

Revisión de Tema

Importancia y Efectos de la Aflatoxina en los Seres Humanos

Oscar Mauricio Santos Chona ¹

RESUMEN

Las Aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos por algunas de las especies de *Aspergillus* que crecen en productos alimenticios, y que por su consumo pueden afectar el metabolismo de casi todos los seres vivos, incluyendo los humanos y los animales. Las aflatoxinas son consideradas como el carcinógeno más potente producido en la naturaleza. Estos tóxicos son considerados mutagénicos, teratogénicos y hepatotóxicos para muchas especies vivas incluyendo los humanos, por lo cual debemos ser protegidos al máximo de su consumo o contacto con estas micotoxinas. La producción de aflatoxinas es considerada casi inevitable por encontrarse estos mohos esparcidos en todo el mundo y encontrar fácilmente las condiciones ideales para su producción, especialmente en países tropicales y subtropicales. Sin embargo, todos los esfuerzos deben ir encaminados a controlar la producción de estos tóxicos y la prevención debe ser la herramienta más importante. Este artículo presenta algunos de los aspectos más importantes relacionados con las aflatoxinas como su síntesis, efectos en la salud y la economía, así como los métodos de detección y control de la producción de la toxina. Finalmente, el artículo busca despertar el interés no solo del personal médico y paramédico sino de las entidades encargadas de manejar la salud pública ante el peligro potencial de estos tóxicos y comenzar a sospechar de estas micotoxinas como posibles agentes predisponentes para una amplia gama de enfermedades.

Palabras clave:

Aflatoxinas, Aflatoxicosis, *Aspergillus*, Carcinógeno, Micotoxinas.

¹ Microbiólogo en Alimentos, Docente Area Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Bucaramanga
Correspondencia: Campus el Bosque Calle 157 No. 19-55 (Cañaveral Parque). Teléfono: 6399152 – 6399149; Fax: 6399147

INTRODUCCIÓN

Aun hoy en día se sigue considerando la presencia de mohos en los alimentos como un problema de apariencia o una molestia pasajera sin detenernos a pensar las consecuencias que pueden acarrear la presencia de ellos en los productos. Existen más de 200 tipos de mohos toxigénicos que bajo condiciones especiales son capaces de producir toxinas y que se conocen como micotoxinas¹. La toxinas que más se han estudiado han sido las aflatoxinas; sin embargo, no podemos olvidar otras toxinas como la Ochratoxina A (*Asp. ochraceus*) o la citreoviridina (*Penicillium spp*) que pueden producir efectos nefro o neurotóxicos. Las aflatoxinas son toxinas naturales producidas por mohos y consideradas como parte de sus productos metabólicos. Estas son producidas por cepas toxigénicas del género *Aspergillus*. Su toxicidad ha causado daños severos en la salud y en la economía alrededor del todo el globo. Las aflatoxinas son consideradas como el carcinógeno más potente producido en la naturaleza²⁻⁴.

La presencia de aflatoxinas se ha registrado indirectamente en muchos artículos desde el siglo pasado, donde se describían los mismos síntomas, especialmente en animales intoxicados, y se veía la relación con consumo de alimentos en cierto estado de descomposición, pero no se conocía la causa exacta del problema. El estudio documentado de las aflatoxinas y la enfermedad causada por estas comienza en los sesenta cuando se reportó de una epidemia (llamada "X") de pavos y otros animales de corral, matando más de 100.000 animales^{4,5}. La causa de la muerte fue la presencia de maní brasileño altamente contaminado con aflatoxinas.

Las especies de *Aspergillus* se encuentran en cualquier parte del mundo, pudiendo crecer en una gran variedad de condiciones ambientales y sobre una gran cantidad de alimentos. Por eso, la mayoría de productos pueden ser susceptibles de contaminación. La presencia de *Aspergillus* no necesariamente implica presencia de aflatoxinas pues hay cepas no toxigénicas; sin embargo, lo que es más interesante, la ausencia de *Aspergillus* en el alimento no necesariamente implica que el alimento no tenga aflatoxinas, debido a que la toxina puede persistir aún después que el moho ha desaparecido, e incluso después de la cocción del alimento.

Aspergillus spp requiere ciertas condiciones especiales para su crecimiento y la producción de aflatoxinas. El moho puede crecer desde 4°C hasta 45°C, mientras que la toxina puede ser producida desde 11°C hasta 35°C, con una temperatura óptima de 22°C y una humedad relativa del 80-90%⁶. La cepa más relacionada con la producción de aflatoxina es el *A. flavus*, de ahí el nombre

de aflatoxina; siguiendo en importancia el *A. parasiticus*. Sin embargo, *A. nomius* ha sido descrito junto con otras especies como productor de toxinas potentes con capacidad insecticida y quimio-esterilizante contra una gran cantidad de insectos y se sospecha aunque no se ha probado su efecto en animales o humanos⁷. Los *Aspergillus* se caracterizan por no producir conidioforos septados. Pueden producir cierto tipo de conidias llamadas esclerotias que tiene función de spora, dándole resistencia en la adversidad de climas como desecación o congelamiento, o bajo condiciones de carencia de nutrientes⁸.

Aunque los *Aspergillus* crecen saprofiticamente, los productos alimenticios pueden servir como sustrato, favoreciendo la presencia de estos mohos. Factores como la capacidad toxigénica del hongo, la temperatura, el tiempo, el pH, la humedad, la actividad del agua (Aw), la luz, la atmósfera de almacenamiento y factores de tipo químico como la presencia de minerales o carbohidratos, o la presencia de sustancias inhibitorias como la lactosa, pueden ayudar a crecer e incluso a producir aflatoxinas. Las condiciones para el crecimiento y desarrollo de aflatoxinas no pueden ser mejores en los países tropicales, donde las temperaturas altas (20-35°C) y el ambiente húmedo (85% de humedad relativa) dan las condiciones ideales para infectar casi cualquier producto del agro, especialmente maíz, algodón, arroz y maní^{9,10}.

SÍNTESIS DE LAS AFLATOXINAS

Las aflatoxinas se consideran como productos metabólicos secundarios, es decir que no tienen una función directa en el metabolismo vital fisiológico del moho sino parecen ser un factor de defensa para un medio hostil.

Químicamente pertenecen al grupo de derivados de las bisfurano-isocumarinas. Se presume que su síntesis se relaciona con la condensación de un Acetil CoA que reacciona con tres o más grupos malonatos produciendo malonil CoA, que junto con más Acetil CoA van a formar un compuesto policetónico, luego sufriendo ciclización y aromatización para formar antrona y su compuesto oxidado que es el ácido norsolínico; después de otra serie de reacciones puede dar formación a las aflatoxinas¹¹. Aunque han sido identificados al menos 20 tipos diferentes de aflatoxinas, las más comunes son la B1, B2, G1 y G2, M1 y M2, siendo las cuatro primeras las más relacionadas con los efectos tóxicos (Fig 1). Las aflatoxinas B y G emiten luz ultravioleta de onda larga, excitándose a 225-365 nm y emitiendo a 425-450 nm, con la cual pueden ser observadas con una lámpara fluorescente, produciendo luz azul o verde, de donde toman el nombre de B (blue) y G (green) según el caso.

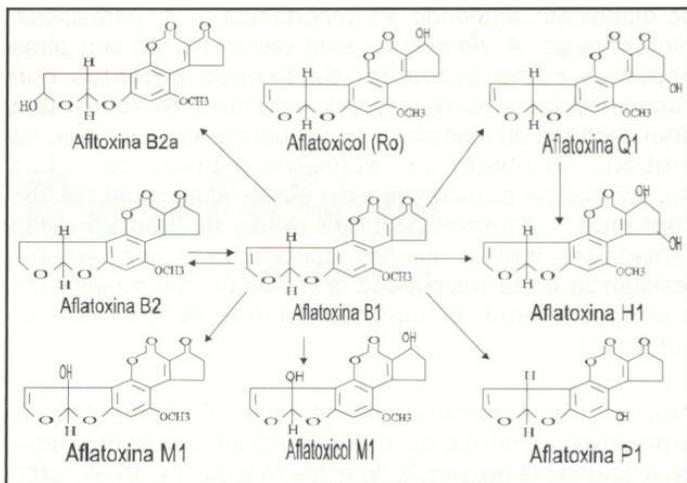


Figura 1. Aflatoxina B1 y algunos derivados

EFFECTOS DE LAS AFLATOXINAS

Las aflatoxinas producidas por cepas de *A. flavus* y *A. parasiticus* son contaminantes de muchos productos, no solo en países tropicales sino en todo el mundo. Estas toxinas afectan a los humanos tanto por sus efectos toxicológicos como económicos. En esta sección discutiremos algunos de estos efectos.

Las aflatoxinas pueden tener un efecto muy serio en la salud de los organismos vivos. No se sabe exactamente cual es el nivel tóxico de aflatoxina para consumo humano, especialmente la tipo B₁. En personas intoxicadas se han visto rangos desde 100 ppm hasta 20.000 ppm^{12,13}. Estos valores son diferentes para cada especie, existiendo especies más sensibles al tóxico que otras. Aunque no todos los estudios en animales confirman su efecto cancerígeno o tóxico al ser expuestos a la toxina, existe suficientes pruebas para considerar seriamente las aflatoxinas como un riesgo potencial para la salud de los seres vivos. El riesgo para los humanos de ser afectado por estas toxinas puede ser a través del consumo de productos vegetales contaminados o de bio-productos como huevos, hígado y leche. La severidad de la acción de la toxina puede causar efectos en la actividad relativa de las vías de biotransformación y reparación del ADN, produciendo efectos principalmente carcinogénicos y mutagénicos, y también alterando varios factores nutricionales, incluyendo cambios en la grasa, proteínas, vitaminas y minerales esenciales o en procesos energéticos^{1,12}. El principal abductor de AFB₁ con el ADN son identificados como 8,9- dihidro-8-(N⁷ guanil)-9-hidroxaflatoxina B1 (AFB₁-N⁷-Gua) y AFB₁ formamidopirimidina (AFB₁-FAP). Este último corresponde a un análogo de anillo abierto del AFB₁-N⁷-Gua^{3,14}.

El curso de la patología depende de muchos factores tales como la dosis, la toxicidad del compuesto (ej. AFB₁, AFG₁),

los factores intrínsecos del hospedero tales como edad, sexo, estado endocrino, factores de nutrición y períodos de exposición a la toxina¹⁵. Un ejemplo del contraste que se puede observar en estudios de susceptibilidad a la toxina es el tipo de animal estudiado. Los humanos y las ratas son muy sensibles a AFB₁, en contraste con los ratones, los cuales pueden ser relativamente insensibles o necesitan dosis mucho más altas.

Aunque la ruta más conocida de exposición de aflatoxinas para humanos y animales es a través de la dieta, existe evidencia que las aflatoxinas pueden entrar por vía respiratoria, siendo inhaladas como partículas de polvo y provocando casos agudos y crónicos de intoxicación por esta toxina^{16,17}. Incluso se sospecha de la adquisición de la toxina en drogadictos que usan algunas sustancias contaminadas para "hacer rendir las muestras de heroína" y que al mezclarlas con la droga transfiere este xenobiótico al consumidor, encontrándoseles aflatoxinas en la orina¹⁷.

Para facilitar el entendimiento del efecto del tóxico en los seres vivos, los efectos en la salud se clasifican como exposiciones agudas y crónicas dependiendo del tiempo de exposición a la toxina.

Exposición Aguda

La exposición aguda está más relacionada con el consumo de altos niveles de aflatoxinas sobre períodos relativamente cortos (días). La información en humanos es limitada aunque se ha visto evidencia sustancial de exposición, observándose intoxicaciones masivas de humanos en varios países del mundo como India y Kenia, con altas concentraciones de aflatoxinas tanto en orina como en sangre^{12,18}. En la India se dice que al menos 400 personas fueron afectadas por el consumo de maíz infectado, matando a 104 personas; en Kenia 12 personas también murieron por consumo elevado de la toxina^{5,13}. En otro reporte en el sureste de Asia, se habla de una epidemia de 19 casos de pacientes que después de consumir arroz con pastas, se volvieron ictericos y enfermaron en cuestión de horas, 17 de ellos presentando sintomatología de hepatitis; en total, 14 murieron por falla hepática y 7 presentaron falla renal¹⁷. De 10 biopsias hepáticas, todas fueron encontradas con aflatoxinas en altas concentraciones, lo mismo que en 21 de las 38 muestras de otros órganos. El efecto de la toxina ha sido mejor reportada en animales tales como aves de corral, truchas, ratones y conejos, que sufrieron de aflatoxicosis aguda clínica después del consumo de productos contaminados^{19,20}.

No se conoce exactamente el mecanismo del efecto tóxico de la aflatoxina. Algunos de los signos que se han visto en varias especies animales, especialmente en mamíferos y aves, son hipolipidemia, hipocolesterolemia e hipocarotenemia, asociada con esteatosis hepática y

pérdida de peso. Se piensa que se deba a un balance en el metabolismo de lípidos por modificación bioquímica en los residuos en la proteína B-100 de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) por actividad de la molécula AFB₁ (Tattini, Univ. Of Minnesota comunicación personal).

En la intoxicación con aflatoxinas se observa lesión hepática como coagulopatías, aumento de la fragilidad capilar, hemorragia y tiempos prolongados de coagulación y membranas ictericas. La muerte del huésped puede suceder de horas hasta pocos días.

Se ha visto una relación muy cercana entre la prevalencia de desnutrición tipo kwashiorkor y la exposición a una dieta con aflatoxinas tanto en animales como en humanos, diferente a otros procesos como el marasmo^{17,18}. En estos estudios se ha visto una importante presencia de la toxina en los pacientes con kwashiorkor pero casi nunca en pacientes con marasmo. Además esta relación explica un fenómeno que se ha visto de kwashiorkor en bebés amamantados con leche materna, donde el bebé presenta más desnutrición cuando más es amamantado. Este reporte también describe cómo las aflatoxinas pueden afectar a los recién nacidos en los países tropicales, causándoles bajo peso, ictericia y poca viabilidad. En estos casos sería recomendable hacer un control prenatal a la madre grávida para ver como el bebé fue afectado por esta toxina.

Exposición Crónica

La exposición crónica es más común que la exposición aguda; sin embargo, en cierta forma es más difícil de identificar. Los animales y, muy seguramente, el hombre está expuesto al consumo de cierta cantidad de toxina durante toda su vida o por largos períodos de tiempo. Hay una gran cantidad de evidencia indicando que la exposición crónica a la toxina induce a la producción de células cancerígenas, convirtiéndolo en un problema de salud pública, especialmente cuando se asegura que del 20 al 50% de todos los cánceres están relacionados con factores de la dieta^{3,14}. Esta toxina junto al virus de la hepatitis B son considerados como los factores de riesgo de cáncer hepatocelular en China y Africa del Norte, estimándose en 250.000 muertes anualmente¹².

En la exposición crónica el efecto más drástico se ve en el ADN. Su efecto se puede subdividir en carcinogénico, mutagénico y teratogénico. Bioquímicamente, se considera que las aflatoxinas, en especial la AFB₁, pueden pasar en el hígado por dos fases. La fase I por acción del complejo citocromo p-450 monooxigenasas que produce en el organismo una variedad de derivados reducidos y oxidados que supuestamente no presentan actividad carcinogénica, como los productos AFQ1 y AFM1. Pero también puede producir productos como la aflatoxina AFB₁,8,9 epóxido (AFBO), que es un producto inestable y que forma aducciones con el ADN, el cual puede llevar a

mutaciones en proto-oncogen y genes supresores de tumores³. El compuesto AFBO puede llegar a conjugarse con proteínas o sufrir hidroxilación o conjugarse con el glutatión (GSH) en el hígado y ser excretado en la orina o en las heces como ácido mercaptúrico, (Fig 2) combinándose con proteínas a los diferentes tejidos y provocando las diferentes clases de intoxicaciones.

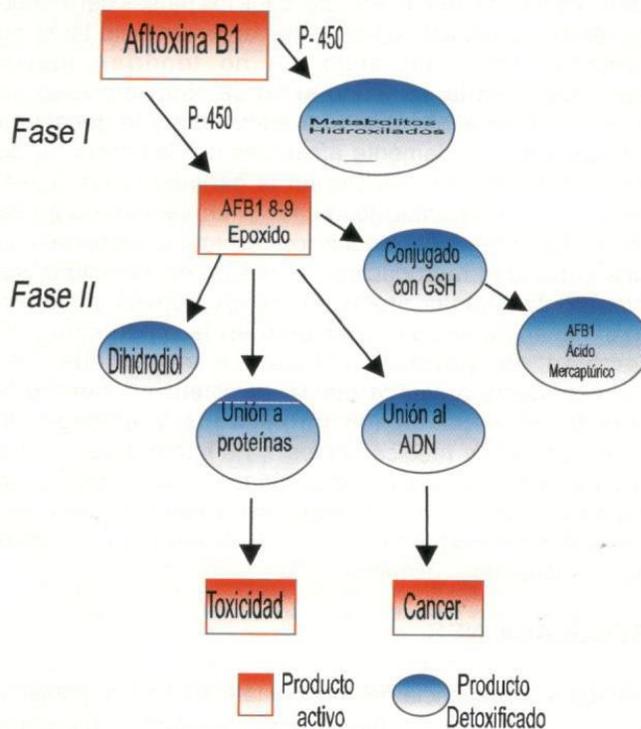


Figura 2. Biotransformación de Aflatoxinas

Además de los efectos carcinogénicos, la aflatoxinas y sus metabolitos pueden afectar cualquier órgano. Sin embargo el órgano blanco principal es el hígado, produciendo hígado graso y pálido, necrosis moderada y extensiva, hemorragia y otras patologías como alargamiento de la vesícula, daño en el sistema inmune, nervioso o reproductivo^{15,21,22}. También se ha considerado que tiene efectos en algunas de las formas crónicas de malnutrición en niños en proceso de crecimiento. Algunos estudios asocian estas micotoxinas con la infiltración grasa en el cerebro producida en el síndrome de Reye; sin embargo hay otros estudios que muestran discrepancia^{15,20}.

En Colombia no tenemos mucha información sobre la presencia de aflatoxinas, sin embargo, los pocos estudios han probado que el problema existe potencialmente. En una tesis de la Universidad de Antioquia se encontró que de 50 muestras de maíz, 26 de los especímenes estaban contaminados con *A. flavus* toxigénico²³. La entidad que controla la incidencia de la toxina en alimentos y animales oficialmente es el ICA. Sin embargo ellos no son los responsables de los reportes estadísticos de la incidencia

o prevalencia de este tóxico en humanos. La entidad encargada de este reporte es el Ministerio de Salud, el cual tampoco tiene un registro detallado de casos de aflatoxicosis.

REPERCUSIONES ECONÓMICAS

Como es de suponerse, en casi todos los países del mundo los efectos toxicológicos descritos anteriormente tanto en humanos como en animales no tendrían mayor repercusión en la sociedad si no se viera afectado un factor clave: el económico. La agricultura y la ganadería son dos áreas seriamente afectadas por la presencia de las aflatoxinas. Por ejemplo en la ganadería, un animal enfermo es un animal desnutrido, normalmente bajo de peso y talla, con baja producción lechera, inapetente, con baja capacidad reproductora; lo mismo en avicultura, las aves contaminadas producen menos huevos o huevos contaminados, lo que repercute en la producción^{20,24}. También la pérdida económica se puede ver indirectamente afectada por la inasistencia laboral o la baja producción de los intoxicados y el pago de hospitalización y medicamentos. Es interesante que las pruebas para cuantificar aflatoxinas en Colombia no se hacen de rutina para los humanos, mientras que estas pruebas se consiguen con cierta facilidad para el control de los alimentos animales.

REGULACIONES

Debido a la presencia del moho y la toxina en el ambiente se consideran un problema casi inevitable. Diferentes entidades han tratado de regular la máxima cantidad de aflatoxina permitida en los alimentos, donde cada país ha regulado su propia normatización. Así, mientras en los Estados Unidos es de máximo 15-20 ug/Kg (o también ppm) en la mayoría de productos y de 0.5 ug/Kg en leche, la comunidad europea considera que debe ser máximo de 5 ug/Kg y 0.05 ug/Kg respectivamente. La mayoría de países latinoamericanos no tienen regulaciones o son muy laxos en la aplicación de estos reglamentos. Colombia acepta hasta 50 ppm^{7,25,26}.

DETECCIÓN DE AFLATOXINAS

En el laboratorio existen dos grandes procedimientos principales para el estudio de las muestras tanto de alimentos como de los hospederos: métodos fisicoquímicos y biológicos (Moreno R, Coordinador de Zoonosis, ICA, comunicación personal). Los métodos físicos incluyen cromatografía de capa delgada (TLC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía capilar de gas (CGC). Otras técnicas usadas son la fluorimetría y la espectrofotometría. Existen métodos rápidos en minutos de detección donde se pueden encontrar partes por millón de aflatoxinas en las muestras por métodos inmunológicos, columnas cromatográficas o métodos mixtos²⁶. Hay que tener en

cuenta que si se evalúan las toxinas en productos alimenticios, se debe buscar las B y G principalmente, mientras que si se evalúan aflatoxinas en animales o humanos, la toxina que más comúnmente se selecciona es la M, que es un subproducto de biotransformación de la toxina B1, que se puede encontrar en leche, sangre y orina.

Los métodos biológicos se dividen en cultivo de tejidos, pruebas en animales, pruebas en microorganismos e inmunoensayos. En este documento no será discutido ninguno de los métodos mencionados anteriormente.

CONTROL

Incuestionablemente, la prevención del crecimiento del hongo y la toxina es la mejor arma para combatir la presencia de las micotoxinas, principalmente con el buen manejo de las condiciones de almacenamiento tales como humedad y temperatura²⁷. Hay que almacenar los granos o sustratos con muy baja humedad, sin contacto con el exterior, y ojalá en sitios donde se mantenga a temperatura baja. Otros aspectos que también influyen son el manejo apropiado de los productos agrícolas en la recolección y el transporte, el almacenamiento de material en buenas condiciones, control con fungicidas y otros más drásticos, como la irradiación.

Debido a la gran pérdida económica que puede sufrir el agro, en general una vez que el alimento está contaminado, se usan tres mecanismos que permiten su posterior reutilización: la reducción, la remoción y la degradación. El método más común es la reducción, en el cual productos contaminados son mezclados con productos "limpios" para reducir la concentración de la toxina. Esta técnica, que es utilizada también por países industrializados, implica un riesgo potencial para los consumidores, pero ayuda a evitar grandes pérdidas económicas y a cumplir con los parámetros de control exigidos. Los otros métodos buscan removerla o inactivarla por diferentes métodos físico-químicos que no serán nombrados en este artículo. Hoy se usan biomarcadores que buscan medir el riesgo de exposición de la población a estas micotoxinas, con aductores macromoleculares y metabolitos carcinógenos en orina y sangre periférica^{12,28}. También se están buscando agentes quimioprotectores que puedan reducir el poder genotóxico de AFBO por inhibición de la formación o por promoción de su detoxificación, en la fase I y fase II como se explicaba anteriormente. El uso de restricción de la toxina con alimentos donde se demuestra como sustancias específicas que pueden actuar sobre el GSH para inhibir químicamente la tumoregénesis en varios tejidos en animales de laboratorio²⁹. Un producto que ha sido estudiado como quimio-protector contra la toxina es el Oltipraz, que es un derivado sintético del 1,2-dithiol-2-thione², el cual es una droga antiqúisostomática, que se ha probado como un potente y efectivo inhibidor del

cancer inducido por aflatoxinas en modelos animales. Otro compuesto que se están utilizando son los diterpenos cafestol y kahweol³⁰, que son compuestos que se encuentran en granos de café y que se ha probado su poder como agente quimo protector contra aflatoxinas por al menos dos mecanismos diferentes.

La aflatoxina es un metabolito secundario no contagioso, producido naturalmente cuando algunas especies del moho *Aspergillus* encuentran las condiciones propicias para la producción de la toxina en alimentos tanto para humanos como para animales. Este moho se encuentra en cualquier lugar del mundo, sin embargo encuentra las mejores condiciones de crecimiento y producción de toxina en las zonas tropicales. El consumo de la toxina producida por este microorganismo puede afectar casi cualquier ser vivo, provocando daños metabólicos y citotóxicos. Se ha visto su efecto tóxico y su compromiso en procesos cancerígenos, teratogénicos y mutagénicos en muchos animales y se tiene serios indicios de su efecto en la salud humana. En este artículo se revisa los síntomas más importantes por exposición aguda y crónica. Existe la necesidad de estudiar a través de grupos de investigación y relacionar la influencia de la aflatoxicosis con muchos problemas locales como desnutrición o inmunosupresión que podría estar afectando la población. También tiene un factor muy importante en la economía pues puede afectar tanto la industria ganadera y la agrícola como a los trabajadores. Hay muchos investigadores buscando evitar los efectos tóxicos de este xenobiótico con resultados muy optimistas; sin embargo la mejor forma de hacerlo es a través de la prevención del moho y su toxina.

SUMMARY

Aflatoxins are non-contagious secondary fungal metabolites, which are produced naturally when some species of the mold *Aspergillus* find favorable conditions for the production of the toxin in food for both humans and animals. This mold can be found anywhere in the world; however, the best conditions for the growth and production of the toxin are given in the tropical zones. The consumption of the toxin produced by this microorganism can affect almost any living being, provoking metabolic and cytotoxic damage. The toxic effect and its role in carcinogenic, teratogenic and mutagenic processes have been seen in many animals and there are serious indications of its effect on human health. The most important acute and chronic symptoms are reviewed in this article. It is necessary to study this further in research groups and to relate the influence of aflatoxicosis with many local problems such as malnutrition or immunosuppression, which may be affecting the population. There is also an important economic factor because it can affect both the cattle and the agriculture industries as well as all kind of workers. There are many researchers looking for the way to prevent the toxic effects of this xenobiotic with very optimistic results; however, the best way to do so is through the prevention of the mold and its toxin.

Key words: Aflatoxins, Aflatoxicosis, *Aspergillus*, Carcinogenic, Mycotoxins.

REFERENCIAS

1. Valladares L. Introducción al tema de micotoxinas y micotoxicosis. *Bol Micolog* 1988; 4:1-26
2. Wang J, et al. Protective Alterations in Phase 1 and 2 Metabolism of Aflatoxins B₁ by Oltipraz in Residents of Quidong, People's Republic of China. *J Natl Cancer Inst* 1991; 4:347-53

3. Montesano R. Hepatocellular carcinoma: From gene to public health. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:1844-52.
4. Regueiro O, Garcia C, Grata E. Niveles de aflatoxina B en arroz, trigo y algunos de sus derivados. *Rev Cub Hig Epid* 1984; 92-7.
5. Occurrence of aflatoxin in peanut and corn products moving in international trade. In: Sampling plans for aflatoxins in peanuts. *FAO #55*. Rome, Italy, 1993: 1-63.
6. Santos O. Aflatoxins, an overview. Thesis, Food Science Department, University of Minnesota, 1995:1-32.
7. Aflatoxins in Corn: a new perspective. North Central Research Publication (Iowa State University) 1991; 329: 314-82.
8. Krogh P. Aflatoxins in Food. In: *Mycotoxins in food*. Academic Press, London, 1987: 65-96.
9. Ellis W, Smith J, Simpson B. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1991; 30:403-39.
10. Chelskowski J. Cereal grain mycotoxins, fungi and quality in drying and storage. Elsevier, Amsterdam 1991: 53-77.
11. Hsieh D, Lin M, Singh R. Biosynthesis of aflatoxin: Conversion of norsoloric acid and other hypothetical intermediates into aflatoxin B₁. *J Agric Food Chem* 1976; 24:1170-6.
12. Eaton D, Groopman J. Acute hepatotoxicity of aflatoxins. In: *The toxicology of Aflatoxins*, Academic Press, Baltimore, 1994:3-20.
13. Mehan V, McDonald D. The groundnut aflatoxin problem: Review and Literature Database. Patancheru, India: International Crops Research Institute for the Semi-arid Tropics 1991: 64-115.
14. Groopman J, Jiaqui, Z, Donahue P. Molecular dosimetry of urinary aflatoxin-DNA adducts in people living in Guangxi Autonomous Region, People's Republic of China. *Cancer Res* 1992; 52: 45-52.
15. Dvorackova I. Mycotoxins and human diseases. In: *Aflatoxins and Human Health*. CRC Press, Boca Raton, 1990: 21-35.
16. Selim M, Juchems A. Assessing airborne aflatoxin B₁ during on farm grain handling activities. *Am Industr Assoc J* 1998; 59: 252-6.
17. Hendrickse R. Of sick turkeys, kwashiorkor, malaria, perinatal mortality, heroin addicts and food poisoning: Research on the influence of aflatoxins on child health in the tropics. *Ann Trop Pediatr* 1999; 19:229-36.
18. Maxwell SH. Investigations into the presence of aflatoxins in human body fluids and tissues in relation to child health in the tropics. *Ann Trop Pediatr* 1988; 18:41-87.
19. Pruthi J. Mycotoxins in foods and feeds; their detection, estimation, preventive and curative measures. *Bull Grain Technol* 1992; 16:51-67.
20. Pier A. Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. *J Anim Sci* 1992; 70:3964-7.
21. Dvorackova I. Aflatoxin and Reye's Syndrome In: *Aflatoxins and Human Health*. CRC Press, Boca Raton, 1990:1-13.
22. Llewellyn G. Aflatoxin B₁ affects feed consumption in male rats through an action on the central nervous system. *Internat Biodeter* 1988; 24:417-25.
23. Shigematsu M, Osorio R, Restrepo A. Presencia de Aflatoxinas y de *Aspergillus flavus* toxigénico en maíz almacenado. *Antioquia Médica* 1976; 26:4289-99.
24. Park D, Liang B. Perspectives on aflatoxin control for human food and animal food. *Trends Food Sci Technol* 1992; 41:334-42.
25. Tsunoda H. Microorganisms which deteriorate the stored cereals and grains. In: *Proceedings of the First US-Japan Conference on Toxic Microorganisms*. Herzberg, Joint Panel on Toxic Microorganisms and the U.S. Department of the Interior, Washington, 1968:143.
26. Christensen C, Merenuck R. Manual of fungi in feeds, foods and cereal grains. Agricultural Extension Service; University of Minnesota, 1976: 3-4.
27. Christensen C, Merenuck R. Storage of cereal grains and their production. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul (MN) 1982: 219-52.
28. Groopman J, Kenster TH. The light at the end of the tunnel for chemical specific biomarkers: daylight or headlight?. *Carcinogenesis* 1982; 20:1-11.
29. Chou M, Wen Chen. Food restriction reduces aflatoxin B₁ (AFB₁)-DNA adduct formation, AFB₁-Glutathione conjugation, and DNA damage in AFB₁-treated male F344 rats and B6C3F₁ mice. *J Nutr* 1997; 127:210-7.
30. Cavin CH, Holzhauser D, Constable A. The coffee specific diterpenes cafestol and kahweol protect against aflatoxin B₁ induced genotoxicity through a dual mechanism. *Carcinogenesis* 1998:1369.