AFB1 e de seus derivados pode ser influenciada pelo balanço integrado entre as várias vias de ativação metabólica e detoxificação (UYSAL & AGAR, 2005; FORRESTER et al., 1990), o que determina a susceptibilidade entre os indivíduos quanto à toxicidade de AFB1 (WOGAN, 1992).

Patogenia

Considerados como potentes agentes carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos e causadores de lesões hepáticas em inúmeras espécies, a aflatoxina B1 logo após a absorção se concentra no fígado onde é metabolizada por hidroxilação, hidratação, dimetilação e epoxidação. Dessa forma, se justifica a afirmação de que o fígado é órgão mais afetado por esta toxina por comprometer o metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios (MALLMANN, 1994).

Devido às reações ocorridas entre AFB1 e DNA, RNA e proteínas, a transição de enzimas e formação de várias destas conduz a graves consequências para o organismo por comprometer o metabolismo energético, produção de anticorpos e mobilização de gordura (BEER, 1999). Os efeitos citotóxicos de AFB1 ocorrem devido a formação de radicais livres dentro dos hepatócitos resultando na peroxidação dos fosfolipídeos e consequente aumento na permeabilidade das membranas plasmática, mitocondrial, do retículo endoplasmático e dos lisossomos, reduzindo a fluidez, inativação completa das proteínas de membrana e despolarização da membrana mitocondrial (BISCHOFF & RAMAIAH, 2007).

Os principais efeitos teratogênicos de AFB1 foram investigados em cobaias de laboratório e consistiram em menor número de nascimentos vivos, baixo peso médio dos nascidos vivos, atraso no desenvolvimento físico, alterações de desempenho de neurocomportamento e coordenação motora prejudicada (KIHARA, 2000). Outros autores relatam ainda indução da fenda palatina, malformação do esqueleto e do sistema nervoso central, retardamento do crescimento intrauterino, carcinogênese transplacental em ratos e imunossupressão seletiva em embriões de pintinhos (WILD & TURNER, 2002).

Aflatoxina B1 e neoplasias

Por se tratar de alterações mutagênicas celulares e suas expressões fenotípicas das mesmas, o processo de neoplasia se dá, portanto, pela ocorrência de alterações genéticas permanentes nas células afetadas (MOTOLA-KUBA et al., 2006). Em espécies animais como peixes, roedores, aves, carnívoros e primatas, o efeito crônico de AFB1 tem sido demonstrado, por indução da formação de neoplasia hepatocelular, mesmo quando as quantidades ingeridas são aparentemente insignificantes (WOGAN, 1992; COULOMBE, 1991). No entanto, a indução de tumores hepáticos varia amplamente entre as espécies, uma vez que certos indivíduos são altamente sensíveis, como peixes e aves, enquanto que os ratos podem tolerar quantidades consideráveis (WOGAN, 1992).

A dose média que induz a produção de tumores, DT_{50} ($\mu\text{g kg}^{-1}$ p.c.dia⁻¹) fornece uma comparação quantitativa das diferenças intra e interespecíficas quanto à biotransformação da AFB1 em relação à bioativação e detoxificação. (MASSEY et al., 1995) (**Tabela 1**).

TABELA 1 – Valores de DT₅₀ de AFB1 em várias espécies animais

| Espécies | DT₅₀ (µg kg⁻¹ p.c.dia⁻¹) |
|-----------------|--|
| Coelho | 0,3 |
| Pato | 0,364 |
| Peru | 0,34 – 0,56 |
| Gato | 0,6 |
| Porco | 0,6 |
| Truta arco íris | 0,81 |
| Cão | 1,0 |
| Cobaia | 1,4 – 2,0 |
| Ovelha | 2,0 |
| Rato (macho) | 5,5 |
| Pinto | 6,5 – 16,5 |
| Macaco | 7,8 |
| Camundongo | 9,0 |
| Hamster | 10,2 |
| Rato (fêmea) | 17,9 |

Fonte: DINIZ, 2002.

A modificação da estrutura e da atividade biológica do DNA ocasionada pela formação de adutos AFB1-DNA induz a formação de tumores hepáticos quando ocorre a exposição de animais à AFB1 (CHOY, 1993; GEYIKOGLU & TÜRKEZ, 2005; FATEMI et al., 2006; LIN et al., 2006). Estudos para compreensão dos mecanismos de ação das micotoxinas sobre estes processos são de extrema importância para o desenvolvimento de métodos de controle e prevenção de micotoxicoses.

Carcinogenicidade de AFB1 para a espécie humana

O câncer hepatocelular (CHC) é uma das neoplasias malignas mais comuns do mundo e consequência da toxicidade crônica de AFB1, com grande amplitude geográfica e incidência maior entre homens, na faixa etária de 30 a 50 anos, do que em mulheres (KEEHN & FRANK-STROMBORG, 1991; TEIXEIRA, 2008). A exposição à aflatoxina B1 potencializa o risco de carcinoma hepático associado ao vírus da hepatite B (HBV), atribuídos como causadores de inúmeras mortes por CHC pelo mundo, envolvendo fatores ambientais na incidência deste tipo de câncer (HUSSEIN & BRASEL, 2001; ROSS et al., 1992; HARRIS, 1991).

Alguns estudos afirmam que em humanos o câncer hepático não está associado diretamente à AFB1, devido à alta incidência dessa enfermidade na África do Sul, Sudeste Asiático, Coréia, Taiwan e China (LEE et al., 2004). Portanto, a etiologia da neoplasia hepática vem sendo considerada como multifatorial, ou seja, uma ação sinérgica entre as aflatoxinas e o HBV que atuaria como favorecedor da manifestação fenotípica do tumor causado pela ação das toxinas fúngicas (MOTOLA-KUBA et al., 2006; HARRIS, 1991). Dessa forma, devido ao evidente risco à saúde humana, os níveis de aflatoxinas são monitorados em vários países, onde existem regulamentação e limites para aflatoxinas em alimentos e/ou rações (VAN EGMOND, 2003).

Em países com muitos casos de carcinoma hepático, estudos mostraram uma associação entre a ingestão de aflatoxina e a incidência de câncer. Doenças

conhecidas como 'Cirrose da Infância Indiana' e a 'Síndrome de Reye' são atribuídas em parte ao envenenamento por aflatoxinas (JAIMEZ et al., 2000). A IARC (*International Agency for Research on Cancer*) classifica AFB1 como o carcinógeno humano e as aflatoxinas G1, B2 e G2 como prováveis causadores de câncer humano (IARC, 1993).

O controle sobre os limites legais para aflatoxinas em alimentos e rações varia entre os países, tendendo a ser mais altos em países produtores de insumos agrícolas e mais baixos em nações consumidoras (CHIAVARO et al., 2001). Dados da FAO (2004) indicam que 119 países tem limites legais estabelecidos. A comissão européia adverte níveis mínimos e estabelece limite de 2ng g^{-1} de AFB1 e 4 ng g^{-1} para aflatoxina total em cereais, frutas secas e nozes para consumo humano direto (LEE et al., 2004; KOLOSOVA et al., 2006). No Brasil, a legislação permite para alimentos destinados ao consumo humano $20\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ para o somatório das aflatoxinas dos tipos B1 e B1 para milho em grão, farinhas ou sêmolos de milho, amendoim e derivados, e $0,5\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$. Já alimentos destinados ao consumo animal o limite é de $50\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$, incluindo aquele de ingestão direta ou matéria-prima de rações (BRASIL, 2002). A Organização Mundial de Saúde estabelece o nível de 5 ng g^{-1} para AFB1 em produtos alimentícios, enquanto que aflatoxinas totais não devem ultrapassar o nível de 10 ng g^{-1} (PAPP et al., 2002).

Prevenção, controle e tratamento de aflatoxicoses

O tratamento de aflatoxicoses é ainda um grande desafio, no entanto, medidas profiláticas permanecem como arma mais eficaz. A adoção de técnicas de cultivo e manejo que inviabilizem o crescimento fúngico em cereais, o conhecimento da fisiologia, desenvolvimento dos fungos, e da produção de toxinas pelos mesmos são ações que devem ser levadas em consideração.

O monitoramento constante e contínuo de aflatoxinas com técnicas de amostragem adequadas à detecção, bem como dos metabólitos da AFB1, a avaliação dos níveis de exposição das células humanas à atividade biológica da AFB1 e a contribuição dessas toxinas à incidência de enfermidades na população, levando em consideração os alimentos contaminados são estratégias viáveis e necessárias para uma melhor caracterização dos riscos à saúde humana (OLIVEIRA & GERMANO, 1997).

Os estudos epidemiológicos se baseiam nos níveis de contaminação pela ingestão de AFB1 a nível populacional e não na quantidade efetivamente ingerida pelo indivíduo. Dessa forma, inviabiliza-se uma caracterização efetiva da relação dose-resposta para as toxinas de origem fúngica que afetam o homem (OLIVEIRA & GERMANO, 1997). A ocorrência de surtos requer a notificação imediata às autoridades de vigilância sanitária municipais, regionais ou centrais de forma que as investigações necessárias quanto ao controle da transmissão sejam tomadas.

Um mecanismo de controle baseado em um modelo de ação proativo e não reativo torna-se o embasamento para a implementação de protocolos de HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) para o controle da contaminação por aflatoxinas (ALDRED et al., 2004). O sistema HACCP é uma abordagem sistemática na identificação, avaliação e controle de fatores que podem comprometer a segurança alimentar e configura-se como um sistema preventivo de garantia de qualidade (FDA/CFSAN, 2005).

Neste modelo, o controle dos pontos críticos que podem constituir perigo à segurança alimentar é analisado através do estudo e planejamento de cada uma das

etapas do processamento alimentar, seguindo sete princípios básicos que podem ser visualizados na **Tabela 2**.

TABELA 2 – Princípios do HACCP

| | |
|-------------|--|
| Princípio 1 | Identificação dos perigos, avaliação dos riscos e descrição dos métodos de controle. |
| Princípio 2 | Identificação dos pontos de controle críticos (PCC). |
| Princípio 3 | Estabelecimento de limites críticos. |
| Princípio 4 | Estabelecimento de procedimentos para monitorar os PCC. |
| Princípio 5 | Estabelecimento de ações corretivas. |
| Princípio 6 | Estabelecimento de medidas corretivas. |
| Princípio 7 | Registro e documentação de todos os procedimentos. |

Fonte: ALDRED et al., 2004.

Como toda a cadeia alimentar pode ser afetada pela contaminação de aflatoxinas, o controle de qualidade da matéria-prima para a fabricação de rações pode ser uma medida eficaz contra as aflatoxicoses. Com o objetivo de reduzir a umidade do grão, alguns agricultores fazem uso da colheita tardia, o que pode aumentar a incidência de insetos nos grãos e também favorecer a contaminação por micotoxinas (BELLAVAR, 2004).

Ações como adição de adsorventes de micotoxinas nas rações, como bentonitas e silicatos de alumínio, ou uso de antifúngicos podem amenizar a contaminação em grãos e cereais, porém estas substâncias não eliminam totalmente as aflatoxinas. O tratamento com gás de amônia pode ser uma forma de eliminar essas toxinas da ração, no entanto o processo tem um custo elevado, limitando seu uso (BACK, 2004). A detoxificação natural de AFB1 é por glutathione reduzida (GSH), conjugada de AFB1 que é catalisada através de glutathione S-transferase (GST), formando o AFB1 exo e endo-epóxido-GSH conjugado (GONÇALVES et al., 1997).

Tratamentos específicos contra as micotoxicoses são inexistentes. A quimioterapia é pouco eficaz, porém administrando-se metionina e outro antibiótico evitam-se infecções secundárias. Vitamina E e selênio podem ser usados como terapia de apoio (SOBESTUANSKY et al., 1999). Componentes organosulfurados de alho foram identificados como possíveis inibidores de carcinogênese. Tais efeitos quimiopreventivos se devem ao dialil sulfide e o dialil dissulfide terem se mostrado indutores de enzimas de detoxificação e inibidores do citocromo responsável pela ativação da AFB1 (GUYONNET et al., 2002).

Em ratos, analisou-se a capacidade de *Saccharomyces cerevisiae* em reduzir danos de aflatoxicoses. Observou-se que o fermento ativo desidratado reduziu a hepatotoxicidade devido ao fermento ser fonte de vitaminas, proteínas e enzimas e estimular, com isso a biotransformação, alterando a duração e intensidade dos efeitos tóxicos das aflatoxinas (BAPTISTA et al., 2002).

O melhor controle dos níveis de aflatoxinas em alimentos e rações ainda são a melhor alternativa para evitar as perdas com esta doença.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de aflatoxinas em grãos e alimentos tem sérias implicações na saúde humana e animal. Inúmeros casos de neoplasias em humanos podem estar diretamente relacionados à alimentação e à presença de aflatoxinas na dieta.

A melhor forma de prevenção da contaminação de alimentos são as boas práticas agrícolas, transporte e armazenagem, além de uma legislação que assegure a qualidade dos produtos tanto de origem vegetal como animal. Assim, é necessário um trabalho conjunto entre produtores, indústria e a vigilância sanitária, de forma a contribuir com a caracterização dos fatores de risco à saúde humana em relação à contaminação dos alimentos por aflatoxinas.

Novas pesquisas já vêm sendo desenvolvidas, mas muito ainda há que ser feito no sentido de desenvolver compostos que possam ser incluídos na dieta para minimizar os efeitos das aflatoxinas, ou mesmo amenizar ou combater os efeitos das aflatoxicoses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, H.; CARTWRIGHT, R.D.; XIE, W.; SHIER, W.T. Aflatoxin and fumonisin contamination of corn (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. **Crop Protection**, London, v.25, p.1-9, 2006.

ALDRED, D.; MAGAN, N.; OLSEN, M. The use of HACCP in control of mycotoxins: the case of cereals. In: MAGAN, N.; OLSEN, M. (eds). **Mycotoxins in food: detection and control**. Boca Raton: CRC Press, 2004. p.139-173.

AMMIDA, N.H.S.; MICHELI, L.; PALLESCHI, G. Electrochemical immunosensor for determination of aflatoxin B1 in barley. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.520, p.159-164, 2004.

BACK, A. Manual de doenças das aves. São Paulo: Coluna Saber, 2004. 152p.

BAPTISTA, A.S.; HORII, J.; CALORI-DOMINGUES, M.A.; GLORIA, E.M.; SALGADO, J.M.; VIZIOLI, M.R. Thermolysed and active yeast to reduce the toxicity of aflatoxin. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.2, p.257-260, 2002.

BEER, J. **Doenças infecciosas dos animais domésticos**. 2 ed. São Paulo: Roca, 1999. 837p.

BELLAVER, C. Utilização de grãos na produção de carne suína de qualidade. **Revista Porkworld**, Paulínia, n.19, p.44-46, 2004.

BENNETT, J.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Review**, Washington, v.16, n.3, p.497-516, 2003.

BIEHL, M.L.; BUCK, W.B. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. **Journal of Food Protection**, v.50, p.1058-1073, 1987.

BISCHOF, K.; RAMAIAH, S.K. Liver Toxicity. In: GUPTA, R.C. **Veterinary Toxicology – Basic and Clinical Principles**. San Diego: Academic Press, 2007, p.145-160.

BLESA, J.; SORIANO, J.M.; MOLTÓ, J.C.; MARÍN, R.; MAÑES, J. Determination of aflatoxins in peanut by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, New York, v.1011, p.49-54, 2003.

BOK, J.W.; KELLER, N.P.; LAE, A. A regulator of secondary metabolism in *Aspergillus* spp. **Eukaryotic Cell**, Washington, v.3, p.527-535, 2004.

BRADBURN, N.; COKER, R.D. Aflatoxin contamination in maize. **Tropical Science**, London, v.33, n.44, p.418-428, 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 out. 2002.

BRUNO, R.L.A. Qualidade fisiológica e microflora de sementes de amendoim cv. Br-1 durante o armazenamento. **Revista de Oleaginosa e Fibrosa**, Campina Grande, v.4, n.3, p.141-152, 2000.

BULLERMAN, L.B.; SCHROEDER, L.L.; PARK, K. Formation and control of mycotoxins in food. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.47, n.8, 637-646, 1984.

CALONI, F.; STAMMATI, A.; FRIGGE, G.; DE ANGELIS, I. Aflatoxin M₁ absorption and cytotoxicity on human intestinal in vitro model. **Toxicon**, London, v.47, n.4, p.409-415, 2006.

CALVO, A. M. Mycotoxins. In: DABROWSKI, W.A., SIKORSKI, Z.E. **Toxins in Food**. London: CRC Press, 2005. p.219-240.

CHIAVARO, E.; DALL'ASTA, C.; GALAVERNA, G.; BIANCARDI, A.; GAMBARELLI, E.; DOSSENA, A.; MARCHELLI, R. New reversed-phase liquid chromatography method to detect aflatoxins in food and feed with cyclodextrins as fluorescence enhancers added to the eluent. **Journal of Chromatography A**, New York, v.937, p.31-40, 2001.

CHOY, W.N. A review of the dose-response induction of DNA adducts by aflatoxin B₁ and its implications to quantitative cancer-risk assessment. **Mutation Research**, Amsterdam, v.296, p.181-198, 1993.

COULOMBE, R.A. Aflatoxins. In: Sharma, R.P.; Salunkhe, D.K. **Mycotoxins and phytoalexins**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p.103-143.

CREPPY, E.E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. **Toxicology Letters**, Clare, v.127, p.19-28, 2002.

CREPPY, E.E.; CHIARAPPA, P.; BAUDRIMONT, I.; BORRACCI, P.; MOUKHA, S. E.; CARRATÚ, M.R. Synergistic effects of fumonisin B₁ and ochratoxin A: are in vitro

cytotoxicity data predictive of in vivo acute toxicity? **Toxicology**, Amsterdam, v.201, p.115-123, 2004.

DINIZ, S.P.S.S. **Micotoxinas**. 1 ed. Campinas: Editora Rural, 2002. 181p.

D'MELLO, J.P.F.; PLACINTA, C.M.; MACDONALD, A.M.C. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.80, p.183-205, 1999.

EATON, D.L.; RAMSDELL, S.; NEAL, G.E. Biotransformation of aflatoxins. In: EATON, D.L., GROOPMAN, J.D. (Ed.) **The Toxicology of Aflatoxins**, San Diego: Academic Press, 1994, p.45-72.

ELLIS, W. O.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K.; OLDHAM, J.H. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v.30, n.4, p.403-439, 1991.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Micotoxinas em grãos. Países Baixos**: FAO, 2001. n.3. Disponível em: <http://www.fao.org/WAIRDOCS/X5012o01.htm>. Acesso em: 31 de janeiro de 2011.

FATEMI, F.; ALLAMEH, A.; DADKHAH, A.; FOROUZANDEH, M.; KAZEMNEJAD, S.; SHARIFI, R. Changes in hepatic cytosolic glutathione S-transferase activity and expression of its class-P during prenatal and postnatal period in rats treated with aflatoxin B₁, **Archives of Toxicology**, Berlin, v. 80, n. 09, p. 572-579, 2006.

FINK, G.J. Mycotoxins: their implications for human and animal health. **Veterinary Quarterly**, Hague, v.21, p.21-24, 1999.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Worldwid regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, v.81, p.9, 2004.

Food and Drug Administration/Center for Food Safety and Applied Nutrition (FDA/CFSAN). Food Code. Washington: Food and Drug Administration, 2005. 562p.

FORRESTER, L.M.; NEAL, G.E.; JUDAH, D.J.; GLANCEY, M.J.; WOLF, C.R. Evidence for involvement of multiple forms of cytochrome P-450 in aflatoxin B₁ metabolism in human liver. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v.87, p.8306-8310, 1990.

GALVANO, F.; GALOFARO, V.; GALVANO, G. Occurrence and stability of aflatoxin M₁ in milk and milk products: a worldwide review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.59, n.10, p.1079-1090, 1996.

GARDEN, S.R.; STRACHAN, N.J.; Novel colorimetric immunoassay for the detection of aflatoxin B₁. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.444, p.187-191, 2001.

GEYIKOGLU, F.E.; TÜRKEZ, H. Protective Effect of Sodium Selenite on Genotoxicity to Human Whole Blood Cultures Induced by Aflatoxin B₁. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.48, n.6, p.905-910, 2005.

GONCALVES, C.S.; PEREIRA, F.E.L.; GAYOTTO, L.C.C. Hepatocelular carcinoma in Brazil: report of a national survey. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v.39, n.3, p.165-170, 1997.

GUYONNET, D.; BELLOIR, C.; SUSCHETET, M.; SIESS, M.H.E.; LE BON, A.M. Mechanism of protection against aflatoxin B₁ genotoxicity in rats treated by organosulfur compounds from garlic. **Carcinogenesis**, London, v.23, n.8, p.1335-1341, 2002.

HARRIS, C.C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s. **Cancer Research**, Philadelphia, v.51, p.5023-5044, 1991. (Suplemento)

HARRISON, J.C.; CARVAJAL, M.; GARNER, R.C. Does aflatoxin exposure in the United Kingdom constitute a cancer risk? **Environmental Health Perspectives**, Washington, v.99, p.99-105, 1993.

HOCKING, A.D. *Aspergillus* and related *Teleomorphs*. In: BLACKBURN, C.W. (Ed). **Food Spoilage Microorganisms**. Boston: Woodhead Publishg Ltd, 2006. p.451-477.

HOLLINGER, K.; EKPERIGIN, H.E. Mycotoxicosis in food producing animals. **Chemical Food Borne Hazards and their Control**, Philadelphia, v.15, n.1, p.133-165, 1999.

HSIEH, D. P. H.; ATKINSON, D. N. Bifuranoid mycotoxins: their genotoxicity and carcinogenicity. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v.283, p.525-532, 1991.

HSIEH, D.P.H.; ATKINSON, D.N. Bifuranoid mycotoxins: their genotoxicity and carcinogenicity. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 283, p. 525-532, 1991.

HUSSEIN, S.H.; BRASEL J.M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, Amsterdam, v.167, n.2, p.101-134, 2001.

IARC (International Agency for Research on Cancer). Some naturally occurring substances: **Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, v.56, 1993. 571p.

JAIMEZ, J.; FENTE, C.A.; VAZQUEZ, B.I.; FRANCO, C.M.; CEPEDA, A.; MAHUZIER, G.; PROGNON, P. Review: Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. **Journal of Chromatography A**, New York, v.882, p.1-10, 2000.

KABAK, B.; DOBSON, A.D.W.; VAR, I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v.46, p.593-619, 2006.

KEEHN, D.M.; FRANK-STROMBORG, M. A worldwide perspective on the epidemiology and primary prevention of liver cancer. **Cancer Nursing**, New York, v.14, p.163-74, 1991.

KIHARA, T.; MATSUO, T.; SAKAMOTO, M.; YASUDA, Y.; YAMAMOTO, Y.E.; TANIMURA, T. Effects of prenatal aflatoxin B₁ exposure on behaviors sciences. **Toxicological Sciences**, Oxford, v.53, p. 392-399, 2000.

KOLOSOVA, A.Y.; SHIM, W.; YANG, Z.; EREMIN, S.A.; CHUNG, D. Direct competitive ELISA based on a monoclonal antibody for detection of aflatoxin B₁ – stabilization of ELISA kit components and application to grain samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Berlin, v.384, p.286-294, 2006.

LEE, N.; WANG, S.; ALLAN, R.D.; KENNEKY, I.R. A rapid aflatoxin B₁ ELISA: Development and validation with reduce matrix effects for peanuts, corn, pistachio, and soybeans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, p.2746-2755, 2004.

LEESON, S., DIAZ, G. J. & SUMMERS, J. D. **Poultry Metabolic Disorders and Mytoxins**. Guelph, Ontario: University Books, 1995. p.249-280.

LEUNG, M. C. K.; DIAZ-LLANO, G.; SMITH, T. K. Mycotoxins in pet food: a review on worldwide prevalence and preventative strategies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.54, p.9623-9635, 2006.

LEWIS, I.; ONSONGO, M.; NJAPAU, H.; SCHURZ-ROGERS, H.; LUBER, G.; KIESZAK, S.; NYAMONGO, J.; BACKER, L.; DAHIYE, A.M.; MISORE, A.; DeCOCK, K.; RUBIN, C. Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya. **Environmental Health Perspectives**, Cary, v.113, n.12, p.1763-1767, 2005.

LIN, W.C.; LIAO, Y.C.; LIAU, M.C.; LII, C.K.; SHEEN, L.Y. Inhibitory effect of CDA-II, a urinary preparation, on aflatoxin B(1)-induced oxidative stress and DNA damage in primary cultured rat hepatocytes. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.44, n.4, p.546-551, 2006.

LIU, Z.; GAO, J.; YU, J. Aflatoxins in stored maize and rice grains in Liaoning Province, China. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v.42, p.468-479, 2006.

LUMEIJ, J.T. Avian Clinical Biochemistry. In: KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.

MABBETT, T. A ameaça das micotoxinas. **Feeding Times**, Dublin, v.4, n.3, p.4-5, 1999.

MACHINSKI JR., M.; MÍDIO, A.F. Patulina em alimentos – aspectos toxicológicos e analíticos. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.31, n.1, p.1-19, 1995.

MALLMANN, C.A.; SANTURIO, J.M.; WENTZ, I. Aflatoxinas- Aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.24, n.3, p.635-643, 1994.

MASSEY, T.E.; STEWART, R.K.; DANIELS, J.M.; LIU, L. Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to aflatoxin B₁ carcinogenicity. **Proceeding of the Society for Experimental Biology Medicine**, New York, v.208, p.213-27, 1995.

MERCK. **The Merck Index**. 12 ed. New Jersey: Merck & Co, Inc, 1996.

MILLER, D.M.; WILSON, D.M. Veterinary diseases related to aflatoxins. In: EATON, D.L.; GROOPMAN, J.D. (Eds) **The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance**. San Diego: Academic Press, 1994. p.347-364.

MOTOLA-KUBA D, ZAMORA-VALDES D, URIBE M, MENDEZ-SANCHEZ N. Hepatocellular carcinoma. An overview. **Annals of Hepatology**, México City, v.5, n.1, p.16-24, 2006.

NUNES, I.L.; MAGAGNIN, G.; BERTOLIN, T.E.; FURLONG, E.B. Arroz comercializado na região sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.2, p.190-194, 2003.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2 ed. São Paulo: Atheney, 1996. 515p.

OLIVEIRA, C.A.F.; GERMANO, P.M.L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.31, n.4, p.417-424, 1997.

OLIVEIRA, M.S.; DORS, G.C.; SOUZA-SOARES, L.A.; BADIALE-FURLONG, E. Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.3, p.267-275, 2007.

PALLARONI, L.; VON HOLST, C. Determination of zearalenone from wheat and corn by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, New York, v.993, n.1-2, p.39-45, 2003.

PAPP, E.; OTTA, K.; ZÁRAY, G.; MINCSOVICS, E. Liquid chromatography determination of aflatoxins. **Microchemical Journal**, New York, v.73, p.39-46, 2002.

PESTKA, J.J. AZCONA-OLIVEIRA, J.I.; PLATTNER, R.D.; MINERVINI, F.; DOKO, M.B.; VISCONTI, A. Comparative assessment of fumonisin in grain based foods by ELISA, GC-MS, and HPLC. **Journal of Food Protection**, Ames, v.57, n.2, p.169-172, 1994.

PETTERSSON, H.; ABERG, L. Near infrared spectroscopy for determination of mycotoxins in cereals. **Food Control**, Guildford, v.14, n. 4, p. 229-232, 2003.

PINTO, N.F.J.A.; PRADO, G.; OLIVEIRA, M.S. Proteção química e biológica de grãos de milho úmidos contra fungos de armazenagem e produção de aflatoxinas. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v.4, n.2, p.172-179, 2005.

PIRES, S.R.R. **Desenvolvimento de novos métodos analíticos para controle da qualidade de alimentos – análise de micotoxinas**. 2009. 42f. Dissertação (Mestrado em Bioorgânica) - Faculdade de Ciências e Tecnologia - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. Mycotoxins in foods: implications for human health. In: WAHLQVIST, M. L.; TRUSWELL, A. S. (Ed.). **Recent advances in clinical nutrition**. London: John Libby, 1986. p.161-168.

POZZI, C. R.; ARCARO, J.R.P.; ARCARO JÚNIOR, I.; FAGUNDES, H.; CORRÊA, B. Aspectos relacionados à ocorrência e mecanismo de ação de fumonisinas. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 5, p.901-907, 2002.

PRADO, G.; CARVALHO, E.P.; MADEIRA, J.E.G.; MORAIS, A.D.; OLIVEIRA, M.S.; CORRÊA, R.F.; CARDOSO, V.N. Efeito da irradiação (60Co) na frequência fúngica de amendoim *in natura* em função do tempo de prateleira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.5, p.930-936, 2006.

RASOOLI, I.; ABYANEH, M. R. Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Food Control**, Guildford, v.15, n.6, p.479-483, 2004.

REDDY, L.; ODHAV, B.; BHOOLA, K. Aflatoxin B₁-induced toxicity in HepG2 cells inhibited by carotenoids: morphology, apoptosis and DNA damage. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.387, n.1, p.87-93, 2006.

ROSS, R.K.; YUAN, J.M.; YU, M.C.; WOGAN, G.N.; QUIAN, G.S.; TU, J.T.; GROOPMAN, J.D.; GAO, Y.T.; HENDERSON, B.E. Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma. **Lancet**, London, v.339, p.943-946, 1992.

SABINO, M. Micotoxinas em Alimentos. In: OGA, S. (Ed.) **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo: Atheneu Editora, 1996. p.461-472.

SABINO, M. Normas e níveis de tolerância de micotoxinas no Brasil, no MERCOSUL e no mundo. In: SIMPÓSIO SOBRE MICOTOXINAS EM GRÃOS, 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Fundação Cargil, 1999. p.183-192.

SAITO, M.; MACHIDA, S. A rapid identification method for aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. **Mycoscience**, Tokyo, v.40, p.205-208, 1999.

SANTOS, C.C.M.; LOPES, M.R.V.; KOSSEKI, S.Y. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de São José de Rio Preto/SP. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.60, n.2, p.153-157, 2001.

SANTURIO, J.M. Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.2, n.1, p.1-12, 2000.

SCHMIDT, R.H.; RODRICK, G.E. **Food safety Handbook**. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2003. 850p.

SCOTT, P.M.; TRUCKSESS M.W. Application of Immunoaffinity Columns to Mycotoxin Analysis. **Journal of AOAC International**, Washington, v.80, n.5, p.941-949, 1997.

SONGSERMSAKUL, P.; RAZZAZI-FAZELI, E. A Review of Recent Trends in Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry for Detection of Mycotoxins. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, New York, v.31, p.1641-1686, 2008.

SOBESTUANSKY, J. BARCELLOS, D.E.S.; MORAES, N.; OLIVEIRA, S.J.; CARVALHO, L.F.O.; MORENO, A.M.; ROEHE, P.M. **Clínica e Patologia suína**. 2ed. Goiânia, 1999. 464p.

SOLEAS, G.J.; YAN, J.; GOLDBERG, D.M. Assay of ochratoxin A in wine and beer by high pressure liquid chromatography photodiode array and gas chromatography mass selective detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.49, n.6, p.2733-2740, 2001.

SOUZA, P.F.; SILVA, G.H.; HENRIQUES, I.G.N.; CAMPELO, G.J.; ALVES, G.S. Atividade antifúngica de diferentes concentrações de extrato de alho em sementes de *Inga (Inga edulis)*. **Revista Verde**, Mossoró, v.5, n.5, v.08-13, 2010.

STROKA, J.; van OTTERDIJK, R.; ANKLAM, E. Immunoaffinity column clean-up prior to thin-layer chromatography for the determination of aflatoxins in various food matrices. **Journal of Chromatography A**, New York, v.904, p.251-256, 2000.

SYDENHAM, E.W.; SHEPHARD, G.S. Chromatographic and allied methods of analysis for selected mycotoxins. In: GILBERT, J. **Progress in Food Contaminants Analysis**. London: Blackie Academic & Professional, 1996. p.65-146.

SZKUDELSKA, K. SKUDELSKI, T.; NOGOWSKI, L. Daidzein, coumestrol and zearalenone affect lipogenesis and lipolysis in rat adipocytes. **Phytomedicine**, Munich, v.9, p.338-345, 2002.

TARÍN, A.; ROSSEL, M.G.; GUARDINO, X. Use of high-performance liquid chromatography to assess airborne mycotoxins aflatoxins and ochratoxin A. **Journal of Chromatography A**, New York, v.1047, p.235-240, 2004.

TEIXEIRA, A.S.; FREITAS-SILVA, O.; GODÓY, R.L.O.; VARGAS, E.A.; MARTINS, A. Análise e quantificação de aflatoxinas por cromatografia líquida de alta eficiência

(CLAE) em amostras de castanha-do-Brasil. **Revista Ciência da Vida**, Seropédica, v.28, p.22-24, 2008. (Suplemento)

TONG, W.M.; LEE, M.K.; GALENDO, D.; WANG, Z.Q.; SABAPATHY, K. Aflatoxin-B exposure does not lead to p53 mutations but results in enhanced liver cancer of Hupki (human p53 knock-in) mice. **International Journal of Cancer**, Geneva, v.119, p.745-749, 2006.

UYSAL, L.H.; AGA, R.G. Selenium protective activity against aflatoxin B₁ adverse affects on *Drosophila melanogaster*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.48, n.2, p.207-210, 2005.

VALENTA, H. Chromatographic methods for the determination of ochratoxin A in animal and human tissues and fluids. **Journal of Chromatography A**, New York, v.815, p.75-92, 1998.

VAN DER GAAG B.; SPATH, S.; DIETRICH, H.; STIGTER, E.; BOONZAAIJER, G.; VAN OSENBRUGGEN, T.; KOOPAL, K. Biosensors and multiple mycotoxin analysis. **Food Control**, Guildford, v.14, n.4, p.251- 254, 2003.

VAN EGMOND, H.P. Aflatoxin M1: occurrence, toxicity, regulation. In: VAN EGMOND, H.P. **Mycotoxins in dairy products**. New York: Elsevier Science, 2003. p.3-39.

VENTURA, M.; GÓMEZ, A.; ANAYA, I.; DIAZ, J.; BROTO, F.; AGUT, M.; COMELLAS, L. Determination of aflatoxins B₁, G₁, B₂, and G₂ in medicinal herbs by liquid chromatography-tandem massa spectrometry. **Journal of Chromatography A**, New York, v.1048, p.25-29, 2004.

WILD, C.P.; TURNER, P.C. The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. **Mutagenesis**, Oxford, v.17, n.6, p.471-481, 2002.

WILSON, D.M. Aflatoxin analytical methods for groundnuts. In: SEMPLE, R.L.; FRIO, A.S.; HICKS, P.A.; LOZARE, J.V. **Mycotoxin Prevention and Control in Food Grains**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/x5036e/x5036E0m.htm>. Acesso em: 1º de março de 2011.

WOGAN, G.N. Aflatoxin carcinogenesis: interspecies potency differences and relevance for human risk assessment. **Progress in Clinical Biological Research**, New York, v.374, p.123-137, 1992.

XIULAN, S.; XIAOLAN, Z.; JIAN, T.; CHU, F.S. Preparation of gold-labeled antibody probe and its use in immunochromatography assay for detection of aflatoxin B₁. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.99, p.185-194, 2005.

YONG, R.K.; COUSIN, M.A. Detection of moulds producing aflatoxins in maize and peanuts by an immunoassay. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.65, p.27-28, 2001.

YU, J.; CLEVELAND, T.E.; NIERMAN, W.C.; BENNETT, J.W. *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Bilbao, v.22, p.194-202, 2005.

ZLOTOWSKI, P.; CORREA, A.M.R.; ROZZA, D.B.; DRIEMEIER, D.; MALLMANN, C.A.; MIGLIAVACCA, F.A. Surto de aflatoxicose em suínos nos Estados do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.24, n.4, p.207-210, 2004.