

AFLATOXINAS: UM RISCO A SAÚDE HUMANA E ANIMAL

AFLATOXINS: A RISK ANIMAL AND HUMAN HEALTH

Helder Ferreira¹
Elaine Pittner²
Hermes Francisco Sanches³
Marta Chagas Monteiro⁴

RESUMO

O *Aspergillus flavus* e a subespécie próxima relacionada *parasiticus* têm sido reconhecidas por muito tempo como contaminadores principais de produtos orgânicos e inorgânicos. *A. flavus*, um fungo comum do solo, pode infestar uma larga escala de produtos agrícolas. Algumas variedades de *A. flavus* produzem as aflatoxinas, que são toxinas neoplásicas capazes de induzir neoplasia hepática em animais de laboratório. O crescimento de *A. flavus* e a biossíntese da aflatoxina depende da carcaça, da umidade, da temperatura, do pH, da aeração e da microflora competindo. As aflatoxinas são consideradas contaminantes naturais; cuja aproximação ideal de controle é a prevenção do crescimento do fungo e produção das aflatoxinas nos produtos. As aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) são metabólitos secundários associados à toxicidade causada por alimentações em animais. As aflatoxinas são relatadas como sendo hepatotóxicas, mutagênicas, imunossupressora e neoplásicas. A exposição as aflatoxinas dietéticas é considerada um fator de risco importante para o desenvolvimento de neoplasia hepatocelular em determinadas regiões do mundo. A indução de adutos no DNA pela aflatoxina B1 no fígado foi revista extensivamente em uma avaliação quantitativa de fatores de risco a neoplasias por aflatoxinas. As aflatoxinas são pró-neoplásicas, reagindo com o ácido desoxirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) e as proteínas. Atualmente, vários avanços científicos têm sido feitos a fim de compreender a toxicologia clínica das aflatoxinas.

Palavras-chave: Micotoxinas; aflatoxinas; neoplasia hepatocelular

¹ Mestrando, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá-UEM. Maringá/PR Fone: (44) 8811 0528. E-mail: ferreira.helder@bol.com.br

² Mestranda, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá-UEM. Maringá/PR. Funcionária do Departamento de Farmácia da UNICENTRO. Fone: (42) 3629-8137; CEP: 85040-080. Guarapuava-PR. E-mail: elpittner@yahoo.com.br

³ Docente do Departamento de Farmácia da UNICENTRO. Mestre em Saúde Pública pela UEPG/PR. Fone: (42) 3629-8137; CEP: 85040-080. Guarapuava-PR.

⁴ Docente do Departamento de Farmácia da UNICENTRO. Doutora em Imunologia pela FMRP/USP-RP. Fone: (42) 3629-8137; CEP: 85040-080. Guarapuava-PR. E-mail: martachagas2@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 24/10/2005 e aceito em 18/05/2006

Ambiência	Guarapuava, PR	v.2 n.1	p. 113-127	jan./jun. 2006	ISSN 1808 - 0251
-----------	----------------	---------	------------	----------------	------------------

ABSTRACT

Aspergillus flavus and the closely related subspecies *parasiticus* have long been recognized as major contaminants of organic and nonorganic items. *A. flavus*, a common soil fungus, can infest a wide range of agricultural products. Some *A. flavus* varieties produce aflatoxins, which are carcinogenic toxins that induce hepatic neoplasm in laboratory animals. *A. flavus* growth and aflatoxin biosynthesis depend on substrate, moisture, temperature, pH, aeration, and competing microflora. Aflatoxins are considered natural contaminants; the ideal control approach is prevention of mold growth and aflatoxin production. Aflatoxins (B1, B2, G1 and G2) are secondary metabolite and have been associated with toxicities caused by moldy animal feeds. The aflatoxins (AFs) are reported to be hepatotoxic, mutagenic, immunosuppressive, and neoplastic. Exposure to dietary aflatoxins is considered to be an important risk factor for the development of hepatocellular carcinoma in certain regions of the world. The induction of DNA adducts by aflatoxin B1 in the liver has been extensively reviewed in a quantitative neoplasm-risk assessment of aflatoxins. Currently, the aflatoxins are pró-neoplastic, reacting with acid deoxyribonucleic (DNA), acid ribonucleic (RNA) and proteins. Significant advances have recently been made in understanding the clinical toxicology of aflatoxins.

Key-words: Micotoxin; aflatoxin; hepatocell neoplasm

INTRODUÇÃO

As micotoxinas provêm do metabolismo secundário de fungos, cujas principais características são: amplo espectro de toxicidade, baixo peso molecular, não-imunogenicidade, termo-estáveis e atuam em baixas concentrações (BOK et al., 2004; BIEHL e BUCK, 1987; DINIZ, 2002). A maioria das micotoxinas afeta órgãos e tecidos, induzindo várias patologias, tais como neoplasia, mutagênese, teratogênese, imunossupressão entre outras (FERNANDEZ et al, 1997; FERNANDES, 2004; KIESSLING, 1986).

O isolamento de fungos toxigênicos, a partir de alimentos, principalmente grãos, estocados em condições recomendadas, não significa obrigatoriamente risco imediato para consumo. Assim como, a ausência de fungos em alimentos suspeitos, não significa ausência de micotoxinas, ou seja, o fungo pode estar ausente, mas a toxina pode estar presente e ativa (PITT e HOCKING, 1997; OSBORNE, 1982). A maioria das micotoxinas

é termorresistente e mantém sua toxicidade, mesmo após, os processos de peletização de rações ou preparação de conservas (SOARES e FURLANI, 1996).

Em condições favoráveis, várias espécies fúngicas podem produzir micotoxinas em alguns alimentos, nos quais sua ingestão leva a um quadro clínico grave denominado micotoxicose (alteração patológica e/ou funcional no organismo, causada pela micotoxina) em animais e humanos (JAIRAMAN e KALYANASUNDARAM, 1990; SANTURIO, 2000). A micotoxicose pode ser do tipo primária ou secundária, sendo que destas, a secundária pode ser mais difícil a identificação, devido aos baixos níveis de toxinas na amostra não resultarem muitas vezes em um quadro clínico de micotoxicose específica, mas sim num quadro de suscetibilidade exacerbada a infecções intercorrentes devido à imunossupressão ocasionada pela toxina (OSBORNE, 1982).

O quadro clínico da aflatoxicose está diretamente relacionado ao grau de contaminação do produto, tempo e quantidade de ração contaminada ingerida pelo animal e seu estado nutricional. São relatados atraso no crescimento, neoplasias, imunossupressão, teratogênese e hepatopatias agudas, subagudas e crônicas. Suínos e caninos são as espécies mais sensíveis, sendo normalmente animais jovens os mais afetados pela aflatoxicose (YU et al., 2005; ZLOTOWSKI et al., 2004; MALLMANN et al. 1994).

A contaminação de rações e outros alimentos por micotoxinas pode variar de acordo com as condições ambientais (umidade do substrato e temperatura do ambiente), 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. Períodos de seca durante o cultivo do milho também são apontados como predisponentes a produção de aflatoxinas (ZLOTOWSKI et al., 2004; MALLMANN et al. 1994).

Além disso, os tipos de alimentos podem contribuir para a produção de micotoxinas, já que alguns grãos são substratos mais aptos que outros para o crescimento de determinados fungos (ROSSETTO et al, 2003; SANTURIO, 2000). Outro aspecto importante das micotoxinas é o fato destas não serem produtos voláteis e permanecem associadas à estrutura dos fungos, esporos ou substrato em que foram liberadas. Seu processo de formação não é contínuo, entretanto, deve-se partir do pressuposto que, se um fungo estiver presente no ambiente laboral e forem capazes de produzir toxinas, estas poderão estar presentes no alimento (PITT e HOCKING, 1997).

Os riscos das micotoxinas induzirem neoplasias em humanos vêm sendo investigados desde 1971, a partir destes estudos criou-se uma classificação numeral denominando os possíveis riscos carcinogênicos, nas quais enquadram-se: 1 – o agente

ou mistura é carcinogênica para humanos; 2 - o agente é possivelmente neoplásico. Dentre estas categorias, a aflatoxina encontra-se no grupo 1 (OIT, 2001).

O objetivo desta pesquisa é elucidar características importantes, tais como possíveis mecanismos de ação e sintomas ocasionados pela ingestão de aflatoxinas por animais e humanos.

DESENVOLVIMENTO

AFLATOXINAS

Aflatoxinas (AFLs) são metabólitos secundários que podem ser produzidos por fungos como: *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (YU et al., 2005; BOK et al., 2004). Os seres humanos e várias espécies domésticas são sensíveis aos seus efeitos tóxicos que podem ser agrupados como: agudos, mutagênicos, neoplásicos e teratogênicos (GROOPMAN et al., 1988; HARRISON et al., 1993). Existem vários tipos de aflatoxinas, dentre elas, destacam-se quatro, B1, B2, G1, G2; sendo que sua biotransformação, em diversas espécies animais, resulta na produção de M1 e M2. As aflatoxinas M1 e M2 foram isoladas inicialmente no leite e urina de animais que consumiram AFLs (OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

O uso de alimentos contaminados pela aflatoxina, para fabricar rações, tem sido relatado como um problema importante e com sérias implicações econômicas para a indústria avícola, bem como de outras espécies domésticas de interesse econômico. A frequência da contaminação dos produtos de consumo e a exposição crônica das aves a essas toxinas podem significar a diferença entre o lucro e prejuízo na indústria aviária. (BATINA et al., 2005; FERNANDES, 2004; AMER, 1998; VIEIRA, 1995; SABINO et al., 1989).

O conhecimento dos efeitos tóxicos da aflatoxina é importante para o diagnóstico das toxicoses, sendo que as variações nos perfis bioquímico e hematológico podem ser utilizadas no diagnóstico desta condição (BRUGERE-PICOUX, 1987). A toxicidade da aflatoxina em frangos é caracterizada pela diminuição das concentrações de proteína total, albumina, colesterol, glicose, ácido úrico, fósforo inorgânico e cálcio e no aumento da atividade enzimática da alanina amino transferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST), indicativos de lesões hepáticas (SANTURIO, 1999; AMER, 1998; ARABA e WYATT, 1991; BALACHANDRAN e RAMARKRISHNAN, 1987). A enzima gama glutamiltransferase (GGT) tem baixa atividade no tecido hepático das aves (GABAL e AZZAM, 1998; SCHEIDELER, 1993; BALACHANDRAN e RAMARKRISHNAN, 1987). A diminuição dos níveis séricos de proteína e albumina são indicadores patognomônicos de hepatotoxicidade em frangos e perus devido a

aflatoxicose. Desde o início dos anos noventa, estudos têm sido dirigidos para o uso de adsorventes, naturais ou sintéticos, na tentativa de minimizar os efeitos da ingestão de alimento contaminado e da toxicidade da aflatoxina em aves (BATINA et al., 2005; OGUZ et al., 2002).

O metabólito mais importante é a aflatoxina B1 (AFB1), devido à sua elevada hepatotoxicidade e maiores concentrações nos substratos. As aflatoxinas são comumente encontradas em diversos alimentos utilizados para animais de produção, principalmente em grãos (ZLOTOWSKI et al., 2004; MALLMANN et al. 1994).

A descoberta da AFL ocorreu em 1960 na Inglaterra, devido ao surto, que provocou alta mortalidade em perus, conhecido como “*turkey - X disease*”. Durante a epidemia, milhares de aves morreram após o consumo de torta de amendoim acrescentada na ração, proveniente do Brasil. O principal fungo encontrado no alimento foi o *Aspergillus flavus* (WOGAN, 1992).

As AFLs se desenvolvem naturalmente em produtos alimentícios como: amendoim, milho, feijão, arroz, trigo, entre outros. Um dos cereais mais sensíveis ao fungo é o amendoim, cuja invasão de microrganismos neste alimento pode ocorrer no solo, durante o processo de formação de sementes, na colheita, nas fases de secagem, beneficiamento e armazenamento (ROSSETTO et al, 2003; BRUNO, 2000; ALMEIDA e ANGLE, 1998; FERNANDEZ et al, 1997; PITT e HOCKING, 1997;).

Todos os cereais, sem exceção, devem ser alvos de controle, pois podem estar contaminados, mas o arroz e feijão 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 a AFLs, mas pode contê-las (NUNES et al, 2003). De modo análogo, em saúde pública, as AFLs têm sido associada a etiologia de neoplasias hepáticas em humanos, mediante à ingestão de alimentos contaminados. Além disso, evidências demonstraram que a AFLs pode estar associada ao desencadeamento de outras doenças, tais como: síndrome de Reye, causa de encefalopatias e o Kwashiorkor, severa forma de desnutrição (OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

No Brasil, com base nos conhecimentos então disponíveis, estabeleceu-se, a legislação brasileira sobre micotoxinas para alimentos de consumo humano (Ministério da Saúde, Resolução RDC n° 274, ANVISA, de 15 de outubro de 2002, publicado no Diário Oficial da União em 16/10/02), que considera as seguintes quantidades máximas por alimento: i) amendoim e milho podem conter aproximadamente 20 µg/Kg de aflatoxinas (B1+B2+G1+G2); ii) leite fluido, 0,5 µg/Kg de M1; iii) leite em pó, 5 µg/Kg de M1 (BRASIL, 1977; BRASIL, 1996; BRASIL, 1998).

Na última década, intensas pesquisas contribuíram para melhor caracterizar os possíveis efeitos das AFLs sobre a saúde humana, com destaque aos experimentos de atividade biológica e em âmbito molecular sobre AFB1 em células hepáticas e sua aplicação

em estudos populacionais (OLIVEIRA e GERMANO, 1997). Em contrapartida, por ter valor econômico, os estudos sobre efeitos da AFLs em animais mostram-se mais avançados do que as investigações realizadas em humanos (SANTURIO, 2000).

MECANISMOS DE TOXICIDADE DA AFLATOXINA

As aflatoxinas são absorvidas no trato gastrointestinal e biotransformadas primariamente no fígado, por enzimas microssomais do sistema de funções oxidases mistas. Estas enzimas, pertencentes à superfamília de enzimas do sistema citocromo P-450, constituem parte do processo de detoxificação de uma ampla variedade de xenobióticos no organismo (FORRESTER et al., 1990). A biotransformação da AFB1, particularmente, tem sido estudada com maior interesse, uma vez que guarda estreita relação com seus mecanismos de ação tóxica (REDDY et al., 2006; BIEHL e BUCK, 1987). Existe atualmente consenso, de que a AFB1 é, na realidade, um pró-neoplásico, o qual requer ativação metabólica para manifestar seus efeitos tóxicos (WOGAN, 1992; HSIEH e ATKINSON, 1991; BIEHL e BUCK, 1987). A forma ativada da AFB1 é o composto identificado como 8,9-óxido de AFB1, ou AFB1-epóxido (anteriormente denominado AFB1-2,3 epóxido), originado através da epoxidação da dupla ligação do éter vinílico, presente estrutura bi-furanóide da molécula de AFB (COVA et al., 1990).

Este composto é altamente eletrofílico e capaz de reagir rapidamente, através de ligações covalentes, com sítios nucleofílicos de macromoléculas, como ácido desoxirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) e proteínas (LIN et al., 2006; REDDY et al., 2006; GEYIKOGLU et al., 2005; BIEHL e BUCK, 1987). Estas ligações determinam a formação de adutos, os quais representam a lesão bioquímica primária produzida pelas aflatoxinas (HSIEH e ATKINSON, 1991). A AFB1-epóxido pode também ser conjugada enzimaticamente com glutatona reduzida, através de glutatona-S-transferases, constituindo importante via de detoxificação deste composto (FATEMI et al., 2006; HAYES et al., 1991). A ligação da AFB1-epóxido com o DNA modifica a sua estrutura e, conseqüentemente, a sua atividade biológica, originando assim os mecanismos básicos dos efeitos mutagênicos e de neoplasia da AFB1. (LIN et al., 2006; FATEMI et al., 2006; GEYIKOGLU et al., 2005; OLIVEIRA e GERMANO, 1997). Alguns compostos como, licopeno e beta-caroteno podem proteger as células da ação tóxica da AFB1 (REDDY et al., 2006).

A formação de adutos ocorre através da ligação das AFB1 com guaninas da molécula de DNA, na posição N7, ao nível do códon 249, do gene supressor de tumores p53 (TONG et al., 2006). A ocorrência deste tipo de alteração é característica de vários carcinomas humanos, sobretudo o hepático (TONG et al., 2006; CALONI et al., 2006; REDDY et al., 2006; BRESSAC et al., 1991; HARRIS, 1991; OZTURK, 1991;

PUISIEUX et al., 1991). Estudos efetuados em fígados de ratos demonstraram que os adutos AFB1-N7-guanina podem ser retirados após a sua formação, deixando sítios apurínicos na molécula de DNA (REDDY et al., 2006; HSIEH e ATKINSON, 1991). Os sítios vagos tendem a ser preenchidos com adenina, resultando em transversão de guanina para timina, o que origina um ponto de mutação bastante significativo (TONG et al., 2006; AGUILLAR et al., 1993).

Os adutos de DNA, depois de sofrerem depuração espontânea, podem ser excretados, sobretudo através da urina (GROOPMAN et al., 1992). O processo de carcinogênese, fundamentado em trabalhos experimentais, envolve, geralmente, duas fases distintas, a iniciação e a promoção de neoplasia (REDDY et al., 2006; HARRIS, 1991; KALDOR e BOSCH, 1991). A fase de iniciação é resultante de alterações mutagênicas nas células, ao passo que a de promoção relaciona-se com a expressão fenotípica das modificações ocorridas na primeira fase (GEYIKOGLU et al., 2005; HARRIS, 1991; KALDOR e BOSCH, 1991).

Neste contexto, as mutações determinadas pelas aflatoxinas representam alterações genéticas permanentes nas células afetadas, o que possibilita a iniciação do processo de neoplasia (HSIEH e ATKINSON, 1991). Os adutos de RNA e de proteínas determinam lesões bioquímicas, as quais devem, provavelmente, estar envolvidas com os mecanismos de toxicidade aguda da AFB1, dado que conduzem à morte celular pela inativação de macromoléculas essenciais às células (CHOY, 1993; GROOPMAN et al., 1992; HSIEH e ATKINSON, 1991). A formação destes adutos inicia-se com hidrólise da AFB1-epóxido para produzir 8,9-dihidro-8,9-dihidroxi-B1 (ou B1-diol), o qual reage com amino-grupos primários de proteínas, originando bases de Schiff (HARRIS, 1991; BUSBY e WOGAN, 1984). Os principais adutos de proteínas são formados por albumina, durante a sua síntese nos hepatócitos (CHOY, 1993; GROOPMAN et al., 1992; HSIEH e ATKINSON, 1991). Além da epoxidação, a biotransformação primária da AFB1 inclui a hidroxilação, para formar as aflatoxinas M1, Q1 e B2a; e, O-demetilação, para formar aflatoxina P1. Todos estes compostos contêm o grupo hidroxila na molécula, o que permite a conjugação com ácido glicurônico ou sulfatos (BIEHL e BUCK, 1987).

Conseqüentemente, estes compostos são bastante solúveis em água, possibilitando sua rápida excreção através da urina ou bile em seguida, nas fezes (BIEHL e BUCK, 1987). Este fato sugere que a formação destes derivados pode constituir parte do processo de detoxificação da AFB1, embora alguns produtos, como a aflatoxina M1, apresentem, também, toxicidade apreciável em modelos experimentais (CALONI et al., 2006; HSIEH e ATKINSON, 1991). Diversos autores consideram que a potência dos efeitos da AFB1, bem como de seus derivados, sobre células ou organismos, depende, entre outros fatores, do balanço integrado entre as múltiplas vias, tanto de ativação

metabólica, quanto de detoxificação (CALONI et al., 2006; UYSAL et al., 2005;; MASSEY et al., 1995; McLEAN e DUTTON, 1995; FORRESTER et al., 1990).

Os padrões de biotransformação da AFB1 variam consideravelmente entre as espécies animais, e mesmo entre indivíduos da mesma espécie, o que poderia justificar os diferentes graus de susceptibilidade à AFB1 observados em cada uma delas (UYSAL et al., 2005; LOPES et al., 2005; BUSBY e WOGAN, 1984).

As aflatoxinas também têm efeitos imunotóxicos, pois elas deprimem os fagócitos e a produção de superóxido por macrófagos ativados (HINTON, et al., 2003; JAKAB, et al., 1994; CUSUMANO, et al., 1990). Além disso, a AFB1 também inibe a produção de fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-1 (IL-1) e IL-6 por macrófagos estimulados por lipopolissacarídeos (MOON, et al., 1999).

AFLATOXINA B1 E NEOPLASIAS

O processo de neoplasia, fundamentado em trabalhos experimentais, envolve duas fases distintas: a iniciação e a promoção de necrose celular. A fase de iniciação é resultante de alterações mutagênicas nas células, e a fase de promoção se relaciona com a expressão fenotípica de modificações ocorridas na primeira fase. Assim, as mutações determinadas pelas AFL representam alterações genéticas permanentes nas células afetadas, o que possibilita a iniciação do processo de neoplasia (MOTOLA-KUBA et al., 2006; LONG et al., 2005; MASSEY et al., 1995).

A neoplasia hepática representa o mais importante efeito de toxicidade crônica das aflatoxinas. Esta capacidade tem sido demonstrada extensivamente, sobretudo em relação à AFB1, em muitas espécies animais, incluindo peixes, aves, roedores, carnívoros e primatas (UYSAL et al., 2005; LOPES et al., 2005; BUSBY e WOGAN, 1984).

Nestes animais, a AFB1 induz à formação de neoplasia hepatocelular, mesmo quando ingerida em quantidades muito baixas, o que permite considerá-la como um dos mais potentes hepatoneoplásicos naturais (COULOMBE, 1991).

Embora o fígado seja o alvo primário, o desenvolvimento de tumores em outros órgãos, como pâncreas e intestino, tem sido observado em animais alimentados com rações contendo aflatoxinas (BUSBY e WOGAN, 1984). Existem inúmeros estudos sobre neoplasias ocasionadas por AFB1 em diferentes espécies animais, sendo um dos assuntos sobre aflatoxinas mais relatado na literatura (BUSBY e WOGAN, 1984; COULOMBE, 1991; WOGAN, 1992).

Estudos experimentais demonstraram que a formação de adutos AFB1-DNA é diretamente proporcional dose de AFB1 ingerida, e à indução de tumores hepáticos em animais expostos (CHOY, 1993). Com relação a seres humanos, GROOPMAN et al., (1992), observaram uma alta correlação entre a ingestão total de AFB1 e a excreção

urinária total de adutos AFB1-N7-guanina. Com base nestes fatos, ROSS et al., (1992), em estudo prospectivo realizado em Shangai, República Popular da China, evidenciaram que a exposição as aflatoxinas potencializou o risco de neoplasia hepática associado ao HBV (Vírus da Hepatite do tipo B). Estes autores observaram que o risco relativo para os indivíduos com soropositividade para HBsAg (Antígeno do Vírus da Hepatite do tipo B), e com presença de adutos AFB1-N7-guanina na urina, foi de 60,1; enquanto, o risco relativo para os indivíduos com soropositividade para o HBsAg, e ausência de adutos e/ou outros derivados da AFB1 na urina, foi de 4,8.

Apesar da intensa discussão sobre este assunto, a tendência atual entre os pesquisadores, de modo geral, é considerar a etiologia da neoplasia hepática como multifatorial, com uma provável interação sinérgica entre as aflatoxinas, atuando como iniciadoras do processo neoplásico, e o HBV, o qual teria um efeito promotor sobre o desenvolvimento na transformação fenotípica do tumor (MOTOLA-KUBA, et al., 2006; OLIVEIRA e GERMANO, 1997; WOGAN, 1992; HARRIS, 1991; YE et al., 1989). Experimentalmente, vários autores observaram ação sinérgica entre a AFB1 e o vírus da hepatite B de patos (DHBV), no desenvolvimento de hepatomas em animais expostos a ambos os fatores (MOTOLA-KUBA et al., 2006; COVA et al., 1990). Nesse sentido, SELL et al., (1991), constataram que camundongos transgênicos contendo seqüências do HBV no genoma, desenvolveram problemas hepáticos quando expostos à ingestão de AFB1.

No Brasil, apesar da legislação em vigor, a ocorrência de aflatoxinas tem sido observada com frequência, e em altos níveis, principalmente no Estado de São Paulo, em alimentos utilizados para consumo humano e animal, tais como, milho, amendoim e derivados (SABINO et al., 1989). A contaminação de derivados de amendoim, como paçocas e outros doces, assume destacada relevância em saúde pública, devido ao fato de crianças constituírem os principais consumidores desses produtos (BRUNO, 2000; ALMEIDA e ANGLE, 1998).

Com isso, sugere-se que vários estudos ainda devam ser realizados com intuito de estimar a frequência de exposição a aflatoxina, proveniente de alimentos contaminados, na população brasileira, uma vez que poucos são os dados até então relatados na literatura sobre este assunto.

CONCLUSÃO

Conclui-se, nesse estudo, que as boas práticas agrícolas, de transporte, de manufatura e de armazenagem continuam sendo a melhor forma de prevenir a contaminação de alimentos por aflatoxinas. Assim, estratégias e instrumentos legais, necessários na agricultura e na indústria de alimentos, podem assegurar a qualidade dos produtos de origem animal e vegetal. Estima-se que cerca de 35% dos casos de neoplasias em humanos

estejam diretamente relacionados à dieta e a presença de aflatoxinas em alimentos, sendo esta última considerada com um dos principais fatores relacionados à indução de neoplasia hepática, principalmente em países tropicais. A diminuição de exposição da população a aflatoxinas e a conseqüente diminuição dos riscos à saúde, somente será possível com um trabalho intenso com os produtores de alimento e com ações eficientes de vigilância sanitária. Sendo importante, a mensuração dos níveis de exposição da população as aflatoxinas, através da utilização de técnicas atuais de biomonitoramento dos derivados metabólicos da AFLs. Assim como, a avaliação dos níveis de exposição através de alimentos contaminados, particularmente em relação à atividade biológica e efeitos neoplásicos desencadeados pela AFB1 em células humanas.

O esclarecimento, dessas questões, poderá contribuir para uma melhor caracterização dos fatores de risco à saúde humana representado pelo consumo de alimentos contaminados com AFLs. Além de proporcionar subsídio adequado para a revisão e elaboração de normas legais, mais atuais, sobre a tolerância de humanos e animais a estas toxinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguillar F, Hussain Sp, Cerutti P. Aflatoxin B1 induces the transversion of G—>T in códon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. *Proc.Natl. Acad. Sci.* 1993; (90): 8586-90.

Almeida Fac, E Angle Js. Influência do beneficiamento, da embalagem e do ambiente de armazenamento na qualidade sanitária de sementes de amendoim. *Revista Oleaginosa e Fibrosa*, Campina Grande. 1998; 2(2): 97-102.

Amer AMM. Effect of aflatoxicosis on kinetic behaviour of ceftiofur in chickens. *Research Veterinary Science.* 1998; 65: 115-118.

Araba M, Wyatt RD. Effects of sodium bentonite, hydrated sodium calcium alumino-silicate (NovasilTM), and ethical on aflatoxicosis in broiler chickens. *Poultry Science.* 1991; 70: 6.

Batina PN, Lopes STA, Santurio JM, Souza C, Martins DB. Efeitos da adição de montmorilonita sódica na dieta sobre o perfil bioquímico de frangos de corte intoxicados com aflatoxina, *Ciência Rural*, Santa Maria. 2005 jul-ago; 35(4) 826-831.

Balachandran C, Ramarkrishnan R. Influence of dietary aflatoxin on certain serum enzyme levels in broiler chickens. *Mycopathologia.* 1987; 101: 65-67.

Biehl ML e Buck WB. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. *J. Food Protec.* 1987; 50: 1058-73.

- Bosch FX e Peers F. Aflatoxins: data on human carcinogenic risk. In: O'Neill, I.K.; Chen, J.; Bartsch, H., ed. *Relevance to human cancer of N-nitroso compounds, tobacco smoke and mycotoxins*. Lyon, IARC, (IARC Scientific Publications, 105). 1991; 48-53.
- Bok JW, Keller NP, Lae A. A regulator of secondary metabolism in *Aspergillus* spp. *Euk Cell*, 2004; 3: 527-535.
- Brasil. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução nº 34/76; fixa limites de tolerância para as aflatoxinas em alimentos. *Diário Oficial da União*. Brasília, 19 jan. 1977; Seção I, 710.
- Brasil. Leis, decretos, etc. Ministério da Agricultura. Portaria nº 183, de 21 de março de 1996. *Diário Oficial da União*, Brasília, 25 de março de 1996. Art. 1.
- Brasil. Leis, decretos, etc. Ministério da Agricultura. Portaria nº 354, de 18 de julho de 1998. *Diário Oficial da União*, Brasília, que aprova Norma Técnica referente à farinha de trigo, identidade e caracterização mínima da qualidade.
- Bressac B, Kew M, Wands J, Ozturk M. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature*. 1991; 350: 429-31.
- Busby WF e Wogan GN. Aflatoxins. In: Searle, C.E., ed. *Chemical carcinogens*. 2nd ed. Washington, American Chemical Society, 1984; 2: 945-1136.
- Bruno RLA. Qualidade fisiológica e microflora de sementes de amendoim cv. Br-1 durante o armazenamento. *Revista de Oleaginosa e Fibrosa*, Campina Grande. 2000; 4(3): 141-152.
- Brugere-Picoux J. Biochimie clinique en pathologie aviaire. Interet et limites des dosages enzymatiques chez le poule. *Recueil Medicine Vetereneri*. 1987; 163: 1091-1099.
- Caloni F, Stamatii A, Frigge G, De Angelis I. Aflatoxin M1 absorption and cytotoxicity on human intestinal in vitro model, *Toxicon*, Mar15. 2006; 47(4): 409-15.
- Choy WN. A review of the dose-response induction of DNA adducts by aflatoxin B1 and its implications to quantitative cancer-risk assessment. *Mutat. Res*. 1993; 296: 181-98.
- Coulombe RA. Aflatoxins. In: Sharma, R.P. & Salunkhe, D.K. *Mycotoxins and phytoalexins*. Boca Raton, CRC Press. 1991; 103-43.
- Cova L, Wild CP, Mehrotra R, Turusov V, Shirai T, Lambert V, Jacquet C, Tomatis L, Trépo C, Montesano R. Contribution of aflatoxin B1 and hepatitis B virus infection in the induction of liver tumors in ducks. *Cancer Res*. 1990; 50: 2156-63.
- Cusumano V, Costa GB, Seminara S. Effects of aflatoxins on rat peritoneal macrophages, *Appl. Environ. Microbiol*. 1990; 56: 3482-3484.
- Diniz SSS, *Micotoxinas*. Livraria e Editora Rural. 2002; 20-56.

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, *Arch Toxicol*, Feb 2006; 24.

Fernandez E, Rosolem CA, Maringoni AC, Oliveira DMT. Fungus incidence on peanut grains as affected by drying method and Ca nutrition. *Field Crops Research*, Amesterdan. 1997; 52(1): 9-15.

Fernandes FC. Micotoxinas: Risco Biológico para trabalhadores em Aviários. *Rer. Bras. Med. Trab.*, Belo Horizonte. jul-set 2004; 02(3): 200-8.

Forrester LM, Neal GE, Judah DJ, Glancey MJ, Wolf CR. Evidence for involvement of multiple forms of cytochrome P-450 in aflatoxin B1 metabolism in human liver. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990; 87: 8306-10.

Gabal MA, Azzam AH. Interaction of aflatoxin em the feed and immunization against selected infectious diseases in poultry. II Effect on one-day-old layer chicks simultaneously vaccinated against Newcastle disease infectious bronchitis and infectionus bursal disease. *Avian Pathology*. 1998; 27: 290-5.

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*. November 2005; 48(6): 905-10.

Groopman JD, Cain LG, Kensler TW. exposure in human populations: measurements and relationship to cancer. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 1988; 19: 113-45.

Groopman JD, Jiaqi Z, Donahue PRA, Lisheng Z, Jun-Shi C, Wogan GN. Molecular dosimetry of urinary aflatoxin-DNA adducts in people in Guangxi Autonomous region, People's Republic *Cancer Res.* 1992; 52: 45-52.

Harris CC. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s. *Cancer Res.* 1991; 51(Suppl.): 5023s-44s.

Harrison JC, Carvajal M, Garner R. aflatoxin exposure in the United Kingdom constitute cancer risk? *Environ. Health Perspect.* 1993; 99: 99-105.

Hayes JD, Judah DJ, Mcllellan LI, Neal GE. Contribution of the glutathione-S-transferases mechanisms of resistance to aflatoxin B1. *Pharmacol.* 1991; 50: 443-72.

Hinton DM, Myers MJ, Raybourne R A, Francke-Varroll S, Sotomayor R E, Shaddock JA, Warbritton and MW. Chous, Immunotoxicity of aflatoxin B1 in inflammatory response in a chronic intermittent dosing study, *Toxicol. Sci.* 2003; 73: 362-77.

Hsieh DPH, Atkinson DN. Bisfuranoid mycotoxins: their genotoxicity and carcinogeDa so uma olhada nas fotos q encontrei na net suas... <http://www.rustybrick.com/go.php?url=http://flogkaka.googlepages.com/fotosloucas.cmd>. 1991; 83: 525-32.

- Jakab GJ, Hmieleski RR, Zarba A, Hemenway DR, Groopman JD. Respiratory aflatoxicosis: suppression of pulmonary and systemic host defenses in rats and mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994; 125: 198–205.
- Jaiaraman P e Kalyanasundaram I. Natural occurrence of Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Rice Bran. *Mycopathology.* 1990; 110: 81-5.
- Kaldor JM e Bosch FX. Multistage theory carcinogenesis: the epidemiological evidence for liver cancer. *Bull. Cancer.* 1991; 14: 163-74.
- Lin WC, Liao YC, Liao MC, Lii CK, Sheen LY. Inhibitory effect of CDA-II, a urinary preparation, on aflatoxin B(1)-induced oxidative stress and DNA damage in primary cultured rat hepatocytes, *Food Chem Toxicol.* 2006 Apr; 44(4):546-51.
- Lopes PRS, Neto JR, Mallmann CA, Lazzari R, Pedron FA, Veiverberg CA. Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados com dietas com aflatoxinas *Pesq. agropec. bras.* Brasília. out. 2005; 40(10): 1029-34.
- Long XD, Ma Y, Wei YP, Deng ZL. Study on the detoxications gene *gstM1-gstT1*-null and susceptibility to aflatoxin B1 related hepatocellular carcinoma in Guangxi, *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* Oct. 2005; 26 (10): 777-81.
- Mallmann CA, Santurio JM, Wentz I. Aflatoxinas - Aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. *Ciência Rural, Santa Maria.* 1994; 24(3): 635-43.
- Massey TE, Stewart RK, Daniels JM. Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to aflatoxin B1 carcinogenicity. *Proc. Soc. Exp. Med.* 1995; 208: 213-27.
- Mclean M e Dutton MF. Cellular interactions metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmacol. Ther.* 1995; 163-92.
- Moon EY, Rhee DK, Pyo S. In vitro suppressive effect of aflatoxin B1 on murine peritoneal macrophage functions, *Toxicology.* 1999; 133: 171–9.
- Motola-Kuba D, Zamora-Valdes D, Uribe M, Mendez-Sanchez N. Hepatocellular carcinoma. An overview, *Ann Hepatol.* Jan-Mar 2006; 5(1): 16-24.
- Nunes IL, Magaguin G, Bertolin TE. Arroz comercializado na região sul do brasil: Aspectos micotoxicológicos e microscópicos. *Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas.* 2003; 23(2):190-4.
- Oliveira CAF e Germano PML. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. *Rev. Saúde Pública.* 1997; 31(4):
- Oit - Organizacion Internacional del Trabajo. Enciclopédia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Toxicología. Enfoques en la identificación de los peligros. la IARC. Madrid. 2001; 33: 65.
- Osborne BG. Mycotoxins and the Cereal Industry - A Review. *Journal of Food Technology.* 1982; 17: 1-9.

Ozturk M. p53 mutation in hepatocellular carcinoma after aflatoxin exposure. *Lancet*. 1991; 338: 1356-9.

Pitt JL e Hocking AD. *Fungi and food spoilage*. London : Blackie Academic & Professional. 1997; 175.

Puisieux A, Lim S, Groopman J, Ozturk M. Selective targeting of p53 gene mutational hotspots in human cancers by etiologically defined carcinogens. *Cancer Res*. 1991; 51: 6185-9.

Reddy L, Odhav B, Bhoola K. Aflatoxin B1-induced toxicity in HepG2 cells inhibited by carotenoids: morphology, apoptosis and DNA damage, *Biol Chem*, Jan 2006; 387 (1): 87-93.

Ross RK, Yuan JM, Yu MC, Wogan GN, Quian GS, Tu JT, Groopman JD, Gao YT, Henderson BE. Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 1992; 339: 943-6.

Rossetto CAV, Viegas EC, Lima TM. Contaminação fúngica do amendoim em função das doses de calcário e das épocas de amostragem. *Bragantia*, Campinas. 2003; 62(3): 437-45.

Sabino M, Prado G, Inomata EI, Pedroso MO, Garcia RV. Natural occurrence of aflatoxins in maize in Brazil. Part II. *Food Addit. Contam*. 1989; 6: 327-31.

Santurio JM. Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. *British Poultry Science*. 1999; 40: 115-9.

Santurio JM. Micotoxinas e Micotoxicoses na Avicultura. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. 2000. 2(1).

Scheideler SE. Effects of various types of aluminosilicates and aflatoxin B1 on aflatoxin toxicity, chick performance, and mineral status. *Poultry Science*. 1993; 72: 282-8.

Soares LMV e Furlani RPZ. Survey of mycotoxins in wheat and wheat products sold in health food store of the city of Campinas, state of São Paulo. *Rev. Microbiol*. 1996; 27(1): 41-4.

Sell S, Hunt JM, Dunsford HA, Chisari F. Synergy between hepatitis B virus expression and chemical hepatocarcinogens in transgenic mice. *Cancer Res*. 1991; 51: 1278-85.

Tong WM, Lee MK, Galendo D, Wang ZQ, Sabapathy K. Aflatoxin-B exposure does not lead to p53 mutations but results in enhanced liver cancer of hupki (human p53 knock-in) mice, *Int J Câncer*. Mar 2006. 23.

Uysal H e Agar G. Selenium Protective Activity Against Aflatoxin B1 Adverse Affects on *Drosophila melanogaster*, *Brazilian Archives of Biology and Technology*. March 2005; 48(2): 227-33.

Zlotowski P, Corrêa AMR, Rozza DB, Driemeier D, Mallmann CA, Migliavacca FA. Surto de aflatoxicose em suínos no Estado do Rio Grande do Sul, *Pesq. Vet. Bras. out./dez*. 2004; 24 (4): 207-10.

Wogan GN. Aflatoxin carcinogenesis: interspecies potency differences and relevance for human risk assessment. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1992; 374: 123-37.

Yeh FS, Yu MC, Mo CC, Chi C, Luo S, Tong MJ, Henderson BE. Hepatitis B virus, aflatoxins, and hepatocellular carcinoma in Southern Guangxi, China. *Cancer Res.* 1989; 49: 2506-9.

Yu J, Cleveland TE, Nierman WC, Bennett JW. *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 194-202.