C

HONGOS Y MICOTOXINAS: SU POSIBLE INCIDENCIA EN DIETETICA INFANTIL

B. RODRIGUEZ ARIAS y
M.ª DE LOS ANGELES CALVO TORRAS
y JOSE GUARRO ARTIGAS
(Licenciados en Farmacia)

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
FACULTAD DE FARMACIA DE BARCELONA

INTRODUCCION

Las condiciones de hábitat favorables para el desarrollo de los hongos pueden alcanzarse sobre muy variados sustratos, por lo que su presencia es común en el suelo, en las plantas y en la atmósfera. Junto a los hongos parásitos de plantas vivientes, existe el grupo de los saprófitos que determina la destrucción de vegetales inertes. Algunos de estos últimos se desarrollan sobre granos almacenados, piensos y semillas, por lo que han sido denominados «hongos de almacenaje».

La presencia de esporas en la atmósfera ha sido señalada por numerosos autores y entre ellos destacaremos los trabajos de KRAMER y cols.[65] quienes indican la presencia de los géneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Aspergillus*, que como veremos más adelante desempeñan un importante papel en el deterioro de los alimentos. En un anterior trabajo, pusimos de manifiesto la elevada frecuencia de estos mismos géneros en la atmósfera de Barcelona.[22]

El microscópico tamaño de las esporas fúngicas facilita su dispersión en el aire y con ello la posible contaminación de los productos alimenticios destinados a los hombres y a los animales, principalmente cuando son almacenados durante un cierto período de tiempo. En estas condiciones si el grado de humedad y la temperatura que se alcanza es adecuada, se manifiesta un crecimiento del microorganismo, los alimentos presentan entonces un aspecto mohoso y características organolépticas desagradables, descendiendo por otra parte su poder nutricio, por lo que deja de ser adecuado para su consumo.

Algunas especies de hongos son capaces de elaborar en su metabolismo sustancias nocivas para el hombre y los animales, llamadas micotoxinas, que transfieren al alimento. Dichas sustancias no sufren pérdida de su actividad, en su mayoría, si son sometidas a procesos de elevado calentamiento, por lo que su peligrosidad es más manifiesta. Cuando el hongo ha producido la toxina y ésta pasa al medio de cultivo (alimento, por ejemplo) aunque al agente microbiológico desaparezca, la toxina permanece y puede ser causa de micotoxicosis.

Denominamos micotoxicosis a las enfermedades causadas en el hombre y en los animales por la ingestión de alimentos que contienen sustancias tóxicas elaboradas por hongos.

Las micotoxicosis se caracterizan por:

— No ser enfermedades transmisibles.

— Los antibióticos ejercen bajos efectos en la remisión de la enfermedad.

— La enfermedad es estacional. Se establece una correlación entre las condiciones climáticas que favorecen la producción de una toxina por un determinado hongo y la instauración de un proceso clínico.

—Se asocia la iniciación de la sintomatología al consumo del alimento específico.

— En el alimento sospechoso aparecen características de enmohecimiento.[55]

En la última década se han llevado a cabo gran cantidad de investigaciones referentes a las micotoxinas y a los efectos consecuentes a su ingestión, siendo publicados diversos trabajos a este respecto entre los que destacan los de CHRISTENSEN [30], HESSELTINE [62], PURCHASSE [82], SCOTT [89], MOREAU [76], STOLOFF [94], NEWBERNE [77].

La ingestión de micotoxinas, según la cantidad de alimento contaminado consumido, puede ocasionar dos tipos de procesos: agudos y subagudos o crónicos, siendo estos últimos los más frecuentes. Sobresalen por su importancia la aparición de procesos cancerígenos. Los principales síntomas se resumen en la tabla núm. 1.

En la tabla núm. 2, se señalan las principales micotoxinas carcinogénicas, la dosis letal, los tejidos afectados y la lesión que se manifiesta en ellos.

El diagnóstico de una micotoxicosis no es fácil y a ello contribuye la dificultad de poder evidenciar el agente etiológico por laboratorios no especializados y el hecho de que la sintomatología que se manifiesta no es específica para cada tipo de toxina. Por otra parte el que tan sólo se sospeche que un enfermo presenta una intoxicación de origen fúngico cuando las restantes causas potenciales han sido rechazadas o cuando se observa que el alimento

TABLA 1

EFECTOS TIPICOS DE LAS MICOTOXINAS

CRÓNICOS	AGUDOS
Hepatoma	Hemorragia
Nefritis	Diarrea
Irritación gástrica	Temblores y convulsiones
Infiltración grasa del hígado	Pérdida de apetito
Dermatosis	Edema
Necrosis de membranas mucosas	Náuseas y emesis
Cambios estrogénicos	Letargias
Abortos	Muerte
Teratogenia	
Ataxia	
Gangrena de extremidades	
Lesiones del conducto biliar	
Inhibición de la síntesis proteica	
Destrucción de células proliferativas del tejido hematopoyético	
Fotosensibilidad	
Alucinaciones	
Pérdida de peso	
Muerte	

* Según Hesseltine (1974) (62)

ingerido presenta enmohecimiento dificulta el conocimiento de las micotoxicosis y con ello su diagnóstico.

AFLATOXINAS

Son potentes hepatotoxinas que se citan entre los principales agentes carcinogénicos conocidos. Químicamente presentan estructura difumarocumarínica y observadas al ultravioleta se diferencian en dos grandes grupos según presenten fluorescencia azul o verde. Incluímos en el primer apartado a las aflatoxinas B_1 y B_2 y en el segundo a las G_1 y G_2.

TABLA 2

MICOTOXINAS CARCINOGENICAS *

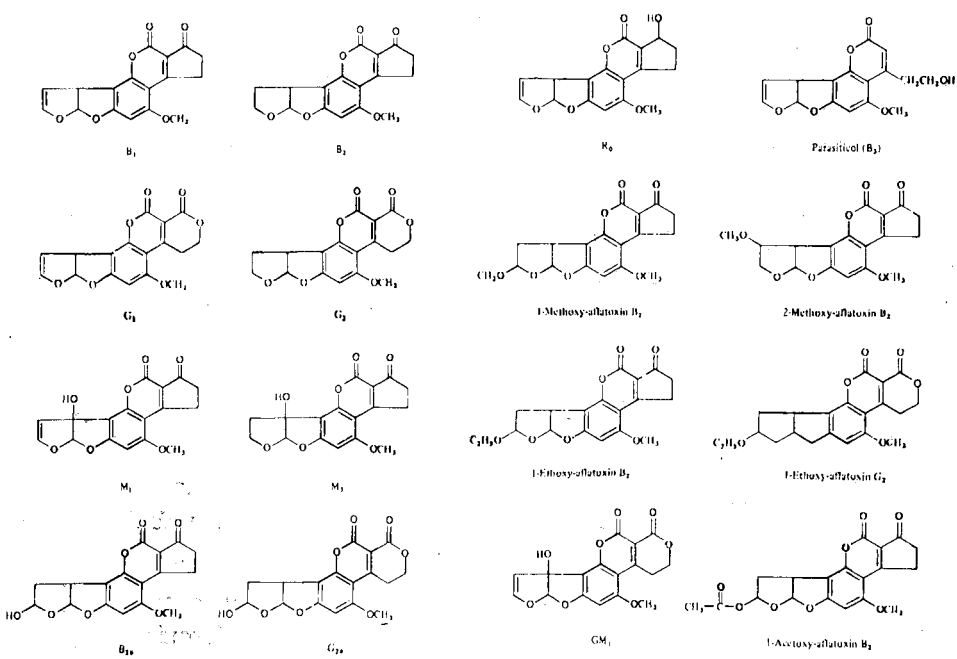
Micotoxina	*Detectada en sustrato natural*	*Tejido afectado*	*Dosis***	*Tipo de lesión*
Aflatoxina B_1	Si	Hígado, Riñón, Tráquea, Tejido subcutáneo	0,5 - 1,5 ppm en rata	Hepatoma, sarcoma subcutáneo
Aflatoxina G_1	Si	Hígado, Riñón, Glándulas, Estómago, Tejido subcutáneo	1 - 3 ppm en rata	
Esterigmatocistina	Si	Hígado, Tejido subcutáneo	30 - 100 ppm en ratón	Hepatoma
Luteoskirina		Hígado	50 - 100 ppm en ratón	Hepatoma
Cicloclorotina		Hígado		Hepatoma
Patulina	Si	Tejido subcutáneo		Sarcoma subcutáneo
Acido penicílico	Si	Tejido subcutáneo		Sarcoma subcutáneo
Rugulosina		Hígado	200 ppm en ratón	Hepatoma
Griseofulvina		Hígado	5.000 - 10.000 ppm en ratón	Hepatoma

* Según Enomoto v Saito (1972) [52]
** Dosis oral carcinogénica por día

Estas toxinas pueden aislarse de una misma cepa o de cepas diferentes, variando la proporción en que se presentan. HESSELTINE [62] demostró a este respecto que la presencia de la aflatoxina G_1 no condicionaba la de la B_1 y que algunos aislamientos producen las cuatro principales aflatoxinas aunque a diferente concentración.

Otras aflatoxinas son la M_1 y la M_2, la primera se define como producto del metabolismo de la B_1 y se origina en animales, se aisla generalmente de leche y de orina, hallándose también en cultivos de *Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus* [77]. Su actividad es igual que la de la B_1 de la que deriva como ella y presenta propiedades carcinogénicas. WOGAN [111] señaló que la incidencia de la B_1 en carne no era frecuente en tanto que su producto de metabolismo, la aflatoxina M_1, es común en la leche.

La M_2 difiere químicamente de la M_1 en la sustitución de un grupo furano terminal. La fluorescencia que presentan las aflatoxinas M_1 y M_2 es aproximadamente tres veces la de la aflatoxina B_1 [65]. Junto a las aflatoxinas tipo citadas, se han aislado la B_{2a} y la G_{2a} que presentan un grupo hidroxilo en la posición 2 del ciclo furano [50]. La importancia de esta hidroxilación radica en que es-



Estructura química de las aflatoxinas y sus metabolitos.[77]

tos derivados no son virtualmente tóxicos, siendo el paso a esta forma el posible mecanismo de desintoxicación del huésped. DETROY y cols. [43] señalan a este respecto una disminución del poder letal de las aflatoxinas y denominan al derivado obtenido aflatoxicol.

Los principales hongos productores de aflatoxinas pertenecen al grupo de *Aspergillus flavus,* destacando las especies *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus.* Numerosas cepas de estas especies se aislan del suelo, aire, semillas, productos almacenados y alimentos en diversas partes del mundo. En relación a este último sustrato se ha demostrado su presencia en Africa [77], India [104], Asia del Sur [71] y EE.UU [77].

El mínimo grado de humedad para favorecer el adecuado crecimiento del *Aspergillus flavus* se cifra en un 85 % de humedad relativa. Para la producción de aflatoxina el mínimo, el óptimo y el máximo de temperatura se sitúa en los 12, 27 y 42º C respectivamente. Estas cifras se alcanzan fácilmente en granos y cereales almacenados sobre todo en climas templados y húmedos como España y con ello se facilita la contaminación de los productos. M. Illa, 1976, ha demostrado que cepas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* son capaces de crecer y producir aflatoxinas en féculas con un contenido de humedad permitido por las diferentes Farmacopeas [66].

En el laboratorio los cultivos de estos hongos en estado puro pueden formar aflatoxinas a las veinticuatro horas, alcanzando un máximo de producción a los 10 días. Estudios recientes [66] ponen de manifiesto que un cultivo demasiado prolongado de las cepas, produce una metabolización posterior de las aflatoxinas descendiendo su poder toxicogénico.

Entre los metabolitos tóxicos producidos por *Aspergillus parasiticus* se halla el denominado parasiticol que podría ser considerado el precursor de la aflatoxina B_1. Químicamente se asemeja a la aflatoxina B_1 pero difieren en que poseen un grupo de etanol en lugar del ciclo pentano. Este metabolito fue también aislado de un cultivo de *Aspergillus flavus* y se le denominó aflatoxina B_3 [61].

Para la síntesis en el laboratorio de aflatoxinas [42] se ensayaron varios posibles precursores, determinándose que la fenilalanina y el ácido sikínico aparecían implicados en la formación de las toxinas, pudiéndose precisar la naturaleza de su biosíntesis. Se han identificado 12 compuestos estructuralmente relacionados con la configuración de las aflatoxinas, BÜCHI & RAE [16] describieron con detalle su estructura. Por otra parte WOGAN [111] llevó a cabo la investigación del metabolismo en los sistemas biológicos.

PONG y WOGAN [81] compararon la toxicidad de las aflatoxinas sintéticas M_1 y M_2 (racémicas) con las naturales (no racémicas).

Se han realizado numerosos estudios relativos al análisis de las aflatoxinas[6, 67, 81], destacando el de THOMAS y cols.[98] quienes propusieron un sistema de extracción a base de una mezcla de etanol y agua que permite la obtención de aflatoxinas puras destinadas a la investigación. El extracto obtenido se somete a la acción del exano y los pigmentos se precipitan con carbonato de cobre. Las aflatoxinas son extraídas con cloroformo y detectadas por cromatografía en capa fina. La sensibilidad es de 2 g/Kg.

La intoxicación aparece principalmente en los animales jóvenes que presentan un elevado grado de susceptibilidad. Los machos son más afectados que las hembras. Ataca fundamentalmente a polluelos, patos, perros, pavos, vacas, cerdos y ovejas y a este respecto se han elaborado numerosos estudios.[27, 51]

CAMPBELL y cols.[25] señalaron los efectos que pueden seguir al consumo de alimentos contaminados y que afectan no sólo a los animales sino también al hombre al que pueden ocasionar encefalitis y hepatomas.

En general, los signos clínicos comunes a todas las aflatoxicosis estudiadas se podrían resumir en: pérdida de apetito, pérdida de peso, anormalidades neurológicas, efectos sobre el hígado, hemorragias en el tracto gastrointestinal, ictericia de membranas mucosas, convulsiones y muerte.

El síndrome patológico de mayor importancia clínica para el diagnóstico de una aflatoxicosis es su acción sobre el hígado. Como hemos indicado pueden instaurarse procesos agudos y crónicos. En el primer caso el hígado presenta tonalidades pálidas, microscópicamente se observan necrosis difusas y centrolobulares así como acumulación de grasas. Entre las manifestaciones crónicas, la cirrosis es el síntoma fundamental. Las células del hígado se necrosan en menor grado que en los procesos agudos pero presentan fibrosis periportal y proliferación del conducto biliar.

Se ha demostrado[77] que una prolongada exposición a bajos niveles de aflatoxina puede producir en algunas especies de animales un descenso de su resistencia frente a ciertos microorganismos patógenos con el consiguiente aumento de su sensibilidad a una determinada enfermedad. Estas experiencias permiten deducir que aún en el caso en que no se produzca la muerte del animal que haya ingerido alimentos contaminados, éste queda inmunodeprimido y es fácilmente atacado por otros microorganismos.

La susceptibilidad de los animales frente a estas micotoxinas está relacionada con la especie y así se ha comprobado que mientras en patitos de un día la aflatoxina B_1 es rápidamente metabolizada, en ratas se almacena en el hígado y puede desencadenar un ataque primario en los tejidos, aún pasado cierto tiempo desde la ingestión de la afla-

toxina, puede transferirse a los tejidos y a productos de secreción de los animales (leche, orina, etc.). Experimentalmente se ha observado que las aflatoxinas y sus metabolitos pueden pasar a la sangre, órganos y tejidos del cerdo, aves de corral, etc.[6, 69, 116]

Basándose en los estudios de carcinogénesis química, BOYLAND [11] apuntó la posibilidad de que los compuestos químicos fueran una causa fundamental en el 90 %, al menos, de los cánceres que se manifiestan en el hombre. Este hecho unido a la influencia del clima y a la no uniformidad en la proporción de la mortalidad por cáncer, fue objeto de un estudio por OETTLE [79], quien aplicando los criterios anteriores a la investigación de las enfermedades hepáticas, citó la incidencia de los tumores de hígado fundamentalmente en grupos étnicos en los que la malnutrición, los parásitos, la hepatitis viral y el alcoholismo crónico junto a los alcaloides y otras toxinas eran las causas de los procesos. Estas observaciones coincidieron con los primeros estudios sobre las aflatoxinas y su aislamiento a partir de cacahuetes consumidos en grandes áreas mundiales [64, 91] en la que las enfermedades del hígado y el carcinoma hepático son frecuentes, determinando su posible relación, hecho que permitió un gran avance en el conocimiento de las aflatoxinas.

Estas micotoxinas han sido aisladas virtualmente en todos los alimentos del mercado. Su presencia es masiva en zonas africanas en las que las condiciones climáticas son especialmente idóneas para el crecimiento de los hongos en las que los métodos de cosecha y almacenamiento son aún muy primitivos.

Algunos investigadores [85] señalan que la relación aflatoxina-enfermedad hepática no es totalmente válida, pero los estudios más recientes nos inclinan a pensar en esta posible causa de las anomalías en el hígado ya que la dependencia de esta sintomatología a la ingestión de aflatoxinas es un hecho demostrado, un ejemplo de ello es el estudio de CAMPBELL y cols.[25]. Observaron que entre los individuos de una población existía una correlación entre una alta incidencia de enfermedades del hígado y el consumo de cacahuetes contaminados.

Por otra parte ROBINSON [86] publicó la casuística clínica de cirrosis infantil en la India, discutiendo la posibilidad de que las micotoxinas fueran su agente etiológico. Se procedió al análisis de 43 muestras de leches de madres de niños afectados hallando en un número significativo de los casos, manchas de fluorescencia y valores de Rf que indicaban contaminación por afloxina B_1. Junto a ello 50 muestras de orina de los mismos niños presentaron positividad para la aflatoxina B_1.

Los trabajos de SHANK [91, 156] ponen en evidencia que la aflatoxina juega un papel fundamental en las enfermedades agudas y crónicas del hí-

gado, en poblaciones del sudoeste asiático. La autopsia de los pacientes demostró la presencia de cantidades determinadas de aflatoxina en los tejidos, cuando fallecían por encefalopatía aguda y por degeneración grasa del hígado y riñones.

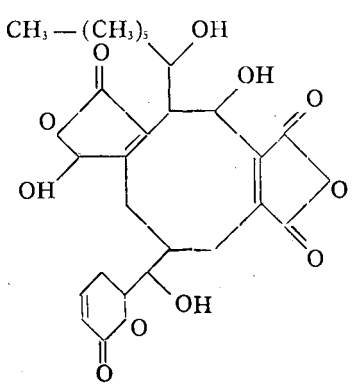
De todo lo expuesto se deduce que la presencia de aflatoxina en un alimento determina un grave riesgo para la salud humana y graves consecuencias económicas, en cuanto que al afectar al ganado disminuye la producción de carne y leche aun en el caso en que no se llegue a desencadenar la muerte de los animales afectados.

RUBRATOXINAS

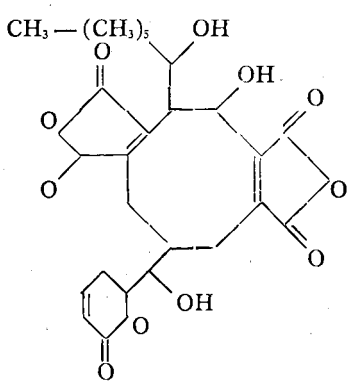
Las rubratoxinas por su estructura química se diferencian en dos grupos: rubratoxina A y rubratoxina B.[109]

Son las principales sustancias tóxicas elaboradas por cepas de *Penicillium rubrum*, pero se desconoce con exactitud su distribución en los alimentos y piensos. Entre los escasos trabajos dedicados al tema cabe señalar las investigaciones llevadas a cabo por WOGAN y cols.[113] en condiciones controladas de cultivo.

SIPPEL y cols.[92] aislaron 13 cepas de hongos diferentes a partir de muestras de maíz tóxicas, pero de ellas sólo las 2 correspondientes a *Aspergillus flavus* y *Penicillium rubrum*, poseían capacidad para producir anomalías patológicas e incluso la muerte de los animales de experimentación. Estudios posteriores demostraron que las cepas de *Penicillium rubrum* eran considerablemente más tóxicas que las de *Aspergillus flavus*. Un ejemplo de estas investigaciones es el hecho de que al alimentar a un grupo de cerdos durante un periodo de cinco días con dosis de 7 a 8 libras de maíz contaminado con *Aspergillus flavus* se provocaba un 100 % de mortalidad, en tanto que bastaban dosis de



Rubratoxina A



Rubratoxina B

media libra de maíz conteniendo *P. rubrum* toxicogénico para conseguir la misma letalidad en un periodo de sólo 24 horas.

Las cepas de *Penicillium rubrum* y *Aspergillus flavus* aisladas por BURNSIDE y cols.[21] también de muestras de maíz tóxico y cultivadas en condiciones adecuadas se vió que eran capaces de elaborar sustancias tóxicas que resultaron letales para ratas, caballos, cerdos y embriones de pollo.

FORGACS & CARLL[56] han descrito la aparición de hemorragias en aves de corral relacionados con la administración de alimentos contaminados con estirpes de *Penicillium rubrum* y *Penicillium purpurogenum*, especie íntimamente relacionada con el *Penicillium rubrum*.

Posteriormente al descubrimiento e identificación química de las aflatoxinas en el año 1960, se observó que las toxinas elaboradas por *Penicillium rubrum* actuaban sinérgicamente con ellas. Se demostró que aunque las aflatoxinas inducen muchas de las manifestaciones provocadas en el caso de la hepatitis X, sólo la acción sinérgica de la aflatoxina B y la rubratoxina B provocan el amplio espectro de síntomas que caracterizan la enfermedad.[77]

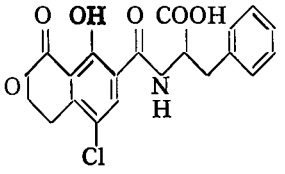
OCHRATOXINAS

Son compuestos tóxicos elaborados por especies del grupo *Aspergillus ochraceus*[77, 89] y especies del género *Penicillium*.[34, 89, 90, 106]

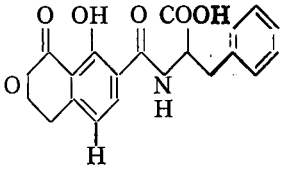
Químicamente son derivados dihidroxicumarínicos, diferenciándose en ochratoxina A y ochratoxina B Algunos autores mencionan también la existencia de la ochratoxina C.[73] Las ochratoxinas presentan un grupo 7 carboxi unido al 1 - fenilalanina, en tanto que las ochratoxinas B son derivados no clorados y poseen un menor grado de toxicidad. Los esteres etilo y metilo de ambas ochratoxinas son también tóxicos y han sido aislados de cultivos de *Aspergillus ochraceus*.[77] La disociación del hidroxilo fenólico es indispensable para el desencadenamiento del proceso tóxico.[33]

Las ochratoxinas A se elaboran naturalmente sobre sustancias enmohecidas asociadas al crecimiento del *Penicillium viridicatum*, hongo que produce también citrinina. La ochratoxina A es la micotoxina más estable a la acción del calor y así se puso de manifiesto en las experiencias llevadas a cabo por SCOTT y cols.[89] quienes detectaron la presencia de la ochratoxina en 18 de las 29 muestras de trigo analizadas que previamente habían sido sometidas a un tratamiento térmico elevado. La concentración era del orden de 0,03 a 27 ppm.

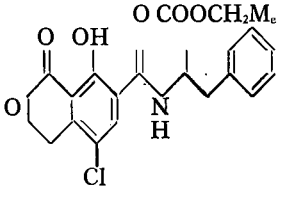
Es frecuente en trigo almacenado a 12-25°C cuya humedad es del 22 % ya que en estas condiciones el *Penicillium viridicatum* compite con la micoflora nativa y produce grandes cantidades de agentes tóxicos. También se ha evidenciado la presencia de ochratoxinas en cultivos de ce-



Ochratoxina A



Ochratoxina B



Ochratoxina C

pas de *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium viridicatum* aislados de varios sustratos como judías secas,[74] jamón curado,[53] arroz [53] y cacahuetes.[49]

Cuando la ochratoxina es administrada a dosis bajas al ganado vacuno, el producto de su hidrólisis aparece en la orina y también en otras secreciones como la leche [31] en ratas se encuentra en orina y heces.[59]

Los principales cambios patológicos consecuencia de la ingestión de grandes dosis de ochratoxinas se podrían resumir en: necrosis del epitelio tubular renal y de las células periportales del hígado y enteritis.[47, 105]

Las investigaciones sobre los efectos de estas toxinas han demostrado su implicación en la enfermedad de cerdos daneses conocida con el nombre de «*nefropatía del cerdo*», que puede ser experimentalmente reproducida en ratas y cerdos que se alimentan de cebadas infectadas con *Penicillium viridicatum*.[59] Este hecho ha sido también demostrado en Islandia [17] y en EE. UU.[28] pero con maíz. Un nivel adecuado de toxina en los alimentos determina nefropatías al cabo de tres o cuatro meses.[59] Una dosis oral diaria de 1 mg. por kg. causa la muerte de los animales a los seis días, precedida de síntomas de anorexia, depresión, diarrea, fiebre, polidipsia, poliuria, deshidratación y postración.[97]

Las toxinas inducen afección de tipo renal en las ratas.[76]

La resistencia a la intoxicación depende como en las anteriores toxinas citadas, de la raza y así, por ejemplo, se ha demostrado que los perros son más sensibles a las ochratoxinas que los cerdos, ya que a dosis orales de 0,3 mm./kg. sobreviven de 11 a 15 días, aunque se registren graves afecciones renales.[96, 97]

En aves, ocasiona una disminución del crecimiento, así como lesiones hepáticas y renales y enteritis.[80] En las investigaciones llevadas a cabo

con pollitos a los que se les administraban los alimentos mezclados con cultivos de *Aspergillus sulphureus* capaces de producir niveles diarios de ochratoxina A, de 1,2 a 2,4 ppm., se puso de manifiesto su acción sobre la disminución de peso del cuerpo, retraso de la madurez sexual y reducción de la producción de huevos, destacando un elevado porcentaje de mortalidad y morbilidad.[29] Estos mismos efectos se han observado en pollos alimentados con dietas cuyo contenido en ochratoxina A era de 0,5 ppm.[73] También se ha demostrado su capacidad de provocar abortos en ganado bovino.[77]

La capacidad embriotóxica de la ochratoxina A se manifiesta en ratas a las que una mínima dosis adicionada al décimo día de la gestación provoca la muerte de los fetos. Inyectada intraperitonealmente y a los 7-12 días de gestación una dosis de 5 mg./kg. aumenta notablemente la mortalidad prenatal, las malformaciones fetales y disminuye el peso del feto.[60]

En relación con las experiencias realizadas en pollitos de un día, se ha cifrado la DL_{50} de la ochratoxina A, en 166 μ y para la ochratoxina C, en 216 μ, determinándose que estos animales de experimentación son los más idóneos para los ensayos con ochratoxinas[32] BULLERMAN y cols.[18, 19] observaron que con cuatro extractos de hongos aislados de quesos y capaces de producir ochratoxina A, se causaba una mortalidad en embriones de pollo del 100 %.

NOTORI y cols.[78] examinaron 33 cepas de *Aspergillus ochraceus* aisladas de alimentos en el Japón y hallaron que dos de las cepas elaboraban ochratoxina A, en tanto que las restantes producían ácido penicílico. Asociaron la toxicidad de estas cepas con el ácido penicílico que presenta capacidad carcinogénica y pensaron que estos metabolitos eran más importantes que la ochratoxina A como agentes causales de micotoxicosis.

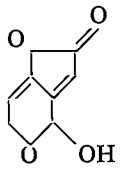
En la importancia de estas ochratoxinas para el hombre, no sólo desde el punto de vista económico, en que causa una gran pérdida en la ganadería, sino también desde el más importante de la salud pública, debemos resaltar que se ha demostrado la capacidad de difusión de la toxina al hombre a través del consumo de carne de cerdo contaminada.[76] Por otra parte DOSTER y cols.[47] aportaron que en las truchas las ochratoxinas A son metabolizadas y excretadas en forma de sustancias no tóxicas, solubles en el agua.

Para la detección y determinación cuantitativa de las ochratoxinas A se han publicado diversos métodos.[31, 69]

PATULINA

Su estructura química es fundamentalmente una lactona instaurada y en ello se asemeja a determinadas sustancias cancerígenas.

Fué considerada al principio como un antibiótico, posteriormente se comprobó su acción tóxica. Los principales productores de patulina son un gran número de especies de *Penicillium* y *Aspergillus* entre los que destacan el *Penicillium expansum*[73] y el *Penicillium urticae*[59] y junto a ellos el *Byssochlamys nivea* (=*Paecilomyces varioti*) y el *B. fulva*.[54] Se han aislado de productos enmohecidos espontáneamente, derivados fundamentalmente de trigo y otros cereales.[73]



La patulina reacciona con SO_2[59] y su actividad antibacteriana desaparece en presencia de la vitamina B_1.[159] ESCOULA[54] ha llevado a cabo numeroso estudios sobre la influencia del ácido propiónico y fórmico en la producción de patulina por *B. nivea*, ya que ambos compuestos pueden retrasar su crecimiento e inhibir la producción de patulina.

La cinética de destrucción de la patulina en solución acuosa por el calor ha sido objeto de diversos estudios.[59] Después de una administración oral la toxina no puede ser detectada en el cuerpo de ratones y conejos,[59] los productos metabólicos se desconocen, pero in vitro se conoce su inactivación en el riñón, en la sangre, en el hígado y en otros tejidos.[77]

Los principales signos tóxicos observados son, parálisis de los nervios motores y convulsiones.

En el Japón se ha considerado a esta toxina implicada en la muerte del ganado que consumía cebada de la que posteriormente se pudo aislar el *Penicillium urticae*, capaz de producir la toxina en medios de cultivo y sobre cebada, puede ser letal para ratones y toros.[76]

La LD_{50} oral en ratón fue cifrada en 35 mg./kg.[77] y en 170 mg/kg. en pollos.[77] Otras experiencias demostraban que la frecuencia en la administración es un factor condicionante para determinar el grado de toxicidad y así se observó que 0,5 mg. administrados por vía oral a dosis distantes entre sí dos semanas causaban edema de pulmón y muerte, en ratas,[59] en tanto que las tomas de 0,2 mg. diarios a lo largo de seis semanas en pollos desarrollaban afecciones hepáticas[59] cuando la experiencia se realiza a lo largo de 61-64 semanas, dos veces por semana inyectando 0,2 mg. por vía subcutánea las ratas presentan sarcomas en el lugar de la infección.[44] Estos datos permiten deducir el interés de la toxina para el hombre ya que ponen de manifiesto su potencial actividad carcinogénica.

Los métodos de análisis de la patulina en granos y productos almacenados se basan en cromatografía de gases y de capa fina y fueron descritos por diversos autores.[77]

CITREOVIRIDINA

A lo largo de varios años se aisló en Taiwan y Japón, a partir de arroz amarillento, un hongo denominado *P. toxicarium* Myaiki que posteriormente se identificó con el *Penicillium citreo-viride* Biourge. Numerosos estudios sobre la nutrición han determinado que este arroz contaminado producía efectos tóxicos sobre la rata debido a la presencia de una sustancia tóxica a la que se denominó citreoviridina.[83]

Los efectos toxicológicos se manifiestan en agudos envenenamientos que se caracterizan por una progresiva parálisis, vómitos, convulsiones y desórdenes respiratorios. En un último estadío se manifiestan disturbios cardio-vasculares, parálisis flácida e hipotensión seguida de diarrea, coma, paro respiratorio y muerte. Estos síntomas son muy semejantes a los que se desencadenan en animales afectados de beriberi. Junto a la sintomatología señalada no se observan cambios notables en la histopatología.

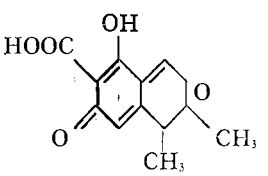
Aunque el beriberi se haya descrito como una deficiencia de tiamina, URAGUCHI cita la evidencia de que las vitaminas B y C juegan un papel secundario en esta enfermedad [103] y sugiere la posible influencia de una micotoxicosis, hecho que viene reforzado por la estrecha relación que existe entre las partes del mundo en que se ingiere arroz y las zonas donde se presenta preferentemente la enfermedad. UENO [99] ha demostrado una sintomática y toxicológica relación entre la citreoviridina y el beriberi cardíaco entre los animales.

CITRININA

Químicamente es un compuesto cíclico de bajo peso molecular y con un grupo carboxílico libre, su biosíntesis está parcialmente determinada.[15, 59]

Esta toxina es elaborada por un número de especies de *Penicillium* y *Aspergillus* incluyendo fundamentalmente al *P. citrinum* y al *P. viridicatum*.[5, 89, 90]

Ha sido detectada en granos almacenados enmohecidos que contenían también ochratoxina A. En el Canadá de 18 muestras de cereales estudiados con aspecto mohoso, trece poseían citrinina en una concentración de 0,08-80 ppm.[90] En Dinamarca se ha aportado una experiencia en la que de 33 muestras analizadas, 19 contenían ochratoxina A, de las cuales tres la presentaban en unos niveles de 0,16-2 ppm. Estas muestras se obtuvieron de granjas en las que se habían observados casos de nefropatías en cerdos.[59]



La citrinina puede reaccionar con

determinados compuestos. En presencia de cisteína disminuye su actividad antibacteriana y puede unirse a la fracción albumínica de la sangre.[41]

Esta toxina es fundamentalmente nefrotóxica para los animales de laboratorio e induce un síndrome comparable a la nefropatía del cerdo cuando consumen niveles de 200-400 ppm. durante uno o dos meses.[59]

En el año 1953 un grupo de investigadores japoneses descubrió que en el arroz importado de Tailandia se aislaba el *Penicillium citrinum*, con capacidad toxicogénica.[77] Esta especie pudo ser posteriormente aislada en todas las zonas productoras de arroz del mundo. Se demostró que los ratones y perros que consumían arroz contaminado con *Penicillium citrinium* presentaban graves afecciones necróticas.[88]

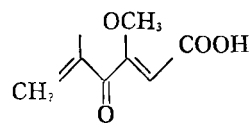
La DL_{50} establecida para ratas, ratones, conejos y hamsters se ha determinado por inyección subcutánea de 35 a 67 mg./kg., según la especie. Administrada intraperitonealmente varía de 30 mg./kg. en ratones a 50 mg./kg. en conejos.[77]

Acido penicílico

Al igual que la patulina, químicamente es una lactona instaurada y fue considerada como un antibiótico. En solución presenta dos formas tautómeras, una abierta o forma ceto y otra cerrada o lactona.

El ácido penicílico es elaborado por varias cepas de *Penicillium* y *Aspergillus*, destacando el *Penicillium puberulum, Penicillium martensi, Penicillum palitans, Penicillium cyclopium* y el *Aspergillus ochraceus*.[39]

Se ha podido extraer de diversos sustratos. Snow y cols.[93] detectaron 0,11-0,22 ppm. del ácido en dos muestras de trigo enmohecido, se aisló también de granos de maíz almacenados a temperaturas de 1-10° C. Se ha demostrado su presencia en car-



nes, harinas y jugos de naranja.[36] Bullerman lo identificó en un queso enmohecido guardado a 5° C, durante seis semanas.[20] Ha sido extraído también de judías secas a niveles de 11-179 μ/kg.[59]

La producción de la toxina se halla favorecida a baja temperatura (15-22° C), por lo que en un pienso en el que el enmohecimiento no es aún visible puede haberse elaborado ya el agente tóxico en cantidad suficiente como para ser peligroso para las aves de corral.[59]

A dosis letales el ácido penicílico induce la degeneración grasa del hígado en las codornices y la necrosis de sus células en el ratón.[39] Estudios farmacológicos han demostrado que posee efectos vasodilatadores y antidiuréticos.[59] Dada su elevada toxicidad a los niveles farmacológicamente activos, el ácido penicílico no se debe administrar

como antibiótico.[59] El principal interés toxicológico de esta toxina reside en su potencial poder carcinogénico, demostrado por su capacidad de producir sarcomas en ratones inyectados subcutáneamente dos veces por semana a dosis de 1 mg. y por espacio de 64 semanas.[44]

La toxicidad oral es baja cifrándose en 600 mg./kg. la LD_{50} en ratón,[59] ensayada en embrión de pollo la toxicidad es también reducida.[39]

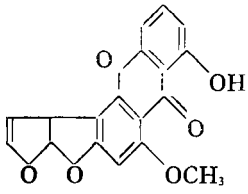
Para la determinación de la presencia de la toxina se han descrito diferentes métodos cromatográficos.[37, 59]

Esterigmatocistina

Su estructura química se basa en un núcleo de xantona unido a un bifurano.

Es un precursor de la aflatoxina B_1, siendo 125 veces menos efectivo en la inducción de hiperplasias en hígados de patitos.[70]

Se ha extraído a partir de cultivos



de *Aspergillus versicolor, nidulans, flavus, rugulosus* y *Penicillium luteum*[42, 59] aislados de los más diversos sustratos como maíz, judías secas, carnes ahumadas, etc. También se ha encontrado en muestras de trigo en una proporción de 0,3 ppm.[76] y en el café en 1143 ppm.[83]

El más notable de los efectos fisiológicos de la esterigmatocistina es su carcinogenicidad, al ser incorporada a la dieta de los ratones a dosis diarias de 0,15-2,15 mg./kg. se manifiesta la formación de un carcinoma hepatocelular. Presenta también propiedades carcinogénicas cuando se aplica en forma tópica a las ratas.[73]

Se han publicado diversos métodos de estudio para el análisis de la toxina en granos contaminados.[59]

Luteoskirina y Cicloclorotina

Las investigaciones dirigidas al estudio del agente causal de graves cirrosis y hepatomas en ratas alimentadas con arroz enmohecido, permitió poner de manifiesto la presencia de estirpes de *Penicillium islandicum*, productoras de toxinas como la luteoskirina y sus péptidos conteniendo clorina denominados cicloclorotina. Ambos tóxicos son carcinogénicos y afectan fundamentalmente al hígado.[52] La administración de luteoskirina desencadena una necrosis del hígado, en tanto que la cicloclorotina da lugar a fibrosis y cirrosis hepática. La luteoskirina afecta la formación mitocondrial[77] ya que se une a la molécula del DNA e inhibe la síntesis del RNA en los tumores celulares[101] por lo que presenta cierta capacidad antitumoral[102]

Otra toxina implicada en este tipo

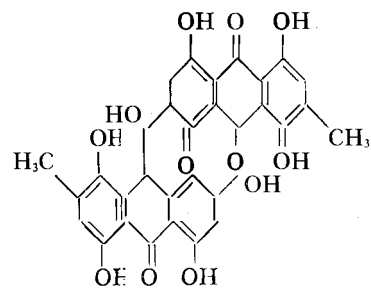
de intoxicaciones es la islanditoxina, descrita por MARUMO,[72] su estructura química se asemeja a la cicloclorotina.[103]

Por medio de estudios recientes se ha observado que los factores externos[77] influyen en la producción de las toxinas y así la toxicidad decrece según que el sustrato sea arroz, cebada, trigo, maíz, en el orden establecido. La adición de aminoácidos al medio de cultivo, incluyendo asparagina, glutamina y malonato, favorece la producción de luteoskirina y otros pigmentos. Los aminoácidos pasan a formar parte de la molécula de luteoskirina y de la estructura química de los compuestos relacionados.[77]

La toxicidad de la luteoskirina varía según la forma de administración.[77] En ratones, la DL_{50} por vía intravenosa es de 6,65 mg/kg, e intraperitonealmente es de 40,8 mg/kg, por vía subcutánea 147 mg/kg y por vía oral de 221 mg/kg. La inoculación subcutánea de dosis correspondiente a la décima parte de la letal a lo largo de varios días produce el mismo efecto que la administración en una sola toma de la dosis letal. Existe una disminución de la resistencia a la intoxicación en el caso de animales adultos y machos.

El efecto patológico de la luteoskirina reside primariamente en el hígado, siendo semejante en ratas, ratones, conejos y monos. La aparición de manchas amarillentas en el hígado se pone de manifiesto a las 24 horas de exposición al tóxico. Se aprecian marcadas necrosis centrolobulares y degeneración grasa del hígado con manifestaciones de hipercromatismo y pleomorfismos nucleares. La acción prolongada a la toxina induce la formación de tumores en el hígado pero no desencadena una cirrosis.

En relación a la cicloclorotina señalaremos que posee una rápida acción hepatotóxica, consecuencia de la desaparición de la membrana de los ribosomas que limitan las mem-



Luteoskirina

branas y los granos de glucógeno de las células hepáticas dañadas. Su modo de acción se pone rápidamente de manifiesto.[77] Perturba el metabolismo proteico y glucídico siendo causa de una inicial hiperglucemia seguida de hipoglucemia, desencadena un acelerado catabolismo del glucagón e inhibe su neogénesis.[77] La exposición prolongada al tóxico provoca cirrosis y carcinoma de las células hepáticas asociado a tumores del sistema reticuloendotelial. En ratas puede ocasionar hemorragias peritoneales consecuentes a una aguda necrosis pancreática.[77]

Después de laboriosos estudios se ha llegado a la conclusión de que la luteoskirina es hepatotóxica y posiblemente carcinogénica aunque menos potente que las aflatoxinas y que la cicloclorotina es un fuerte agente cirrogénico y posiblemente también carcinogénico,[77] pero estos aspectos deben ser profundizados en posteriores investigaciones.

EL PROBLEMA EN LOS PRODUCTOS DIETETICOS

Basándonos en este peligro potencial que pueden representar los hongos en el deterioro de los alimentos y en las toxiinfecciones de origen alimentario, en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia, hemos intentado estudiar la micoflora contaminante de los productos dietéticos destinados a la alimentación infantil y la posible presencia de cepas toxicogénicas en los mismos.

Se ha llevado a cabo el estudio de los mohos y levaduras aislados a partir de 100 alimentos infantiles, adquiridos en diversas farmacias de nuestra ciudad. Por su composición, los productos estudiados se pueden clasificar en cuatro grupos, según se señala en la tabla número 3.

Para realizar el contaje de la micoflora total se prepararon diluciones seriadas del alimento a investigar que se sembraron en 10 placas de Petri. El medio de cultivo utilizado fue el siguiente: ext. levadura, 4 g; ext. malta, 1 g; glucosa, 4 g, y agar, 15 g. El pH oscila entre 6 y 7. Se adicionaron 30 ppm de clorhidrato de tetraciclina como inhibidor del crecimiento bacteriano. Primeramente se comprobó que la presencia del antibiótico apenas influía en el adecuado desarrollo de los propágulos fúngicos.

TABLA 3

PRODUCTOS DIETETICOS INFANTILES ESTUDIADOS

LECHE	40 muestras
CEREALES	47 muestras
CEREALES LACTEADOS	11 muestras
VARIOS *	2 muestras

* Carne y Membrillo

La siembra se realizó por agotamiento en superficie, extendiéndose 0,1 ml en cada placa. La dilución que permitía mejores contajes era la 10^{-1}. Posteriormente las placas se incubaron durante 7 días a 27° C pasados los cuales se procedía al contaje y aislamiento de los hongos

en cultivo puro para su ulterior clasificación siguiendo los criterios adecuados a cada género.

En la tabla siguiente se destacan las muestras que superaron el límite máximo de mohos y levaduras permitido por la reciente reglamentación de productos dietéticos.

TABLA 4

NUMERO DE MUESTRAS CON UN CONTENIDO DE MOHOS Y LEVADURAS SUPERIOR A 300 COL/G (NIVEL MAXIMO PERMITIDO POR LA REGLAMENTACION TECNICO-SANITARIA ESPAÑOLA SOBRE PREPARADOS ALIMENTICIOS PARA REGIMENES DIETETICOS) *

LECHES

Número de muestras analizadas: 40

301 a 999 col/g . . .	8 muestras
1.000 a 2.000 col/g . . .	5 muestras
Más de 2.000 col/g . . .	3 muestras
	16 muestras . . . 40 % del total

CEREALES

Número de muestras analizadas: 47

301 a 999 col/g . . .	8 muestras
1.000 a 2.000 col/g . . .	2 muestras
Mas de 2.000 col/g . . .	7 muestras
	17 muestras . . . 36,1 % del total

CEREALES LACTEADOS

Número de muestras analizadas: 11

301 a 999 col/g . . .	0 muestras
1.000 a 2.000 col/g . . .	2 muestras
Más de 2.000 col/g . . .	3 muestras
	5 muestras . . . 45,4 % del total

* Según REAL DECRETO 2685/1976, de 16 de octubre

TABLA 5

MICOFLORA CONTAMINANTE DE LOS CEREALES EXAMINADOS

Número de muestras examinadas: 47

Contaminación por:

Penicillium	63,8 %
Aspergillus	59,5 %
Levaduras	31,9 %
Rhizopus	23,4 %
Mic. estéril	14,8 %
Trichoderma	2,1 %
Monilia	2,1 %

MICOFLORA CONTAMINANTE DE LOS CEREALEES LACTEADOS ESTUDIADOS

Número de muestras examinadas: 11

Contaminados por:

Aspergillus	90,7 %
Penicillium	72,7 %
Levaduras	45,4 %
Trichoderma	9,1 %
Cladosporium	9,1 %
Rhizopus	9,1 %

TABLA 6

MICOFLORA CONTAMINANTE DE LAS LECHES ESTUDIADAS

Número de muestras examinadas: 40

Contaminación por:

Penicillium	57,5 %
Aspergillus	52,5 %
Cladosporium	22,5 %
Levaduras	22,5 %
Rhizopus	5,0 %
Trichoderma	2,5 %
Alternaria	2,5 %
Mic. estéril	2,5 %

La contaminación de cada uno de los grupos en que hemos dividido a los productos para su mejor estudio se resume en las tablas números 5 y 6.

En las relaciones expuestas se observa que los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* presentaron un mayor grado de incidencia frente a los restantes. Estos dos géneros no sólo son importantes desde el punto de vista de meros contaminantes, sino también como posibles elaboradores de micotoxinas y por ello centramos la segunda parte de nuestro estudio en poner de manifiesto la posible capacidad tóxica de las cepas aisladas.

La determinación de la toxicidad de las estirpes estudiadas se llevó a cabo con pollitos de un día a los que se les administraba el hongo por vía oral mezclado con el pienso destinado a su alimentación siguiendo la técnica descrita por DOUPNIK.[49] La proporción establecida entre el sustrato que contenía la posible toxina y el pienso era de 6/4.

Las cepas en estudio se hacían crecer en frascos de Roux sobre el mismo sustrato del que habían sido aisladas, previamente esterilizado y enriquecido con un medio de cultivo constituido fundamentalmente por azúcares y extracto de levadura. Al cabo de tres semanas de iniciado el cultivo se procedía al secado del mismo, manteniéndolo en una estufa de 60° C durante 15 horas. Alcanzado el grado de sequedad deseado se mezclaba con el pienso que debía ser administrado a los animales de experimentación.

La investigación se realizó con 18 cepas del género *Aspergillus* de las cuales, seis pertenecían a la especie *Aspergillus flavus*, seis a *Aspergillus parasiticus* y las restantes a *Aspergillus fumigatus*.

Los lotes de pollitos estaban constituidos por 10 animales de la misma raza y sexo y de pesos similares y se mantenían lotes control a los que se alimentaba con el pienso adicionado del producto infantil estéril y que servían de referencia para el estudio de la sintomatología que aparecía en las aves durante el proceso.

Los datos de mortalidad observados a lo largo de la experiencia, así como la toxicidad relativa de cada toxina investigada se registran en la tabla número 7.

El estudio se prolongó durante cuatro semanas.

Los hallazgos necrópsicos coinciden con los descritos por diversos autores y ponen de manifiesto la presencia real de cepas toxicogénicas en los productos estudiados. Tablas números 8 y 9.

Otro hecho que puede deducirse de los datos recopilados a lo largo de nuestra investigación es la variación en el incremento de peso que se registró entre los lotes patrón y los restantes y que queda recogido en la tabla 10.

Deben tenerse en cuenta por otra parte las diversas manifestaciones que presentaron los pollitos de cada lote con cepas sin capacidad letal.

TABLA 7

CEPA	MORTALIDAD *	%	TOXICIDAD
Aspergillus flavus			
FFB A - 33_2	10/10	100	ALTA
FFB A - 4_3	0/10	0	NULA
FFB A - 20_5	2/10	20	BAJA
FFB A - 8_1	0/10	0	NULA
FFB A - 54_1	10/10	100	ALTA
FEB A - 32_1	2/10	20	BAJA
Aspergillus parasiticus			
FFB A - 60_2	5/10	50	MODERADA
FFB A - 40_1	0/10	0	NULA
FFB A - 99_2	4/10	40	MODERADA
FFB A - 25_3	10/10	100	ALTA
FFB A - 85_4	0/10	0	NULA
FFB A - 63_5	10/10	100	ALTA
Aspergillus fumigatus			
FFB A - 3_1	0/10	0	NULA
FFB A - 34_4	0/10	0	NULA
FFB A - 7_5	0/10	0	NULA
FFB A - 50_3	0/10	0	NULA
FFB A - 13_2	0/10	0	NULA
FFB A - 78_4	0/10	0	NULA
Patrón 1	0/10	0	NULA
Patrón 2	0/10	0	NULA

* Los números indican la relación existente entre pollitos muertos y pollitos ensayados

TABLA 8

HALLAZGOS NECROPSICOS EN POLLITOS DE UN DIA ALIMENTADOS CON PIENSO CONTAMINADO CON CEPAS DE ASPERGILLUS FLAVUS

	FFB A-33_2	FFB A-4_3	FFB A-20_5	FFB A-8_1	FFB A-54_1	FFB A-32_1
CORAZON						
Pálido y alargado . .	—	—	—	—	—	—
Incremento volumen .	+	+	+	+	+	—
HIGADO						
Degeneración grasa . .	+	+	+	+	+	+
Hepatomegalia	+	+	+	+	+	—
ESTOMAGO						
Ulceración.	—	—	—	—	—	+
Hemorragia interna . .	+	+	+	+	+	+
N.º Pollos examinados .	10	10	10	10	10	10

TABLA 9

HALLAZGOS NECROPSICOS EN POLLITOS DE UN DIA ALIMENTADOS CON PIENSO CONTAMINADO CON CEPAS DE ASPERGILLUS PARASITICUS

	FFB A-60$_2$	FFB A-40$_1$	FFB A-99$_2$	FFB A-25$_3$	FFB A-85$_4$	FFB A-63$_5$
CORAZON						
Pálido y alargado . .	+	+	+	+	+	+
Incremento volumen .	—	—	—	—	—	—
HIGADO						
Degeneración grasa . .	+	+	+	+	+	+
Hepatomegalia	—	—	—	—	—	—
ESTOMAGO						
Ulceración.	—	+	—	—	—	+
Hemorragia interna . .	+	—	+	—	+	+
N.° pollos examinados .	10	10	10	10	10	10

TABLA 10

AUMENTO MEDIO PORCENTUAL DEL PESO DE DIFERENTES LOTES DE UN DIA ALIMENTADOS CON PIENSO CONTAMINADO CON CEPAS DE ASPERGILLUS PARASITICUS

	P1*	P2*	FFB A-60$_2$	FFB A-40$_1$	FFB A-09$_2$	FFB A-25$_5$	FFB A-85$_4$	FFB A-63$_3$
Aum. del 11.° - 14.° día . .	19	30	4	10	8	9	7	10
Aum. del 14.° - 18.° día . .	50	54	61	88	67	61	67	87

AUMENTO MEDIO PORCENTUAL DEL PESO DE DIFERENTES LOTES DE POLLITOS DE UN DIA ALIMENTADOS CON PIENSO CONTAMINADO CON CEPAS DE ASPERGILLUS FLAVUS

	P1*	P2*	FFB A-23$_2$	FFB A-4$_3$	FFB A-20$_5$	FFB A-8$_1$	FFB A-54$_1$	FFB A-32$_1$
Aum. del 11.° - 14.° día . .	18	30	10	12	2,7	4,8	5,3	4,7
Aum. del 14.° - 18.° día . .	50	53	68	106	130	100	100	110

AUMENTO MEDIO PORCENTUAL DEL PESO DE DIFERENTES LOTES DE POLLITOS DE UN DIA ALIMENTADOS CON PIENSO CONTAMINADO CON CEPAS DE ASPERGILLUS FUMIGATUS

	P1*	P2*	FFB A-3$_2$	FFB A-34$_4$	FFB A-7$_9$	FFB A-50$_3$	FFB A-13$_2$	FFB A-78$_4$
Aum. del 11.° - 14.° día . .	9	8	3	3	3	6	4	3
Aum. del 14.° - 18.° día . .	76	105	36	32	37	59	56	36

* P1 y P2 son lotes patrón

TABLA 11

EVOLUCION DEL CURSUS MORBI EN POLLITOS DE UN DIA ALIMENTADOS CON PIENSO CONTAMINADO CON CEPAS DE ASPERGILLUS FLAVUS

	FFB A-33$_2$	FFB A-4$_3$	FFB A-20$_5$	FFB A-8$_1$	FFB A-54$_1$	FFB A-32$_1$
Diarrea	+	+	+	+	+	+
Síntomas de asfixia	—	+	—	+	+	—
Anomalías marcha	+	+	+	+	+	+
Alteraciones plumaje	+	+	+	+	+	+
Tembl. y convulsiones	+	—	+	—	+	+
Pérdida de apetito	+	+	+	+	+	+
N.° de pollos	10	10	10	10	10	10

TABLA 12

EVOLUCION DEL CURSUS MORBI EN POLLITOS DE UN DIA ALIMENTADOS CON PIENSO CONTAMINADO CON CEPAS DE ASPERGILLUS PARASITICUS

	FFB A-60$_2$	FFB A-40$_1$	FFB A-99$_2$	FFB A-25$_3$	FFB A-85$_4$	FFB A-63$_5$
Diarrea	+	+	+	+	+	+
Síntomas de asfixia	—	+	—	+	—	+
Anomalías marcha	+	+	+	+	+	+
Alteraciones plumaje	+	+	—	+	+	—
Tembl. y convulsiones	+	+	—	+	+	+
Pérdida de apetito	+	+	+	+	+	+
N.° de pollos	10	10	10	10	10	10

La sintomatología a que nos referimos queda reflejada en las tablas números 11 y 12.

En resumen, de los datos aportados podemos deducir las siguientes conclusiones:

— Se ha observado que la mayoría de los alimentos estudiados presentan un elevado índice de contaminación, destacando en este sentido los incluidos en el grupo de cereales lacteados.

— Los géneros predominantes en todas las muestras estudiadas son *Penicillium* y *Aspergillus*, descritos mundialmente como productores de micotoxinas.

— En las pruebas toxicológicas realizadas las estirpes de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* ensayadas, presentaron toxicidades relativas, altas en ambos casos.

— Entre los hallazgos necrópsicos destacan en el caso de las cepas de *Aspergillus flavus*, la

degeneración grasa del hígado, la presencia de hepatomegalia y de hemorragias internas.

— En relación con el *Aspergillus parasiticus* señalaremos la degeneración grasa del hígado y la presencia de un corazón pálido y alargado.

— En la evolución del cursus morbi que puede apreciarse en los pollitos alimentados con *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* los síntomas más destacados son: diarrea, anomalías en la marcha, alteraciones en el plumaje y pérdida de apetito, como característica común a todas las cepas estudiadas.

Al demostrar experimentalmente la presencia real en los alimentos estudiados en excesivo número de cepas capaces de elaborar toxinas creemos que debemos dar un toque de atención a las autoridades sanitarias competentes con el fin de que se estudie este problema que como hemos intentado demostrar puede tener graves consecuencias sobre la salud humana y más teniendo en cuenta que estos productos van destinados a niños de corta edad y que las madres los guardan en condiciones, en muchas ocasiones idóneas, para favorecer el desarrollo de los posibles propágulos fúngicos que en latencia puedan estar en el producto alimenticio.

* * *

COMENTARIO MEDICO

El problema de la contaminación de los alimentos se hace más evidente y más multifactorial de día en día, por lo que la doctrina y la vigilancia a efectos sanitarios tiene que interesarnos sobremanera.

De un lado, indigna el fraude y de otra parte, angustian los riesgos de una manipulación substancialmente higiénica.

Recordemos, una vez más, el estupor y el miedo que causaron las famosas «monas de Pascua» de Manresa (Semana Santa de 1976).

Pero si el riesgo dimana de la dietética infantil, la repulsa ciudadana y el dolor de unos padres, puede llegar a extremos apoteóticos, intuyendo o ignorando el origen de la factible intoxicación y siendo fácil o difícil la prevención del mal.

No olvidemos que, a menudo, se habla de Código Alimentario y de su viabilidad o inoperancia, quizá mejor validez parcial a cualquier respecto.

De las contaminaciones posibles, como en las aguas de bebidas, acaso sorprendan menos hoy las microbiológicas que las químicas. Y es que se piensa antes en la mala calidad del alimento o en los aditivos que en la existencia de un germen vivo patógeno.

No obstante, los hongos están en la orden del día en bastantes procesos septicémicos. Y las micotoxinas resultan nocivas.

Desde una cátedra universitaria y

desde esta Academia queremos llamar la atención sobre los hallazgos de hongos patógenos en alimentos destinados a niños, más bien inadvertidos en un negligir cotidiano, que incapaces de ser eliminados o «neutralizados» de observar —en las preparaciones industriales o artesanas— las reglas higiénicas de obligado cumplimiento o teóricamente precisas.

La patología yatrógena compete a la Academia y la epidemiología regional derivada de la misma igualmente.

Que se oiga, pues, la advertencia, secuela de un trabajo de experimentación en laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. ADYE: *Biochim. Biophys.* Acta, 86, 418, 1964.
2. ALLCROFT, R.: *Aflatoxin*: 237. Academic Press, 1969.
3. ALPERDEN, I. et al.: *Fleischwirtschaft*, 53, 707, 1973.
4. ALPERT, M. E. et al.: *Lancet*, 1, 1265, 1968.
5. AMBRORE, A. M. et al.: *J. Pharmac. exp. Fher.*, 88, 173, 1946.
6. ARMBRECHT, B. H.: *Residue Rev.*, 41, 15, 1971.
7. AUSTWITZ, P. K. et al.: *Chemy. Ind.*, 55-61, 1963.
8. BACON, C. W. et al.: *Appl. Microbiol.*, 26, 155, 1973.
9. BOURGEOIS, C.: *Lab. Invest.*, 25, 206, 1971.
10. BOURGEOIS, L.: *Am. J. Clin. Pathol.*, 56, 558, 1971.
11. BOYLAND, E.: *Progr. Exp. Tumor Res.*, 11, 222, 1969.
12. BRIAN, F. M. et al.: *Nature Lon.*, 178, 263, 1956.
13. BROOK, P. J. et al.: *Ann. Rev. Phytopathol.*, 4, 171, 1966.
14. BROOM, W. A. et al.: *Br. J. exp. Path.*, 25, 195, 1944.
15. BROWN, J. P.: *J. Chem. Soc.*, 859, 1949.
16. BÜCHI, G. et al.: *Aflatoxin Academic Press*, 55, 1969.
17. BUCKLEY, H. G.: *Vet. J.*, 25, 194, 1971.
18. BULLERMAN, L. B.: *J. of Food Science*, 41, 26, 1976.
19. BULLERMAN, L. B. et al.: *Cer. Foods world*, 20, 248, 1975.
20. BULLERMAN, L. B. et al.: *J. of Food Sciences*, 39, 1166, 1974.
21. BURNSIDE, J. E.: *Az. J. vet. res.*, 18, 817, 1957.
22. CALVO, M. A. et al.: *I Sym. Com. Cent. Lagasca*, Sevilla, 1976.
23. CAMPBELL, T. C.: *Nature*, 227, 403, 1970.
24. CAMPBELL, T. C. et al.: *Mycotoxins in Human Health*, 270, 1971.
25. CAMPBELL, T. C. et al.: *Ag. and Food Chemistry*, 22, 1006, 1974.
26. CARLTON, W. W.: *Toxic. appl. Pharm.*, 25, 457, 1973.
27. CARLTON, W. W. et al.: *Mas. Man. on Molds and Mycot*, 18, 1972.
28. CARLTON, W. W. et al.: *J. Am. vet. med. Ass.*, 163, 1295, 1973.
29. CHOUDHURY, H. et al.: *Poult. Sci.*, 50, 1637, 1971.
30. CHRISTENSEN, C. M.: *Rev. Envir. Contr.*, 2, 57, 1971.
31. CHU, F. S.: Critical. *Rev. Toxic*, 2, 499, 1974.
32. CHU, F. S.; CHANG, C. C.: *Jour. of the AOAC*, 54, 1032,1971.
33. CHU, F. S.; CHANG, C. C.: *Life Sci.*, 503, 1972.
34. CIEGLER, A. et al.: *Naturuwissenschafter*, 59, 365, 1972.
35. CIEGLER, A. et al.: *Fungal Toxins*, 562, 1971.
36. CIEGLER, A. et al.: *Appl. Microbiol.*, 24, 114, 1973.
37. CIEGLER, A. et al.: *J. Chromat.*, 51, 511, 1970.

38. CIEGLER, A. et al.: *Appl. Microbiol.*, 10, 1968.
39. CIEGLER, A. et al.: *Appl. Microbiol.* 20, 1970.
40. CLIFFORD, J. I. et al.: *Nature*, 209, 312, 1966.
41. DAMODARAN, C. et al.: *Curr. Sci.*, 40, 373, 1971.
42. DETROY, R. W. et al.: *Fungal toxins*, 536, 1971.
43. DETROY, R. W. et al.: *Can. J. Biochem.*, 48, 830, 1970.
44. DICKENS, F. et al.: *Br. J. Cancer*, 15, 85, 1961.
45. DIENER, U. L. et al.: *Aflatoxin*, 13, 1969.
46. DONKERSLOOT, J. A. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 20, 5020, 1968.
47. DOSTER, R. C. et al.: *Fd. Cosmet. Tox.*, 10, 85, 1972.
48. DOSTER, R. C. et al.: *Food. Cosmet. Toxicol.*, 10. 85.
49. DOUPNIK, B. et al.: *Appl. Microbiol.*, 19, 594, 1970.
50. DUTTON, M. F. et al.: *Biochem. J.*, 22, 1967.
51. EDDS, G. T.: *J. Am. vet. med. Ass.*, 162, 304, 1973.
52. ENOMOTO, M. et al.: *Ann. Rev. Microbiol.*, 26, 279, 1972.
53. ESCCHER, F. E. et al.: *Appl. Microbiol.*, 28, 27, 1973.
54. ESCUOLA, L.: *Ann. Rech. vétér.*, 6 (3), 303, 1975.
55. FEUELL, A. J.: *Can. Med. Ass. J.*, 94, 574, 1966.
56. FORGACS, J. et al.: *Vet. Med.*, 50, 172, 1955.
57. GRANT, D. W. et al.: *Bull. envir. Contam. Toxic.*, 6, 521, 1971.
58. HARWING, J.: *Mycotoxins*, 345.
59. HARWING, J. et al.: *Can. J. Plant. Sci.*, 54, 17, 1974.
60. HAYES, A. W. et al.: *Teratology*, 9, 93, 1974.
61. HEATHCOTE, J. G. et al.: *Tetrahedron*, 25, 1497, 1969.
62. HESSELTINE, C. W. et al.: *Mycologia*, 64, 539, 1972.
63. HESSELTINE, C. W.: *Mycopatholoia et Mycologia applicata*, 53, 141, 1974.
64. HISCOCKS, E. S.: *Mycotoxins in Foodstuffs*, 15, 1965.
65. HOLZAPFEL, C. W. et al.: *Tetrahedron Lett.*, 2799, 1966.
66. ILLA, M.: *Comunicación Personal*, 1976.
67. JONES, B. D.: *Trop. Products Re.*, 70, 1972.
68. KRAMER, C. L. et al.: *Trans Kan. Acad.*, 62 (3), 184, 1959.
69. KROGH, P. et al.: *Appl. Chem.*, 35, 275, 1973.
70. LILLEHOJ, E. B. et al.: *Mycopth. Mycol Appl.*, 35, 373, 1968.
71. LUCAS, F. V. et al.: *J. Trop. Med. Hyg.*, 74, 182, 1970.
72. MARUMO, S.: *Bull. Agr. Chem. Soc. Jap.*, 23, 248, 1959.
73. MIROCHA, C. J. et al.: *An. Review Phyt.*, 12, 303, 1974.
74. MISLEVEC, P. B. et al.: *Appl. Micro.*, 29, 522, 1975.
75. MOREAU, C.: *Moisoisires toxiques dans l'alimentation*, 1974.
76. MUNRO, I. C.: *J. Am. vet. med. Ass.*, 163, 1269, 1973.
77. NEWBERNE, P. M.: *Env. Health Pers.*, 9, 1, 1974.
78. NOTORI, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, 18, 2259, 1970.
79. OETTLE, A. G.: *Cancer Inst.*, 33, 383, 1964.
80. PECKHAM, J. C. et al.: *Appl. Micro.*, 21, 219, 1973.
81. PONG, R. S. et al.: *J. Nat. Cancer Indst.*, 47, 585, 1971.
82. PURCHASE, I. F. H.: *Mycotoxins in Human Health*, 1971.
83. PURCHASE, I. F. H. et al.: *J. Anoc. Offic. Anal. Chem.*, 56, 225, 1973.
84. PURCHASE, I. F. H. et al.: *Food Cosmet. Toxicol.*, 10, 383, 1972.
85. PURCHASE, I. F. H.: *S. Afr. Med. J.*, 41, 406, 1967.
86. ROBINSON, P.: *Clin. Pediatr.*, 6, 57, 1967.
87. RONS, W. A. et al.: *Aflatoxins*, 77, 1969.
88. SAITS, M. et al.: *Microbiol. Toxins*, 299, 1971.
89. SCOTT, P. M. et al.: *Can. J. Plant. Sci.*, 50, 583, 1970.
90. SCOTT, P. M. et al.: *Agr. Fd. Chem.*, 20, 1103, 1972.
91. SHANK, R. C. et al.: *Food. Cosmet. Toxicol.*, 10, 61, 1972.

92. SIPPEL, W. L. et al.: 90 *th. An. Meeting AUMA*, 381, 1971.
93. SNOW, J. P. et al.: *Appl. Micro.*, 24, 34, 1972.
94. STOLOFF, L.: *Clin. Toxic.*, 5, 465, 1972.
95. STOLOFF, K. et al.: *Datos no publicados*, 1973
96. SZCZECH, G. M.: *Vet. Pathol.*, 10, 347, 1973.
97. SZCZECH, G. M. et al.: *Vet. Pathol.*, 10, 135, 1973.
98. THOMAS, F. et al.: *Jour. of the AOAC*, 58, 114, 1975.
99. UENO, Y.: *Mycotoxins in Human Health.*, 115, 1971.
100. UENO, Y. et al.: *Jap. J. Exp. Med.*, 42, 91, 1972.
101. UENO, Y. et al.: *Jap. J. Exp. Med.*, 38, 47, 1968.
102. UENO, Y. et al.: *Jap. J. Exp. Med.*, 41, 177, 1971.
103. URAGUCHI, K. et al.: *Food. Cosmet. Toxicol.*, 10, 193, 1972.
104. VEDANAYADAM, H. S. et al.: *J. Exp. Biol.*, 9, 410, 1971.
105. WALBEEK, W.: *Toxic. Appl. Pharm.*, 20, 493, 1971.
106. WALBEEK, W. et al.: *Can. J. Microbiol.*, 15, 1281, 1969.
107. WALTING, A. F.: *J. Ass. of analyt. Chem.*, 54, 533, 1971.
108. WESSEL, J. R. et al.: *J. Am. vet. med. Ass.*, 163, 1284, 1973.
109. WILSON, B. J. et al.: *J. Bacteriol.*, 84, 283, 1962.
110. WILSON, B. J. et al.: *Appl. Microbiol.*, 26, 124, 1973.
111. WOGAN, G. N.: *Methods in Cancer Research*, 309, 1973.
112. WOGAN, G. N.: *Food Borne Infection and Intoxications*, 395, 1969.
113. WOGAN, G. N.: *Fed. Proc.*, 27, 932, 1968.
114. WOGAN, G. N. et al.: *Cancer. Res.*, 31, 1936, 1971.
115. YAMAMOTO, T. J.: *Pharm. soc. Jap.*, 74, 797, 1954.
116. ZYTUELD, W. A. et al.: *Poult. Sci.*, 491, 1350, 1970.