

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**COMISSÃO DE RESIDÊNCIA MULTIPROFISSIONAL**  
**CLÍNICA DE BOVINOS, CAMPUS GARANHUNS**  
**PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE**  
**MEDICINA VETERINÁRIA – SANIDADE DE RUMINANTES**

**ISABELA BARROS BURITI**

**AFLATOXINAS B1 E M1: UMA AMEAÇA PARA A SAÚDE ÚNICA**

**GARANHUNS – PE**

**2024**

**ISABELA BARROS BURITI**

**AFLATOXINAS B1 E M1: UMA AMEAÇA PARA A SAÚDE ÚNICA**

Monografia apresentada ao Programa de  
residência em Área profissional de saúde em  
Medicina Veterinária – Sanidade de Ruminantes,  
realizado na Clínica de Bovinos de Garanhuns,  
Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Orientador: Dr. Nivan Antônio Alves da Silva

**GARANHUNS – PE**

**2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Bibliotecário(a): Ana Catarina Macêdo – CRB-4 1781

B945a Buriti, Isabela Barros.  
Aflatoxinas B1 E M1: uma ameaça para a saúde  
única / Isabela Barros Buriti. – Garanhuns, 2024.  
49 f.; il.

Orientador(a): Nivan Antônio Alves da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Residência) –  
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco,  
Clínica de Bovinos de Garanhuns - CLINICA-UAG -  
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco,  
Programa de Residência em Área Profissional de  
Saúde - Sanidade de Ruminantes, Garanhuns, BR-  
PE, 2024.

Inclui referências.

1. Aflatoxicose. 2. *Aspergillus*. 3. Carcinoma  
hepatocelular. 4. Micotoxinas 5. Toxicologia. I. Silva,  
Nivan Antônio Alves da, orient. II. Título

CDD 636.2

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**COMISSÃO DE RESIDÊNCIA MULTIPROFISSIONAL**  
**CLÍNICA DE BOVINOS, CAMPUS GARANHUNS**  
**PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE**  
**MEDICINA VETERINÁRIA – SANIDADE DE RUMINANTES**

**AFLATOXINAS B1 E M1: UMA AMEAÇA PARA A SAÚDE ÚNICA**

Monografia elaborada por  
**ISABELA BARROS BURITI**

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Méd. Vet. Dr. Nivan Antônio Alves da Silva  
Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE

---

Méd. Vet. Dr. Luiz Teles Coutinho  
Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE

---

Méd. Vet. Dr. Rodolfo José Cavalcante Souto  
Clínica de Bovinos de Garanhuns - UFRPE

Dedico este trabalho a Deus e aos meus pais.

## AGRADECIMENTOS

Gratidão à Deus que deu forças para acordar todos os dias e me manter firme no objetivo da realização e conclusão da residência, que foi um grande sonho. Afinal, Ele sabia que o trabalho manteria esta serva de pé.

Às minhas queridas, mãe Nega e avó Izabel (*in memorian*) que sempre me incentivaram a estudar e trabalhar, sendo minhas grandes fontes de inspiração de mulheres fortes, esforçadas, determinadas, trabalhadeiras e que amavam viver, por isso sempre realizaram suas tarefas com um sorriso no rosto.

Ao meu pai, que eu tanto amo e que tanto me ensinou, obrigada por me acolher e confiar. É muito bom saber que sempre posso voltar para abraçar o meu veinho. Gostaria de agradecer aos meus tios, tias e madrinhas por todo apoio, incentivo e colo. A Fernando pela história que vivemos e por tudo que aprendemos juntos.

Agradeço a querida Professora Taciana Ramalho por ter sempre me incentivado a trabalhar com ruminantes, por todo conhecimento repassado durante a graduação, por ser um exemplo de profissional e buiatra, mas também por sua insistência em me pedir para realizar a inscrição na residência, sem suas ligações eu não teria realizado este sonho. Também ao Professor Luiz, que sempre está disposto a ensinar e dar oportunidades a seus alunos e ex-alunos.

Aos meus R2s por todo conhecimento repassado, à querida e estimada Ana Beatriz por todas as oportunidades dadas, pelas risadas e por irradiar luz, à Thailan Arlindo por toda paciência, compreensão e ciência, à Kaique Myke pelos ensinamentos técnicos, pelos momentos de descontração e por sempre me ajudar. À Clara Rafaelle, por todas as discussões técnicas ou não, tenho certeza que aprendemos um pouco com cada uma delas e pelos momentos de cumplicidade que fizeram com que a gente conseguisse trabalhar em equipe.

Aos meus R iguais, Amanda Estefanir, José Alexandre e Wellington Souza que foram presentes de Deus na minha vida. Cada um com suas características únicas, fez com que a nossa parceria desse certo, sempre com muita paciência, compreensão, cumplicidade e respeito. Obrigada por não soltarem a minha mão, mesmo em meio ao caos, me faltam palavras para expressar o tamanho da minha gratidão. Mas amo vocês! E obrigada!

Aos meus queridos R1s, Karine Rocha, Joyce Caroline e José Antônio, obrigada por toda compreensão, parceria, confiança, cumplicidade, troca de conhecimentos e momentos de descontração. Vocês me incentivaram a querer ser uma pessoa e médica veterinária melhor a cada dia. E desculpem o jeito mandona, foi necessário! Em especial à Karine Rocha, pela amizade e conexão que construímos.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco por meio do Programa de Residência Multiprofissional em Saúde realizado na Clínica de Bovinos de Garanhuns, pela realização deste sonho que foi a especialização em Sanidade de Ruminantes, nos permitindo conviver e

aprender todos os dias algo novo com pessoas que tanto admiramos. E possibilitando uma experiência profissional e pessoal única, com muito aprendizado.

A todo corpo técnico da Clínica de Bovinos de Garanhuns, Dr. Nivaldo, Dra. Carla, Dr. José Augusto, Dr. Jobson, Dr. Teles, Dr. Rodolfo e Dra. Isabel por todos os ensinamentos técnicos e de vida, bem como por cada oportunidade dada e confiança demonstrada. Sou imensamente grata! A Dr. Nivan, por me orientar, mas também por toda paciência, incentivo, conselhos, apoio e compreensão durante a realização deste trabalho.

Aos pós-graduandos, Ângela, Udhanyson e Gliere por todas as trocas de conhecimentos e por sempre estarem dispostos a contribuir. Em especial, a Iraci, que além de contribuir positivamente com seus ensinamentos ultrassonográficos, se tornou uma grande amiga, sempre disposta a ouvir, trocar experiências e conselhos.

Aos estagiários que por aqui passaram e trocaram ensinamentos, por toda ajuda e compreensão. Por nos estimularem, a continuar estudando e a repassar o que aprendemos, ficamos felizes sempre que vemos vocês aplicando o que aprenderam com responsabilidade.

A Cilene e dona Mônica por sempre estarem dispostas a ajudar, por toda paciência e compreensão, a dona Luciana pelo jeito doce e abraço acolhedor, a Rafinha por todos os cafés e conversas, a querida Su por espalhar alegria e leveza, o seu “Bom dia” é contagiante, a querida Elaine por cada palavra gentil, abraço acolhedor e mensagem bíblica, eis iluminada. A dona Selma, dona Ivanilda e Luciano por todas as conversas, ligações e pedidos atendidos. Aos motoristas Seu Mano e Ronaldo por todas as viagens em segurança. Aos vigilantes Josemar, Bira, Seu André, Maciel e Rute por muitas vezes se aventurarem com a gente nos atendimentos e por nos manterem seguros. A Seu Everaldo, Léo, Gabriel e Júcelio por solucionarem questões do campo e atenderem as nossas solicitações.

Aos amigos tratadores, pela convivência diária, por permitirem que consigamos trabalhar em segurança, por todo conhecimento e vivências trocadas, principalmente sobre manejo e contenção de animais. Obrigada Gaguinho, por sempre reclamar para nos ajudar, mas também por nunca se recusar. Obrigada Seu Cícero, por ganhar um tempinho com a gente todos os dias e pelas conversas sobre sítio. Adeílto Henrique, é muito bom trabalhar com quem gosta de trabalhar, obrigada por todos os momentos de descontração e por procurar meus brincos. Lucas Feitosa, grata por me incentivar nos procedimentos obstétricos e me azoar para ser mais rápida nas tarefas, mas também por me manter longe dos bichos brabos, mesmo quando eu queria estar perto.

Fui muito feliz a cada dia que pude realizar o exame clínico e me conectar com cada paciente. Por isso, minha imensa gratidão e respeito a cada ruminante atendido neste período de residência, sendo fonte de aprendizado e grandes professores!

“É justo que muito custe, o  
que muito vale”.

(Santa Tereza D’Ávila)



## RESUMO

Na década de sessenta com o surto de uma doença hepática aguda em perus, filhotes de patos e em outras aves, iniciaram-se pesquisas com a intoxicação por aflatoxinas em animais de laboratório. Após confirmação do potencial hepatotóxico das aflatoxinas ficou também evidenciado o risco que representam à saúde única. Os fungos produtores de aflatoxinas são capazes de se desenvolver em diversos alimentos, principalmente em cereais. As cepas de *Aspergillus flavus* produzem apenas aflatoxinas B1 e B2, cepas de *Aspergillus parasiticus* podem produzir aflatoxinas B1, B2, G1 e G2. Todas as aflatoxinas são carcinogênicas, sendo as aflatoxinas B1 e M1 relacionadas à hepatocarcinogênese. Animais e humanos podem apresentar aflatoxicose ao consumirem alimentos contaminados por alguma destas toxinas. Após a ingestão, as toxinas são absorvidas e metabolizadas no fígado, resultando na produção de metabólitos menos tóxicos como a AFM1 que é excretada no leite, urina, fezes e bile. A intoxicação aguda está associada a sinais como dor abdominal, diarreia, vômito e edema pulmonar, podendo evoluir para o óbito. A intoxicação crônica está relacionada a má-nutrição, imunossupressão, atraso no crescimento, redução no desempenho reprodutivo, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular. Os indivíduos intoxicados podem apresentar anemia leve, alterações das enzimas hepáticas com elevação da gama glutamil transferase (GGT), aspartato transaminase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA) e dos ácidos biliares. A albumina sérica pode estar diminuída, assim como a relação albumina:globulina. Atualmente, existem técnicas de controle químico ou descontaminação que podem ser eficientes, no entanto, o uso restrito e sustentável de fungicidas e o aumento da demanda dos consumidores por alimentos livres de resíduos, requer o estudo de alternativas para o controle de fungos e conseqüentemente de micotoxinas. Por isso, tem-se investido em técnicas que evitem a contaminação, no uso de controle biológico e de adsorventes. Diante das implicações para a saúde única e importância econômica das aflatoxicoses, torna-se relevante o estudo contínuo sobre este tema. Além da conscientização da população sobre as formas de contaminação, desenvolvimento de testes de detecção que sejam eficientes e rápidos, bem como a implementação de estratégias de controle e prevenção que sejam aplicáveis e úteis.

**Palavras-chave:** Aflatoxicose. *Aspergillus*. Carcinoma hepatocelular. Micotoxina. Toxicologia.

## ABSTRACT

In the 1960s, with the outbreak of acute liver disease in turkeys, ducklings and other birds, research began on aflatoxin poisoning in laboratory animals. After confirming the hepatotoxic potential of aflatoxins, the risk they pose to human health was also highlighted. Aflatoxin-producing fungi are capable of developing in a variety of foods, especially cereals. Strains of *Aspergillus flavus* produce only aflatoxins B1 and B2, while strains of *Aspergillus parasiticus* can produce aflatoxins B1, B2, G1 and G2. All aflatoxins are carcinogenic, with aflatoxins B1 and M1 being related to hepatocarcinogenesis. Animals and humans can develop aflatoxicosis when consuming food contaminated by any of these toxins. After ingestion, toxins are absorbed and metabolized in the liver, resulting in the production of less toxic metabolites such as AFM1, which is excreted in milk, urine, feces and bile. Acute poisoning is associated with signs such as abdominal pain, diarrhea, vomiting and pulmonary edema, and may progress to death. Chronic poisoning is related to malnutrition, immunosuppression, growth retardation, reduced reproductive performance, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Poisoned individuals may present mild anemia, alterations in liver enzymes with elevation of gamma glutamyl transferase (GGT), aspartate transaminase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP) and bile acids. Serum albumin may be decreased, as well as the albumin:globulin ratio. Currently, there are chemical control or decontamination techniques that can be efficient. However, the restricted and sustainable use of fungicides and the increased consumer demand for residue-free foods require the study of alternatives for the control of fungi and consequently of mycotoxins. Therefore, investments have been made in techniques that avoid contamination, in the use of biological control and adsorbents. Given the implications for unique health and economic importance of aflatoxicosis, continued study on this topic is relevant. In addition to raising awareness among the population about the forms of contamination, the development of detection tests that are efficient and rapid, as well as the implementation of control and prevention strategies that are applicable and useful.

**Keywords:** Aflatoxicosis. *Aspergillus*. Hepatocellular carcinoma. Mycotoxin. Toxicology.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Estrutura morfológica do fungo do gênero <i>Aspergillus</i> .....	22
<b>Figura 2</b> – Estrutura química da Aflatoxina B1 e M1 .....	23
<b>Figura 3</b> – Variação regional das taxas de incidência de CHC em ambos os sexos e em todas as faixas etárias .....	25
<b>Figura 4</b> - Formas de contaminação humana pelas aflatoxinas B1 e M1 .....	27
<b>Figura 5</b> - Corte histológico hepático de bezerro com aflatoxicose crônica .....	30
<b>Figura 6</b> - Achados macroscópicos de intoxicação crônica experimental por aflatoxinas em bezerros.....	31
<b>Figura 7</b> - Achados histológicos de intoxicação crônica experimental por aflatoxinas em bezerros .....	31
<b>Figura 8</b> - Efeitos da aflatoxina no sistema orgânico .....	32
<b>Figura 9</b> - Efeitos da aflatoxina sobre a síntese proteica .....	33
<b>Figura 10</b> - Biotransformação da AFB1 e seus metabólitos.....	34
<b>Figura 11</b> - Método de extração através de polímeros molecularmente impressos (MIP).....	37
<b>Figura 12</b> - Método de purificação através da Coluna de imunoafinidade e o método Mycosep® .....	37
<b>Figura 13</b> - Cortes histológicos hepáticos de carneiros intoxicados experimentalmente por aflatoxinas e o efeito do glucomanano esterificado como adsorvente .....	40

## **LISTA DE QUADROS**

**Quadro 1** – Eventos históricos que marcaram a descoberta das aflatoxinas de 1960 à 1981 .20

**Quadro 2** – Eventos históricos que marcaram a descoberta das aflatoxinas de 1984 à 2021 .23

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1** – Limites máximos tolerados de AFM1 no leite e derivados em diferentes países..26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFs	Aflatoxinas
AFB1	Aflatoxina B1
AFB2	Aflatoxina B2
AFG1	Aflatoxina G1
AFG2	Aflatoxina G2
AFM1	Aflatoxina M1
AFQ1	Aflatoxina Q1
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato transaminase
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CHC	Carcinoma hepatocelular
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FA	Fosfatase alcalina
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Food and Drug Administration
GE	Glucomanano esterificado
GGT	Gama glutamil transferase
IAC	Coluna de imunoafinidade
IARC	International Agency for Research on Cancer
MIP	Polímeros molecularmente impressos
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SPE	Extração em fase sólida
TD50	Dose Tóxica Mediana
UE	União Europeia

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	16
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	<b>17</b>
<b>4. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>18</b>
4.1. HISTÓRICO DAS AFLATOXICOSES.....	18
4.2. ETIOLOGIA .....	22
4.3. EPIDEMIOLOGIA .....	24
4.4. MECANISMOS DE TOXICIDADE DAS AFLATOXINAS B1 E M1 .....	29
4.5. MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE AFB1 E AFM1 .....	35
4.6. PREVENÇÃO E O USO DE ADSORVENTES .....	39
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>43</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos eucariontes, heterotróficos que podem ser unicelulares (leveduras) ou pluricelulares (bolores). Esses organismos possuem distribuição cosmopolita e desempenham importante papel no meio ambiente por serem decompositores de matéria orgânica e por estabelecerem interações ecológicas como mutualismo e parasitismo. Alguns fungos, durante o seu desenvolvimento, podem produzir metabólitos com características tóxicas ou não. A toxicidade pode estar relacionada às condições favoráveis ao seu desenvolvimento, como temperatura, umidade relativa, pH e disponibilidade de nutrientes no substrato (Arruda; Beretta, 2019; Maia *et al.*, 2021). Os metabólitos fúngicos podem apresentar propriedades antibióticas, anabolizantes, carcinogênicas, mutagênicas, teratogênicas, entre outras (Carvalho, 1995; Alshannaq; Yu, 2017).

Alguns fungos ao atingirem seu desenvolvimento máximo produzem micotoxinas (Carvalho, 1995). Entretanto, seu crescimento não está obrigatoriamente associado à presença de micotoxinas, pois nem todos os fungos são toxigênicos. (Iamanaka; Oliveira; Taniwaki, 2010). As micotoxinas são moléculas estáveis, difíceis de serem removidas dos alimentos depois de produzidas e podem permanecer por anos nestes alimentos, mesmo após a morte dos fungos produtores (Carvalho, 1995).

As micotoxinas, além de prejuízos econômicos, trazem transtornos à saúde humana e animal. Durante muito tempo o impacto negativo das micotoxicoses à saúde humana foi negligenciado, dando-se relevância apenas aos fungos que produziam metabólitos com propriedades antibióticas (Carvalho, 1995; WHO, 2004). As consequências da intoxicação estão relacionadas ao tipo de micotoxina envolvida, podendo gerar distúrbios estrogênicos, imunológicos, gastrointestinais, urogenitais, vasculares, renais e nervosos, além de efeitos cancerígenos e de mutagenicidade (WHO, 2004). As aflatoxinas são as micotoxinas com maior toxicidade para humanos e animais devido ao seu potencial carcinogênico. A intoxicação ocasionada pela ingestão de aflatoxinas é definida como aflatoxicose (Amoras; Costa, 2021).

As aflatoxinas podem ser encontradas em diversos alimentos, tanto de origem vegetal como animal. A contaminação pode ocorrer em qualquer etapa do processo produtivo, desde o plantio, colheita, armazenamento, transporte, processamento e distribuição. Os fungos produtores de aflatoxinas crescem em uma grande variedade de alimentos, como cereais (milho, arroz, cevada, aveia e sorgo), amendoim, pistache, amêndoas, nozes e sementes de algodão (Alshannaq; Yu, 2017; Vaz *et al.*, 2020; Gonzalez *et al.*, 2004). As aflatoxinas são produzidas



por fungos do gênero *Aspergillus* sendo as espécies *A. flavus* e *A. parasiticus* as de maior importância. Todas as aflatoxinas são carcinogênicas sendo as aflatoxinas B1 e M1 (AFB1 e AFM1) relacionadas à um maior potencial de hepatocarcinogênese (Gonzalez *et al.*, 2005; Farias *et al.*, 2005).

Na década de sessenta, após um surto de doença hepática aguda em perus, filhotes de patos e outras aves, iniciaram-se pesquisas com a intoxicação por aflatoxinas em animais de laboratório, confirmando-se seu potencial hepatotóxico e risco que representam à saúde única. Em animais as aflatoxicoses causam grandes perdas econômicas, muitas vezes identificadas apenas nos casos agudos e fatais. Entretanto, nas intoxicações crônicas há redução da produtividade, tanto na produção de leite e carne, quanto no desempenho reprodutivo destes animais (Carvalho, 1995; Iamanaka; Oliveira; Taniwaki, 2010).

Atualmente, existem técnicas eficientes de controle químico e/ou descontaminação dos fungos e das micotoxinas. No entanto, o uso restrito e sustentável de fungicidas, bem como o aumento da demanda dos consumidores por alimentos livres de resíduos, requer o estudo de alternativas para o controle fúngico e conseqüentemente das micotoxinas (Maia *et al.*, 2021).

Diante da importância da toxicidade apresentada pelas aflatoxinas B1 e M1 aos organismos humanos e animais, tanto nos casos de intoxicações agudas quanto nas crônicas, o objetivo deste trabalho foi revisar os mecanismos de toxicidade da aflatoxicose aguda e crônica ocasionadas pela AFB1 e AFM1 e suas implicações na saúde única.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 GERAL**

Realizar revisão de literatura abordando os aspectos toxicológicos das aflatoxinas B1 e M1 sobre a saúde humana e animal.

### **2.2 ESPECÍFICOS**

- Revisar as implicações das aflatoxicoses aguda e crônica para a saúde pública;
- Apresentar os mecanismos de toxicidade das aflatoxinas B1 e M1 e o processo de biotransformação da AFB1 em AFM1;
- Abordar as características históricas e epidemiológicas das aflatoxicoses;
- Demonstrar os principais métodos de detecção e diagnóstico das aflatoxicoses em amostras biológicas e de alimentos;
- Revisar as medidas preventivas e uso de estratégias ambientalmente sustentáveis para minimizar a contaminação nos alimentos destinados a alimentação humana e animal.

### 3. METODOLOGIA

Esta revisão de literatura consiste em uma abordagem qualitativa sobre a importância das aflatoxinas e suas implicações clínicas para a saúde pública. O referencial teórico utilizado neste trabalho foi selecionado através de artigos em formato digital, utilizando as seguintes bases de dados: Scielo, Periódicos Capes, Scopus, PubMed e Biblioteca Virtual em Saúde. Também foram utilizadas informações de sites de instituições oficiais nacionais e internacionais como Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), Ministério da Saúde do Brasil (MS), Organização Mundial de Saúde (WHO) e Comissão Europeia (CE).

Os critérios de inclusão para a seleção de artigos científicos consistiram em artigos originais com abordagem referente ao assunto, publicados entre os anos de 1960 e 2023, nos idiomas português, inglês e espanhol. Produções que não atenderam aos critérios de seleção foram excluídas.

Foram empregados os seguintes descritores:

- aflatoxina AND saúde pública
- afb1 AND afm1
- aflatoxin AND chc
- aflatoxin AND hepatocellular carcinoma

Foram obtidas 151 produções científicas, as quais foram analisadas a partir do resumo, sendo escolhidas as com melhor embasamento teórico para esta revisão de literatura. Dessa forma, foram selecionadas 60 produções científicas, sendo 52 artigos científicos, seis documentos normativos, duas teses, duas dissertações e um livro. Dos artigos científicos, 30 estavam no idioma em inglês, 19 em português e três em espanhol.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 HISTÓRICO DAS AFLATOXICOSES

Os fungos do gênero *Aspergillus* pertencem à família das Aspergillaceae, à classe Ascomycetes e à subclasse Euscomycetae. O *Aspergillus* foi catalogado pela primeira vez pelo biólogo italiano Pietro Micheli em 1729. O nome *Aspergillus* foi dado devido ao seu formato quando observado ao microscópio, parecendo-se com um aspergillum (borrifador de água benta) (Pickova *et al.*, 2021). O *Aspergillus flavus* foi descrito pela primeira vez por Link em 1809 e caracterizado por ter o conidióforo com haste longa, grossa, vesícula globosa coberta com uma camada de fiálides seguida de conídios em cadeia que formam cabeças conidiais radiadas, com 300 µm a 400 µm de diâmetro, com fiálides unisseriadas ou bisseriadas (Carvalho, 2013).

Na década de 60, na Inglaterra, foi descrito um surto com a morte de 100.000 perus em uma granja em Londres, alimentados com farinha de amendoim brasileira contaminada. Inicialmente a doença foi chamada de “Doença X dos perus” até que fosse comprovado que foi causada por um metabólito tóxico produzido pelo *Aspergillus flavus*, a partir de então denominado de aflatoxina (Iamanaka; Oliveira; Taniwaki, 2010).

O veterinário e pesquisador William Percy Blount estabeleceu uma relação causal entre a intoxicação alimentar ocasionada nos perus e a farinha de amendoim brasileira, por meio da comparação dos sinais clínicos e lesões macroscópicas observadas no exame *post-mortem*. Neste estudo, com as lesões hepáticas encontradas o pesquisador excluiu outras causas de lesões do fígado relacionadas a agentes infecciosos ou agentes químicos. Dessa forma, passaram a suspeitar como causa o envenenamento ou intoxicação por alguma substância até então desconhecida (Blount, 1960).

A doença continuou ocorrendo em granjas de perus em Londres que consumiram a ração com farelo de amendoim brasileiro provenientes do mesmo galpão, reforçando a hipótese de haver algum contaminante na ração, sendo o farelo de amendoim o principal suspeito. No ano seguinte, conseguiu-se isolar o fungo *Aspergillus flavus* das amostras, confirmando que o mesmo estava produzindo um metabólito tóxico que provocava danos hepáticos. Lesões hepáticas semelhantes foram encontradas durante exames *post mortem* em patos, galinhas, faisões jovens, bovinos, ratos e porcos alimentados com farinha de amendoim brasileira. Ratos alimentados com a farinha de amendoim desenvolveram carcinoma hepatocelular, o que

reforçou a hipótese de intoxicação. Posteriormente, esta hipótese foi confirmada através de diversos experimentos (Pickova *et al.*, 2021).

Schoental (1961) testou em ratos uma ração comercial que continha 15% de farinha de amendoim em sua composição, observando sinais e lesões semelhantes à intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos, porém estes compostos não estavam presentes na dieta. Essas observações corroboraram com o estudo de Lancaster, Jenkins e Philp (1961) que associaram o efeito tóxico da substância presente no farelo de amendoim brasileiro à toxicidade dos alcalóides da planta *Senecio*, suspeitando haver alguma toxina no alimento utilizado nas rações. Com essas suspeitas, realizaram um estudo experimental: dois grupos controles, um recebendo dieta purificada e outro recebendo alimento com amendoim de origem indiana, e o grupo teste recebendo alimento com amendoim brasileiro que estava contaminado, confirmando que o mesmo provocava efeitos hepatotóxicos e carcinogênicos nos ratos, porém ainda não se sabia qual substância era responsável por tais efeitos.

No estudo de Asplin e Carnaghan (1961) que utilizou farinha de amendoim de origem brasileira e africana para alimentar patinhos e pintinhos, observou que a farinha de amendoim foi mais tóxica para animais mais jovens e nos patinhos, sendo mais letal nesta espécie. Os principais sinais clínicos observados foram à perda de apetite, baixa taxa de crescimento, tendência a puxar as penugens ou penas, danos hepáticos, claudicação esporádica e coloração arroxeadas nas pernas e pés. Sargeant, Sheridan e O’Kelly (1961) suspeitaram que a substância tóxica poderia ser um metabólito fúngico, já que uma amostra de nozes mofada advinda da Uganda havia sido recentemente associada a morte de patos no Quênia. Para confirmar esta hipótese, realizaram o cultivo do fungo retirado destas nozes em amendoins não tóxicos. Após sete dias em temperatura ambiente foi observado que o amendoim apresentava um material fluorescente azul, sendo letais para patinhos de um dia de vida e provocando lesões hepáticas características. A partir de então o fungo produtor de toxinas foi identificado como *Aspergillus flavus*.

Em 1962 foram realizados trabalhos para purificação e caracterização das toxinas produzidas pelos fungos do gênero *Aspergillus*. Através da cromatografia em papel utilizando ácido n-butanol-acético como eluente, metanol e clorofórmio como solventes para separar substâncias em uma matriz de alumina. Foram obtidas duas substâncias, uma que emitia fluorescência azul (blue) e outra verde (green), sendo então classificadas como aflatoxinas B e G, respectivamente (Nesbitt *et al.*, 1962). Barnes e Butler, (1964) já demonstravam preocupação com os riscos de desenvolvimento de carcinoma hepatocelular em humanos que ingerem de

forma crônica as aflatoxinas, tendo em vista que no estudo realizado por eles, dos três ratos que ingeriram aflatoxina na dose diária de 16 gramas por mais de 300 dias, todos desenvolveram neoplasia hepática.

Pickova *et al.*, (2021) reuniram em sua revisão de literatura os principais marcos históricos que envolveram a descoberta das aflatoxinas, fazendo uma análise retrospectiva com base em artigos científicos de 1960 à 2021 (Quadros 1 e 2).

**Quadro 1** – Eventos históricos que marcaram a descoberta das aflatoxinas de 1960 à 1981

1960	Surto da doença "X" dos perus em granjas na Inglaterra
1960	Descoberta das aflatoxinas
1960	Relação causal entre doença "X" dos perus e a farinha de amendoim
1961	Associação <i>Aspergillus flavus</i> em amendoim contaminado
1961	Isolamento de <i>Aspergillus flavus</i> em rações contaminadas
1961	Comprovação experimental da AFB1 como causa de câncer em ratos
1961	Dieta com 15% de farinha de amendoim -> lesões hepáticas
1961	Indução da intoxicação de aves com farinha de amendoim brasileira
1961	Associação do efeito tóxico da farinha de amendoim a uma toxina
1962	Estudos sobre propriedades físico-químicas das AFs
1962	Identificação AFB e AFG
1962	Testes em animais para estudar a toxicidade das AFs
1962	Isolamento e caracterização química da AFB1
1963	Derivados difuranocumarinos em AFs
1964	Nova AF produzida pelo <i>Aspergillus parasiticus</i>
1964	Caracterização parcial "toxina do leite" e sua relação com AFB1
1965	Regulamentação pela FDA para AFs em alimentos (30µg/kg)
1966	Danos hepáticos em crianças desnutridas suplementadas com amendoim contaminado com AFs
1966	Designação da "toxina do leite" em AFM1e AFM2
1966	Deteção de AFM1 no leite, urina, rins e fígado
1967	Síntese química completa das AFs
1969	FDA alterou os níveis padrão de AFs em alimentos (20µg/kg)
1970	Estudo de caso-controle sobre insuficiência hepática que levou a morte de um adolescente na Uganda
1971	1º revisão da IARC relacionando a ingestão de Afs e câncer de fígado em humanos
1974	Surto de AFs afetando humanos na Índia (106 mortes)
1975	2º revisão da IARC sobre a casualidade do câncer de fígado e as AFs
1975	Confirmação de evidências da carcinogenicidade das aflatoxinas para humanos
1977	Diretrizes de ação regulatória de AFM1 no leite (0,5 µg/kg)
1977	Identificação de aduto de DNA AFB1
1979	Construção de evidências para uma ligação entre danos ao fígado e a ingestão de AFs
1979	FAO estabelece limite máximo de 30 µg/kg de AFs em alimentos
1979	AFs detectado em alimentos e rações através de cromatografia líquida de alta eficiência
1981	Identificação de aduto de DNA de AFB1 em urina

Fonte: Adaptado de Pickova *et al.*, 2021.

**Quadro 2 – Eventos históricos que marcaram a descoberta das aflatoxinas de 1984 à 2021**

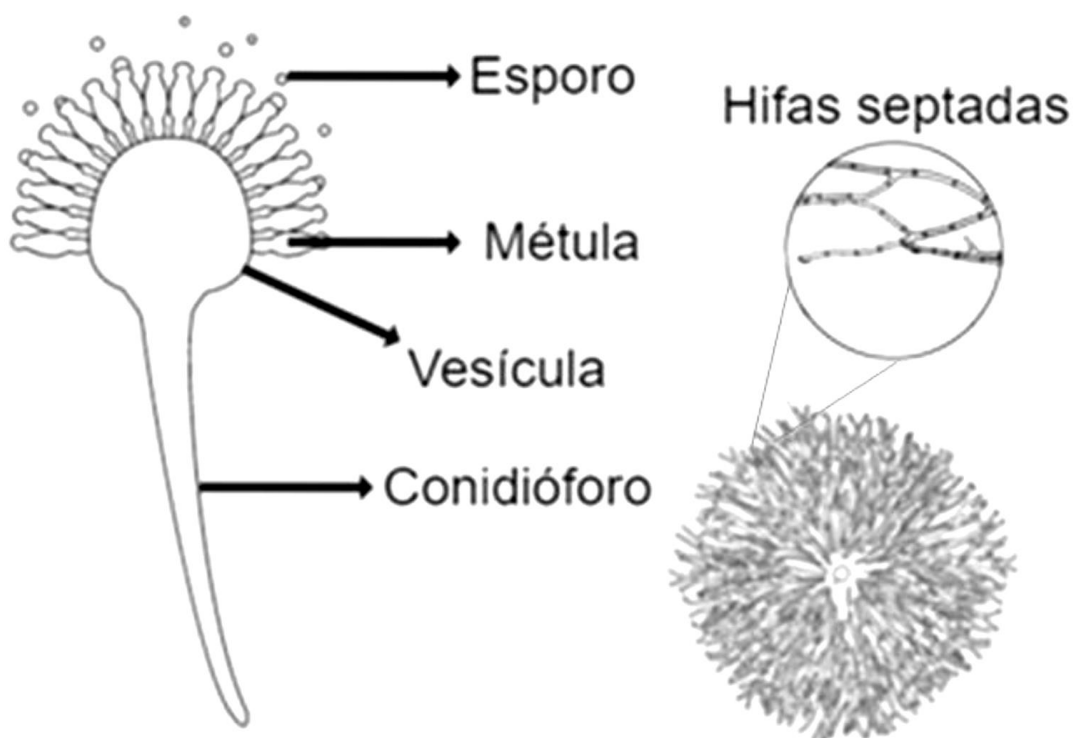
1984	Produção e caracterização de anticorpos monoclonais contra AFM1
1984	AFs em aerossóis de pó de amendoim
1987	Nova AF produzida pelo <i>Aspergillus nomius</i>
1987	3º revisão da IARC classificando as AFs como carcinógenos naturais do grupo 1
1987	Identificação e caracterização de aduto de albumina na AFB1
1988	Estudos epidemiológicos para a determinação de biomarcadores de AFs na África e China
1988	Correlação da ingestão da AFB1 e excreção urinária de AFM1
1991	Demonstração da genotoxicidade de AFB1 por indução de mutação no códon 249 do gene P53
1991	Cadeia metabólica envolvida na biosíntese de AFs
1992	Primeiro uso de biomarcadores para avaliar exposição
1992	IARC - Adição da AFB1 aos carcinógenos do grupo 1
1992	Estabelecimento de uma relação quase linear entre a ingestão de AFB1 e câncer de fígado
1992	Demonstração sinérgica entre a ingestão de AFs e o vírus da hepatite B para o CHC
1996	Deteção de microfungos aflatoxigênicos em grãos por PCR
1997	Estudo de biomarcadores para confirmar a carcinogenicidade da AFB1
1998	Especiação e recombinação crípticas do <i>Aspergillus flavus</i>
2001	Regulamento da União Européia definindo os limites máximos de AFs nos alimentos (nº466/2001)
2002	Revisão da IARC - Confirmação da AFB1 no grupo de carcinógeno
2003	Regulamento da Comissão Européia (nº2174/2003)
2004	Investigação da ocorrência de aflatoxicose no Quênia
2004	Genes de vias agrupadas na biosíntese de aflatoxinas
2004	Primeiro uso da alfa-albumina como biomarcador sanguíneo de exposição a aflatoxinas
2006	Regulamento da União Européia (401-2006)
2006	Regulamento da União Européia (1881-2006)
2007	Estudo transversal-Exposição de humanos a AFs
2009	Primeiro teste utilizando AFLASAFE™ in Nigéria
2012	Aumento da AFB1 em cereais na UE devido alterações climáticas
2012	Revisão da IARC - AFB1, AFB2, AFG1 E AFG2 no grupo 1 de carcinógenos
2013	Aumento da contaminação por AFM1 no leite e produtos lácteos na Europa
2018	Declaração da EFSA sobre efeitos do aumento dos limites máximos permitidos de AFs
2019	Testes de proficiência e controle de AFs na África
2020	EFSA - Avaliação de risco de AFs em alimentos
2017-2024	Interações toxicológicas das AFs com outros contaminantes
2024	Novas abordagens e tecnologias para mitigação das AFs

Fonte: Adaptado de Pickova *et al.*, 2021.

## 4.2 ETIOLOGIA

Em termos taxonômicos o gênero *Aspergillus* possui a seguinte classificação: Família Trichocomaceae, Reino: Fungi, Filo: Ascomycota, Sub-Filo: Pezizomycotina, Classe: Eurotiomycetes, Subclasse: Eurotiomycetidae e Ordem: Eurotiales (Amoras; Costa, 2020). As espécies incluídas no gênero *Aspergillus* são caracterizadas por apresentarem hifas septadas que compõem a arquitetura do fungo. Possuem conidióforos que se dilatam em sua extremidade superior e formam uma vesícula de onde surgem estruturas denominadas métulas, que dão suporte as células produtoras de esporos/conídios através das hifas septadas (Figura 1) (Amoras; Costa, 2020). As cepas de *A. flavus* produzem apenas aflatoxinas B1 e B2 enquanto as cepas *A. parasiticus* podem produzir aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 (Alshannaq; Yu, 2017; Vaz *et al.*, 2020, Gonzalez *et al.*, 2004).

**Figura 1** – Estrutura morfológica do fungo do gênero *Aspergillus*



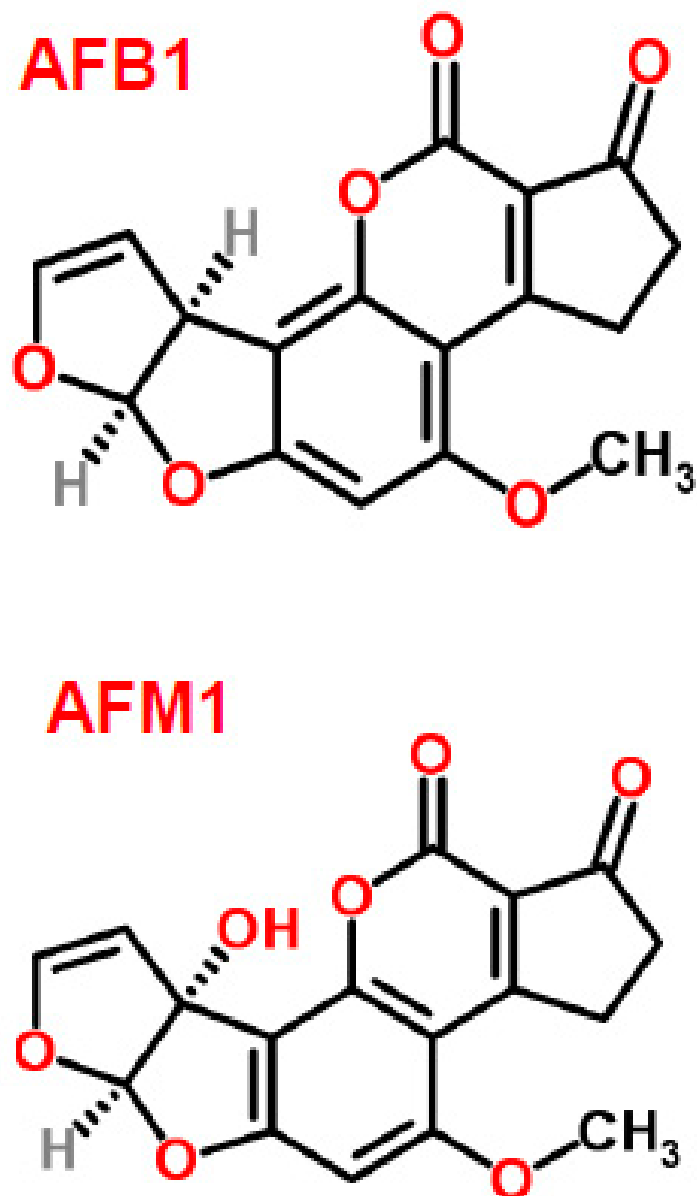
Fonte: Amoras; Costa, 2021.

As aflatoxinas possuem estrutura química semelhantes, apresentando um núcleo cumarínico ligado a uma estrutura bi-furanóide e com baixo peso molecular. A molécula de



aflatoxina B contém um anel ciclopentona, enquanto que as aflatoxinas G apresentam anel  $\delta$ -lactona ligado ao núcleo cumarínico. As AFM1 e AFM2 são compostos hidroxilados das AFB1 e AFB2, respectivamente (Figura 2). Apesar de estruturalmente serem parecidas, diferem pela atividade biológica e toxicidade (Asao *et al.*, 1963; Pierezan, 2010).

**Figura 2** – Estrutura química da Aflatoxina B1 e M1



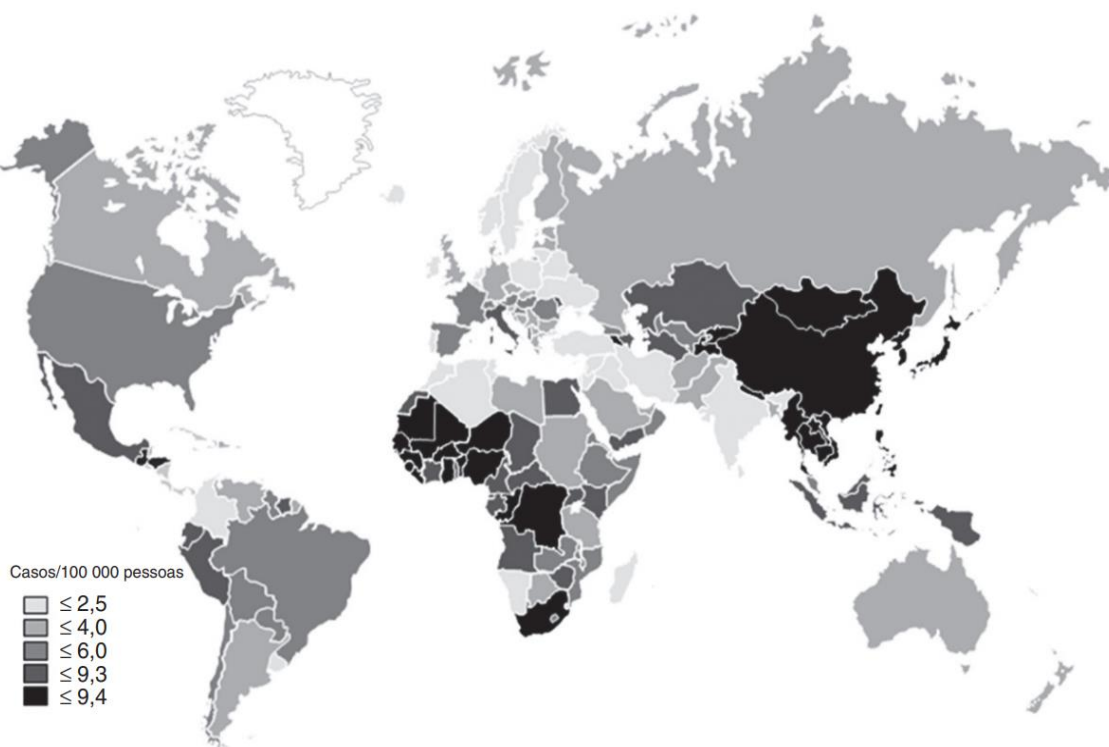
Fonte: Alshannaq; Yu, 2017.

### 4.3 EPIDEMIOLOGIA

A aflatoxina B1 é considerada o carcinógeno natural mais potente, sendo classificado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) no grupo 1, com alto risco para carcinoma hepatocelular em indivíduos expostos (Alshannaq; Yu, 2017; Vaz *et al.*, 2020, Gonzalez *et al.*, 2004; IARC, 1993). Já aflatoxina M1 foi classificada no grupo 2-B, sendo considerado possivelmente carcinogênico para humanos (Alshannaq; Yu, 2017). O potencial carcinogênico é estimado através da mensuração do teor de micotoxina passível de desenvolver tumores malignos em 50% dos indivíduos (TD50), que para AFM1 é de 10,38mcg/kg/dia e para AFB1 é 1,15mcg/kg/dia (IARC, 1993; Gonzalez *et al.*, 2005; Farias *et al.*, 2005).

As neoplasias malignas hepáticas primárias são o sexto tipo mais comum de neoplasia maligna e a quarta principal causa de morte relacionada ao câncer em humanos. O carcinoma hepatocelular (CHC) representa 75 a 85% das neoplasias primárias do fígado com incidência global anual estimada entre 500.000 e 1.000.000 novos casos e causando 700.000 mortes por ano. O Brasil é considerado um país com baixa incidência de CHC, com incidência anual de 3,5% (Ministério da Saúde, 2022). Os principais fatores de risco para o desenvolvimento do CHC estão associados à cirrose hepática, infecções pelos vírus da hepatite C e B, contaminação de alimentos por aflatoxinas, ingestão alcoólica abusiva, diabetes, obesidade e doença hepática gordurosa não alcoólica. Estima-se que 85% dos casos de CHC ocorrem em países em desenvolvimento, sendo as maiores taxas de incidência em regiões onde a infecção pelo vírus da hepatite B é endêmica como sudeste Asiático e África Subsaariana (Figura 3) (Gomes *et al.*, 2013; Cristo *et al.*, 2016; Ministério da Saúde, 2022).

**Figura 3** – Variação regional das taxas de incidência de CHC em ambos os sexos e em todas as faixas etárias (número de casos a cada 100.000 habitantes)



Fonte: Gomes *et al.*, 2013.

O leite e seus derivados são consumidos por indivíduos de todas as faixas etárias e a presença de aflatoxinas nestes alimentos é uma importante questão de saúde pública. Como as micotoxinas são estáveis e resistentes aos processos de pasteurização e beneficiamento do leite, destaca-se a importância no controle rigoroso da indústria alimentícia para que estes metabólitos estejam dentro dos limites máximos de tolerância estipulados pela legislação vigente (González *et al.*, 2021). Para alimentos como grãos e cereais destinados ao consumo humano e animal, o limite máximo permitido é de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para a soma das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 (ANVISA, 2002). Para aflatoxina M1, a legislação brasileira atual estabelece os limites de até 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  no leite fluido, 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  no leite em pó e 2,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  em queijos (BRASIL, 2011). Na tabela 1, a seguir está apresentada a regulamentação de alguns países sobre os limites máximos tolerados da aflatoxina M1 no leite e seus derivados.

**Tabela 1** – Limites máximos tolerados de AFM1 no leite e derivados em diferentes países

País	Leite (µg/EU)	Lactícínios (µg/kg)
Argentina	0,05	0,50 (derivados de leite); 0,25 (queijo)
Brasil	0,5	5 (leite em pó); 2,5 (queijo)
China	0,5	0,5 (produtos lácteos)
Egito	0	0
UE	0,05	<b>Itália</b> 0,25 (queijo macio); 0,45 (queijo duro)
	0,025 (produtos alimentícios destinados a lactentes e crianças pequenas)	<b>Áustria</b> 0,020 (manteiga); 0,25 (queijo); 0,40 (leite em pó)
	<b>Áustria</b> 0,01 (leite infantil pasteurizado)	<b>Os Países Baixos</b> 0,020 (manteiga); 0,020 (queijo)
	<b>França</b> 0,03 (para crianças <3 anos)	
Honduras	0,05	0,250 (queijo)
Irã	0,05	0,50 (leite em pó); 0,020 (manteiga e manteiga leite); 0,250 (queijo)
Nigéria	1	-
Suíça	0,05	0,25 (queijo)
Peru	0,05	0,25 (queijo)
EUA	0,5	-

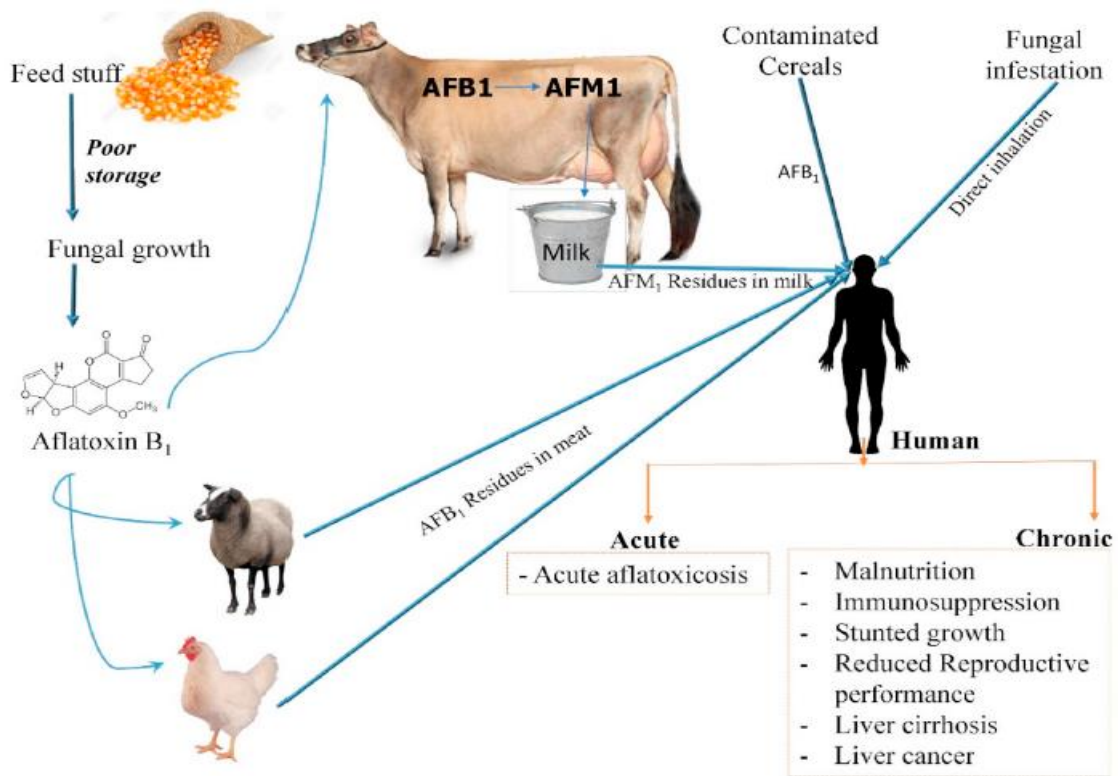
Fonte: Vaz *et al.*, 2020.

Em um estudo comparando as concentrações de aflatoxinas no leite e derivados, Costamagna (2019) verificou que os níveis de AFM1 nas amostras de soro e queijo foram respectivamente de 55,4% e 44,6%, e com concentrações maiores que a quantidade total de aflatoxina presente no leite. Dados semelhantes foram observados por Finoli e Vecchio (2003), que detectaram a AFM1 em 30% das amostras de leite em níveis variando de 4 a 23 ng/kg e em 13% dos queijos de 21 a 101 ng/kg. A AFB1 foi detectada na ração utilizada para alimentar estes animais com todas as amostras dentro dos limites estabelecidos pela União Européia.

Gonzalez *et al.* (2005) verificaram a ocorrência da AFM1 no leite comercializado no estado de São Paulo. Em 43 amostras analisadas, 39,5% foram positivas para AFM1 e destas, 64,7% apresentaram concentrações acima do permitido no Brasil. Prado *et al.* (2008) estudaram 88 amostras de queijo parmesão comercializados no estado de Minas Gerais, sendo 46,4% das amostras positivas para AFM1. No entanto, apenas duas amostras obtiveram valores acima do recomendado pela União Européia e todas estavam dentro dos limites para a legislação brasileira. Resultados similares foram observados no estudo de Sifuentes dos Santos *et al.* (2015), com amostras de leite *in natura* e em pó coletados no estado do Paraná, onde as concentrações de AFM1 encontravam-se dentro dos limites tolerados no Brasil, mas algumas amostras apresentavam concentrações superiores ao da legislação Européia.

Os efeitos tóxicos de AFB1 estão relacionados principalmente à ligação do bioativo AFB1-8,9-epóxido para macromoléculas celulares, particularmente ácidos nucleicos mitocondriais, nucleares e nucleoproteínas, resultando em efeitos citotóxicos gerais (Alshannaq; Yu, 2017). A intoxicação aguda em humanos e animais está associada a sinais como dor abdominal, diarreia, vômito e edema pulmonar, podendo evoluir para o óbito. Na intoxicação crônica pode-se observar desnutrição, imunossupressão, retardo no crescimento, redução no desempenho reprodutivo, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (Trotta, 2016; Adegbeye *et al.*, 2020) (Figura 4) .

**Figura 4 -** Formas de contaminação humana pelas aflatoxinas B1 e M1



Fonte: Adegbeye *et al.*, 2020.

Ruminantes produtores de leite para consumo humano podem se contaminar através da ingestão de AFB1 em forragens, silagens e concentrados. A AFB1 pode ser absorvida pelo trato gastrointestinal e, através da circulação porta, chegar ao fígado e ser metabolizada e biotransformada pelo citocromo microsossomal hepático P450, em um metabólito hidroxilado, a AFM1, a qual será eliminada no leite. Esta pode ser detectada no leite 12 a 24 horas após a alimentação dos animais com ração contaminada com AFB1 e sua concentração estará relacionada aos níveis consumidos de AFB1. Em derivados lácteos como o queijo, a

concentração de AFM1 pode ser superior ao da matéria prima, o leite, pois este metabólito além de ser estável ao calor, também se liga bem à caseína (Alshannaq; Yu, 2017).

Os ruminantes são menos afetados por aflatoxicoses, pois o ambiente ruminal tem capacidade de realizar o processo de desintoxicação. Entretanto, a capacidade de absorção de aflatoxinas pode ser influenciada por fatores como pH ruminal, taxa de passagem dos alimentos, digestibilidade e alimentos com partículas pequenas. Em um estudo foi observado que animais que se alimentam de alimentos concentrados com partículas pequenas, por terem uma rápida taxa de passagem, poderiam não sofrer o processo de desintoxicação (Costamagna, 2019).

Gonzalez *et al.* (2004) relataram um surto de intoxicação de vacas leiteiras da raça Jersey por farelo de algodão naturalmente contaminado. As amostras de alimentos foram positivas para as quatro principais aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, com as concentrações acima do permitido pela legislação brasileira. Neste mesmo surto a AFM1 também foi detectada na secreção láctea, o que colocou em risco a população, que apesar da ausência de relatos de sinais de intoxicação aguda, não se descartou a possibilidade de intoxicação ter ocorrido de forma crônica.

Na Colômbia, as concentrações de AFM1 no leite de tanques de resfriamento variaram de acordo com as épocas do ano, sugerindo que há maiores concentrações na estação seca, por haver maior fermentação do alimento no cocho para alimentação de vacas leiteiras e conseqüentemente maior produção de AFB1 e excreção de AFM1 no leite (Tarazona-Manrique; Andrade-Becerra; Vargas-Abella, 2022).

A taxa de biotransformação da AFB1 em AFM1 é influenciado pelo potencial produtivo de cada animal. No estudo de Costamagna (2019), foi observado que vacas com produção de leite superior a 28,5 litros apresentaram uma taxa média de transferência de 1,21%, enquanto vacas com produção inferior tiveram uma taxa média de 0,48%. Esses resultados corroboraram com Veldman *et al.* (1992) que já haviam observado que vacas com maior produção possuem também maior taxa de transferência de aflatoxina para o leite. O mesmo foi constatado por Battacone *et al.* (2003), que verificaram que em ovelhas da raça Sarda a conversão de AFB1 em AFM1 no leite foi influenciada pela capacidade produtiva, no entanto, com taxa de transferência inferior a observada em bovinos.

#### 4.4 MECANISMOS DE TOXICIDADE DAS AFLATOXINAS B1 E M1

Animais monogástricos e aves são mais sensíveis a aflatoxicoses quando comparados aos ruminantes, assim como animais jovens de todas as espécies são mais susceptíveis as intoxicações. A quantidade de aflatoxina ingerida e a duração dessa ingestão irão influenciar no tipo de intoxicação, aguda ou crônica. Na intoxicação aguda, os principais sintomas estão relacionados à hepatotoxicidade, sendo a maioria dos casos graves e que podem levar a morte devido à insuficiência hepática aguda. Em humanos a aflatoxicose aguda é caracterizada por náuseas, vômitos, dor abdominal, má digestão, má absorção, sangue nas fezes, hipertermia, edema pulmonar e cerebral, tremores musculares, convulsões, coma e até morte (Dhakal; Hashmi; Sbar; 2023; Amoras; Costa, 2021; Samuel, *et al.*, 2009).

A intoxicação crônica à aflatoxina é similar em humanos e animais, podendo resultar em cirrose hepática e, conseqüentemente, em carcinoma hepatocelular. O carcinoma de vesícula biliar também está associado à aflatoxicose crônica (Dhakal; Hashmi; Sbar, 2023). Indivíduos expostos cronicamente a aflatoxinas e portadores de vírus da hepatite B ou C tem maior probabilidade de desenvolverem essas neoplasias (Magnussen; Parsi, 2013). Em crianças, a exposição crônica à aflatoxina está associada à imunossupressão, retardo no crescimento, deficiências nutricionais e atraso no desenvolvimento (Dhakal; Hashmi; Sbar, 2023; Williams *et al.*, 2004; Voth-Gaeddert *et al.*, 2018).

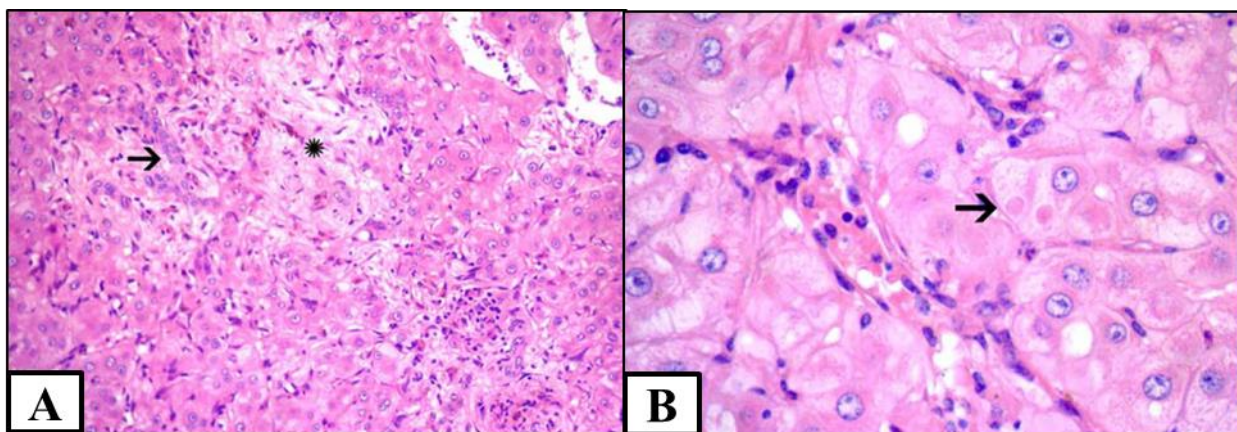
Gong *et al.* (2002) concluíram em seu estudo que as pessoas na África ocidental estão cronicamente expostas às aflatoxinas e que o maior impacto se dá em crianças na fase pós desmame, o que contribui para falha no crescimento. Na fase pós desmame há um aumento da ingestão de cereais, ou seja, uma alimentação rica em carboidratos e deficiente em proteínas, além de que estes alimentos podem estar contaminados com aflatoxinas, potencializando o risco do desenvolvimento de Kwashiorkor, um tipo de desnutrição proteica. Tem-se realizado diversos estudos para comprovar esta associação, apesar do Kwashiorkor ser uma patologia multifatorial (Soriano *et al.*, 2020).

A intoxicação também pode ocorrer em crianças e bebês na fase de aleitamento, já que a AFM1 também é excretada pelo leite materno humano. Quando intoxicados estes bebês têm uma menor capacidade de desintoxicação e biotransformação da toxina, além terem uma dieta restrita e um maior consumo em relação ao peso corporal (Cardoso, 2019). Jafari *et al.* (2017) analisaram 250 amostras de leite materno humano, das quais 15,6% foram detectado a AFM1 e em 3,2% estava acima do limite de 25ng/L, limite máximo de consumo estipulado pela

comissão europeia para lactentes exclusivos e crianças menores de três anos de idade. Observou-se também maior ocorrência de intoxicações em lactantes nas zonas rurais e que se alimentavam de pão e cereais, associando o risco de transferência de AFM1 pelo leite materno aos hábitos alimentares da população analisada.

Na aflatoxicose aguda há degeneração gordurosa nos hepatócitos, necrose hemorrágica aguda e proliferação de ductos biliares. Já na aflatoxicose crônica as lesões alteram a arquitetura histológica do fígado, sendo compatíveis com cirrose hepática com degeneração nodular e fibrose (Figura 5). O carcinoma hepatocelular é a principal consequência da intoxicação crônica. Apresentam-se como tumores bem vascularizados, com trabéculas amplas, alterações de pequenas células, invasão vascular como início do processo de metástase, padrão acinar proeminente, atipia, atividade mitótica e ausência de células de Kupffer (Dhakal; Hashmi; Sbar, 2023).

**Figura 5** – Corte histológico hepático de bezerro com aflatoxicose crônica. (A) Fibrose portal indicada na figura por \* e proliferação de ductos biliares indicados por seta; (B) Hepatócitos com moderada megalocitose e degeneração citoplasmática vacuolar com acumulação de lipídios. O aumento de volume dos hepatócitos oblitera a luz dos sinusóides. Seta indica dois hepatócitos com glóbulos eosinofílicos no citoplasma.



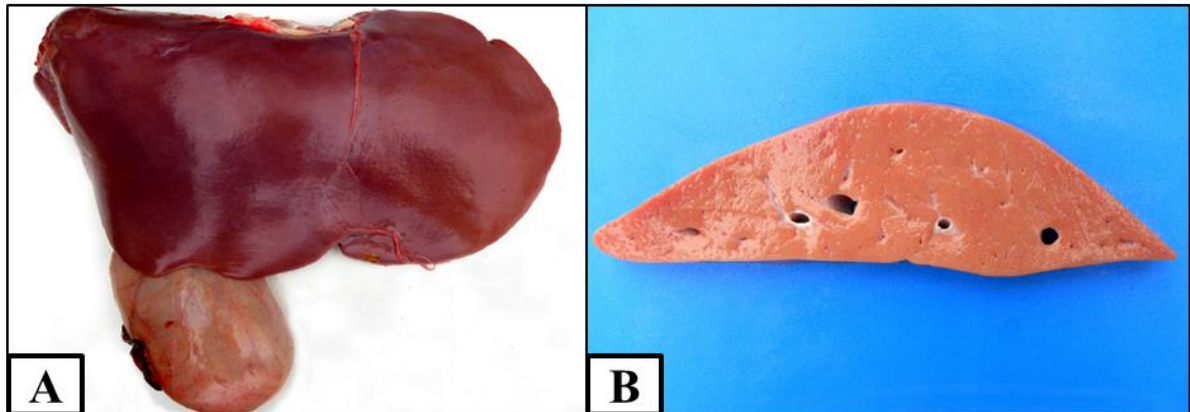
Fonte: Pierezan *et al*, 2010.

No estudo de Pierezan *et al*. (2010) os achados de necropsia observados em bezerros com aflatoxicose crônica incluíam fígado discretamente aumentado de tamanho, difusamente amarelo claro e firme (Figura 6). Neste mesmo estudo também foram observados discreto aumento do líquido peritoneal, edema de mesentério e da submucosa do abomaso. As alterações histopatológicas incluíram proliferação de ductos biliares, degeneração citoplasmática vacuolar



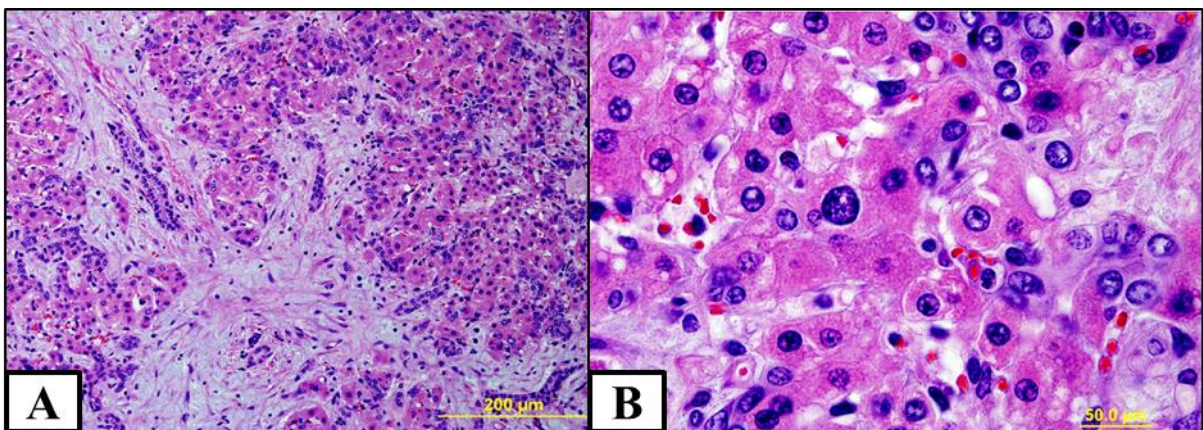
consistente com acumulação hepatocelular de lipídios, fibrose periportal, ou em ponte, megalocitose, fibrose subendotelial das veias hepáticas terminais e edema (Figura 7).

**Figura 6** - Achados macroscópicos de intoxicação crônica experimental por aflatoxinas em bezerros. (A) Fígado aumentado de tamanho, amarelo claro, firme com vesícula biliar distendida; (B) Superfície de corte difusamente amarelado



Fonte: Pierezan *et al*, 2010.

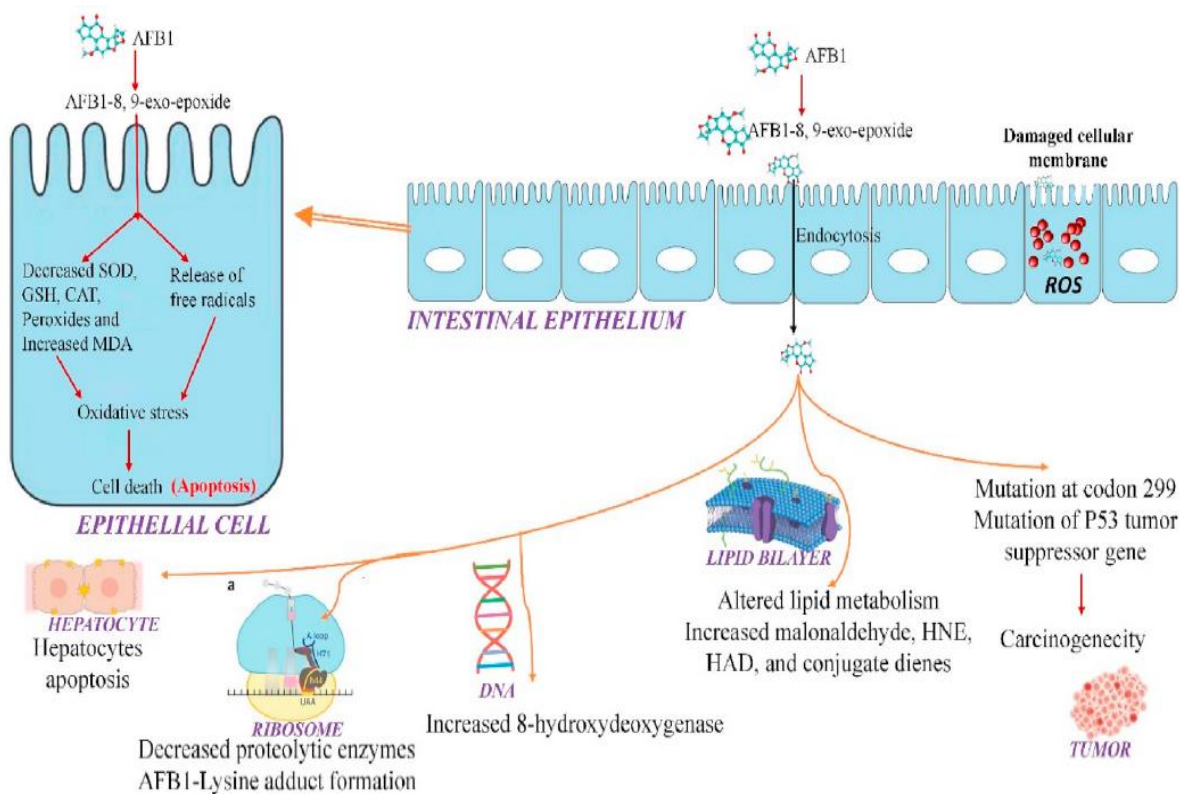
**Figura 7** - Achados histológicos de intoxicação crônica experimental por aflatoxinas em bezerros. (A) Áreas de extensiva fibrose e proliferação dos ductos biliares principalmente ao redor de espaços porta e ocasionalmente conectando um ducto ao outro; (B) Hepatócito com núcleo aumentado de duas a três vezes de tamanho (Megalocitose)



Fonte: Pierezan *et al*, 2010.

A metabolização da AFB1 ocorre no fígado por enzimas microsossomais oxidase de função mista pertencentes ao citocromo P450, sendo convertido em AF-8,9-epóxido reativo que é responsável por promover mutação no Ácido desoxirribonucleico (DNA) através da transversão G → T no códon 249 do gene supressor de tumor p53 (Gallagher *et al.*, 1996; Oliveira; Germano, 1997; Magnussen; Parsi, 2013). Este epóxido está envolvido em três vias metabólicas diferentes: na conjugação de glutatona, na conversão enzimática e não enzimática de AFB1-8,9-dihidroxiol e na ligação a macromoléculas como proteínas e RNA (Figura 8) (Marchese *et al.*, 2018; Osweller, 1998).

**Figura 8** - Efeitos da aflatoxina no sistema orgânico

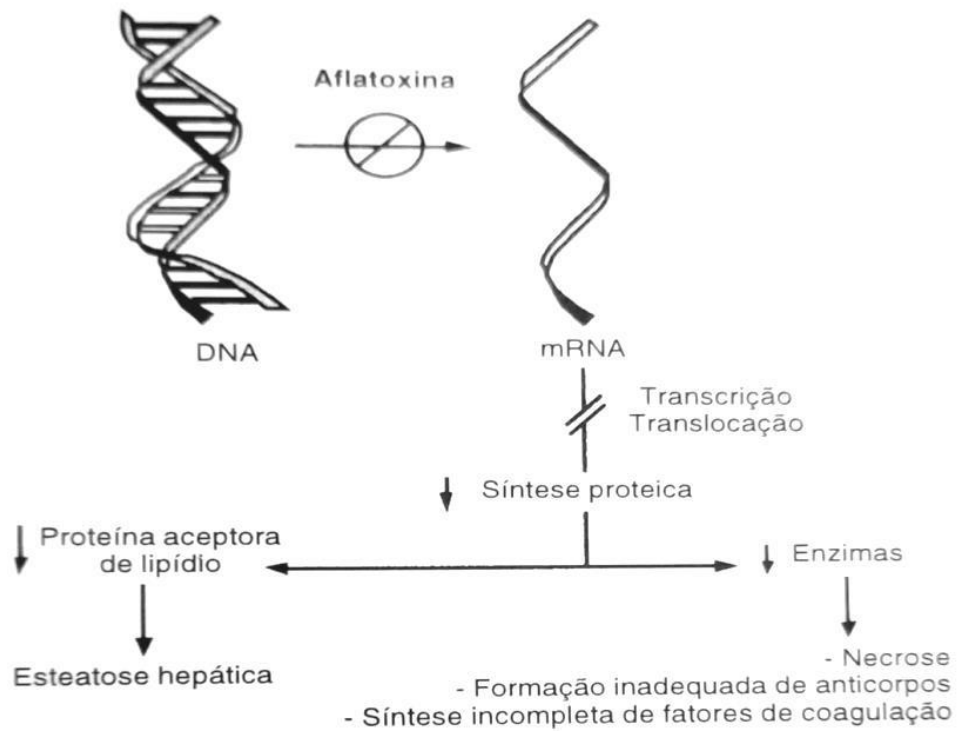


Fonte: Adegbeye *et al.*, 2020.

A conjugação da glutatona é uma via de desintoxicação de AFB1 importante, apesar deste processo elevar os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) que ocasionam danos celulares oxidativos. Na conversão enzimática e não enzimática de AFB1-8,9-dihidroxiol, posteriormente há conversão em dialdeído, dessa forma pode ser excretado pela urina ou ligar-se a proteínas, principalmente albumina. Quando o epóxido se liga a proteínas ou ao RNA, inibe a síntese de proteínas, DNA e RNA, além de causar desregulação no funcionamento celular

(Marchese *et al.*, 2018). Quando a aflatoxina se liga a guanina no DNA, inibe o RNA mensageiro, levando a interrupção da síntese proteica (Figura 9) e, conseqüentemente, a esteatose hepática e aos distúrbios funcionais e metabólicos (Osweiler, 1998).

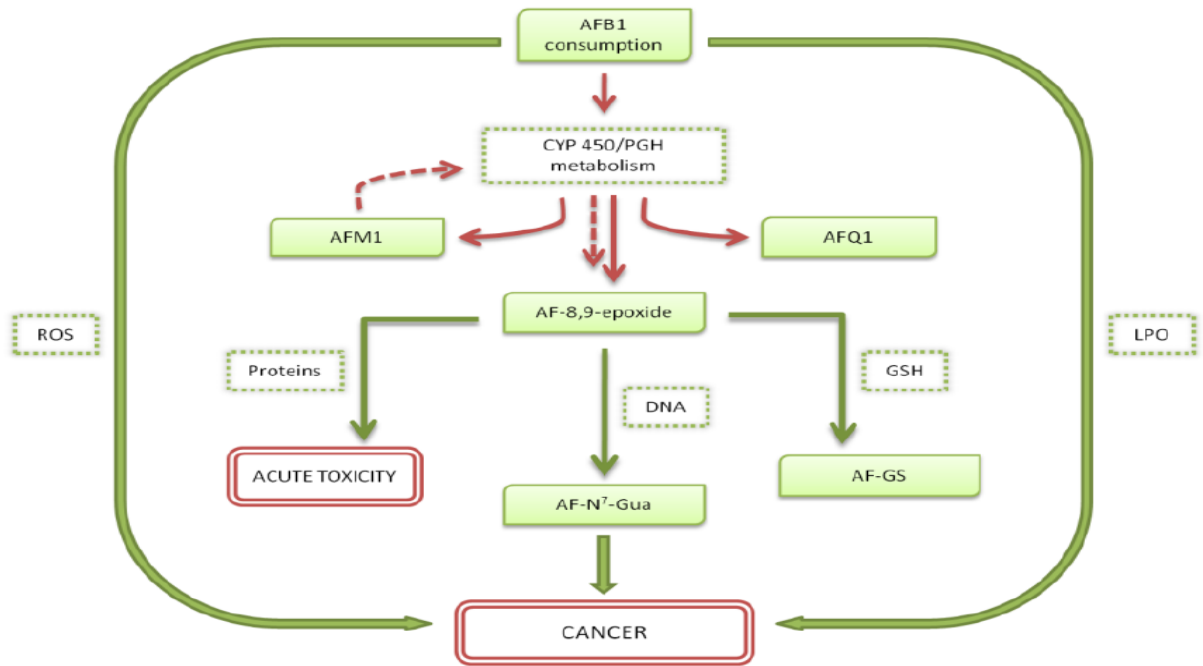
**Figura 9** - Efeitos da aflatoxina sobre a síntese proteica



Fonte: Osweiler, 1998.

A biotransformação da AFB1 também gera metabólitos menos tóxicos como AFM1 e AFQ1 através da hidroxilação da toxina (Figura 10) (Dhakal; Hashmi; Sbar, 2023; Gallagher *et al.*, 1996; Marchese *et al.*, 2018). O grupo hidroxila na molécula permite a conjugação da AFB1 com ácido glicurônico ou sulfatos, resultando em compostos solúveis em água, menos tóxicos e com maior facilidade de excreção através da urina, bile, fezes e leite (Oliveira; Germano, 1997).

**Figura 10 - Biotransformação da AFB1 e seus metabólitos**



Fonte: Marchese *et al.*, 2018.

#### 4.5 MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE AFB1 e AFM1

O diagnóstico da intoxicação por aflatoxinas, tanto em humanos quanto em animais, é realizado através do histórico de consumo de alimentos contaminados associado aos sinais clínicos, análises laboratoriais, estudo das lesões macroscópicas e histológicas. No entanto, há poucos relatos de surtos de aflatoxicoses descritos, não havendo relatos de surtos de intoxicação no Brasil (Osweiler, 1998). Por apresentar sinais clínicos e alterações laboratoriais inespecíficas, o diagnóstico das aflatoxicoses se torna difícil, podendo ser confundida com outras enfermidades que cursam com dano hepático e, conseqüentemente, pode estar sendo subdiagnosticada (Amoras; Costa, 2021).

No diagnóstico laboratorial pode-se observar anemia leve, alterações das enzimas hepáticas com elevação da gama glutamil transferase (GGT), aspartato transaminase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA) e dos ácidos biliares. Albumina sérica pode estar diminuída, bem como a relação albumina:globulina (Osweiler, 1998). As lesões hepáticas são semelhantes à intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos encontrados nas plantas do gênero *Senecio* spp., sendo esse o principal diagnóstico diferencial, haja visto que a planta pode ser consumida espontaneamente no pasto por ruminantes e humanos (consumo medicinal) (Bolzan *et al.*, 2007).

Os principais biomarcadores de exposição para AFB1 são os seus metabólitos encontrados na urina, leite ou sangue de indivíduos expostos, tais como aflatoxina M1, aflatoxina P1 (AFP1) e aflatoxina Q1 (AFQ1). A AFB1 pode ser quantificada no sangue após o consumo de alimentos contaminados. Entretanto, a utilização deste biomarcador só é eficiente se a exposição for muito recente. Os adutos AFB-N7-guanina e AFB-albumina também são biomarcadores eficientes, comumente utilizados em estudos epidemiológicos. O aduto AFB-N7-guanina é resultante da ligação entre a aflatoxina-exo-8,9-epóxido, metabólito de AFB1 altamente reativo, com o DNA de células hepáticas e excretado na urina. Os adutos AFB-albumina são formados pela ligação da aflatoxina-dialdeído com a albumina e são encontrados no sangue periférico (Bando *et al.*, 2007).

Contudo, a forma mais eficiente de se confirmar a aflatoxicose é através da detecção da aflatoxina na urina e leite, ou nos alimentos suspeitos de estarem contaminados utilizando métodos analíticos. Estes métodos podem ser qualitativos, quando detectam a presença de aflatoxina no substrato a ser analisado, ou quantitativos, quando é necessário quantificar as concentrações da aflatoxina. Todos seguem as mesmas etapas: amostragem, preparação da

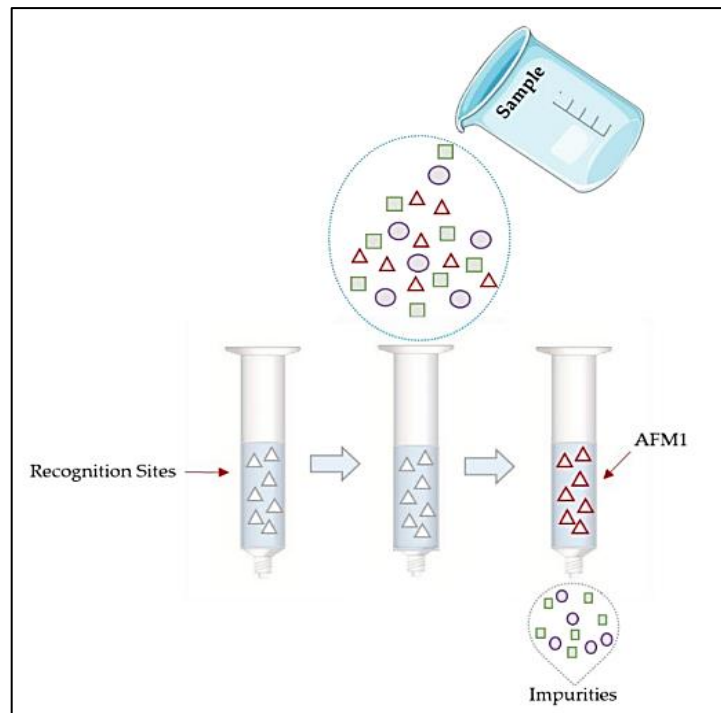
amostra (extração e purificação), e a análise com identificação e/ou quantificação (Serra, 2005). O regulamento da Comissão Europeia (EC) nº401/2006 estabelece os métodos de amostragem e análise de micotoxinas em alimentos, definindo que para a amostragem de leite e produtos lácteos deve-se coletar no mínimo três alíquotas que totalizem uma amostra global de um litro ou um quilo, sendo que cada alíquota deve ser de no mínimo 100 gramas (EU, 2010).

A **amostragem** é uma etapa fundamental para a determinação correta dos teores de aflatoxinas, pois estas são distribuídas de forma bastante heterogênea em diversos alimentos, sólidos e líquidos. Em alimentos líquidos, como por exemplo, amostras de leite fluido, torna-se mais fácil a amostragem devido a melhor homogeneização da amostra. Entretanto, em alimentos sólidos como o queijo, é necessário que a amostra seja triturada e posteriormente homogeneizada, pois as aflatoxinas podem se concentrar em apenas uma porção do alimento. A homogeneização pode ser mecânica ou manual e deve ocorrer imediatamente antes da coleta da amostra (Vaz *et al.*, 2020).

O objetivo da **extração** é remover a micotoxina da matriz. Nas amostras sólidas é necessário fluidificar esta amostra com utilização de solvente ou a mistura deles com água, para então se extrair os analitos desejados (Serra, 2005). Uma das técnicas mais usadas é a extração em fase sólida (SPE), onde partículas sólidas contidas em um cartucho realizam a adsorção dos analitos. Os polímeros molecularmente impressos (MIP) são substâncias sintéticas que possuem sítios de ligação que se ligam as moléculas alvos, a aflatoxina M1 (Figura 11). O MIP é mais vantajoso que o SPE por consumir menos solvente e a limpeza das aflatoxinas ser mais seletiva (Vaz *et al.*, 2020).

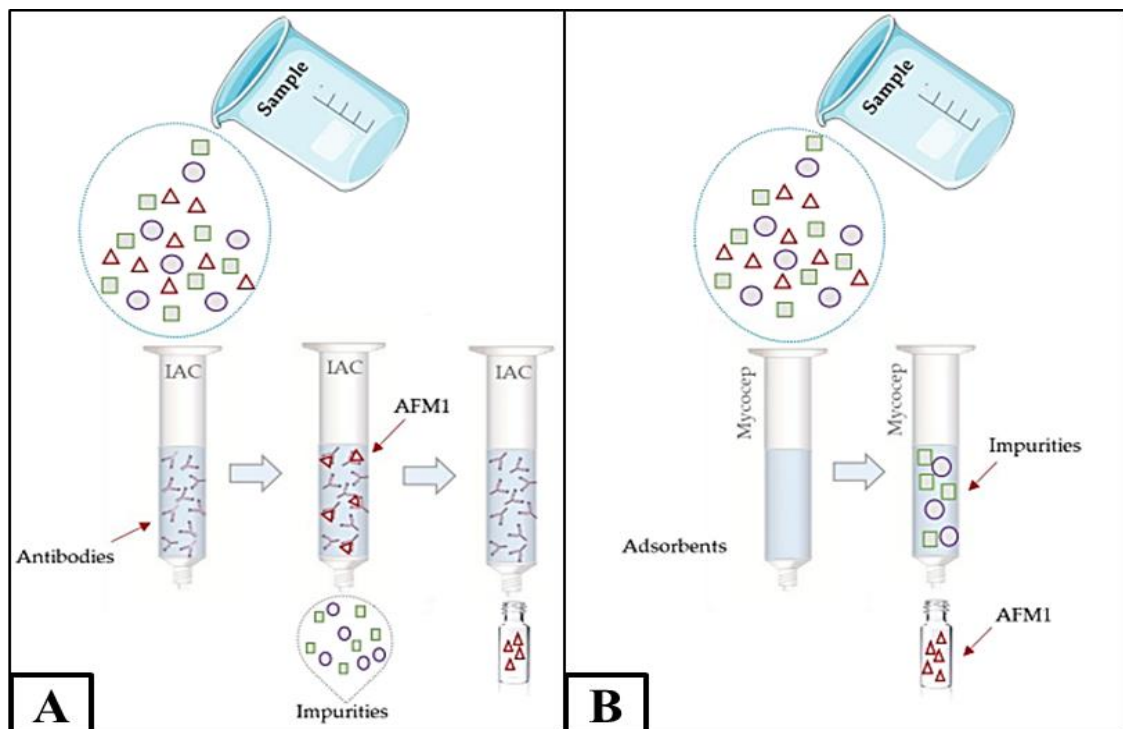
A **limpeza** da amostra é realizada após a extração para remover todas as impurezas que possam interferir na determinação de aflatoxinas da amostra líquida. Esta etapa pode não ser necessária nos casos de análises qualitativas, podendo-se prosseguir diretamente para a etapa de **determinação** (Serra, 2005). Os métodos de purificação mais utilizados são as colunas de imunoafinidades (IAC) (Figura 12 - A) e as colunas de limpeza multifuncionais de uma etapa MycoSep® (Figura 12 - B). A diferença entre as duas técnicas esta que na primeira o analito é retido e as impurezas são extraídas, na segunda ocorre o inverso, sendo necessária apenas uma coluna. Para a **purificação** da AFM1 tem-se maior precisão com o uso da IAC, mas as MycoSep® se demonstram bem eficientes para AFB1 (Vaz *et al.*, 2020).

**Figura 11** - Método de extração através de polímeros molecularmente impressos (MIP)



Fonte: Vaz *et al.*, 2020.

**Figura 12** - Método de purificação através da Coluna de imunoafinidade e o método Mycosep®



Fonte: Vaz *et al.*, 2020.



Para a **determinação** das aflatoxinas existem dois tipos de métodos, os de triagem e os confirmatórios. Os de triagem apresentam alta sensibilidade, rapidez nos resultados e considerável eficiência qualitativa, mas são pouco exatos em termos de quantificação, como os testes imunológicos de ELISA (Serra, 2005; Souza; Vargas; Junqueira, 1999). Os métodos confirmatórios permitem a quantificação exata da aflatoxina, são ensaios cromatográficos como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia em Camada Delgada (CCD) (Serra, 2005; Prado *et al.*, 2000). Vaz *et al.* (2020) constataram que para determinação de aflatoxinas em leite e produtos lácteos são mais adequados os métodos cromatográficos com detecção de fluorescência ou acoplados à espectroscopia de massa. As aflatoxinas B e M emitem fluorescência azul (blue), a classificação M se dá devido esta ser a principal aflatoxina encontrada no leite (milk), já as aflatoxinas B emitem fluorescência verde (green) (Nesbitt *et al.*, 1962).



#### 4.6 PREVENÇÃO E O USO DE ADSORVENTES

Medidas devem ser adotadas para prevenir a contaminação de AFB1 em alimentos utilizados na dieta de humanos e ruminantes produtores de leite, e conseqüentemente para reduzir a transferência de AFM1 para o leite. Em relação aos alimentos fornecidos aos animais deve-se dar atenção a todas as etapas de produção, desde o plantio, transporte, armazenamento, fornecimento e comercialização. Devem ser adotadas práticas agrícolas adequadas tais como: ponto correto de colheita, manipulação adequada dos alimentos e limpeza eficiente, além do desenvolvimento de variedades de plantas resistentes. Quando possível, à desintoxicação de alimentos e rações contaminadas deve ser realizada. Destaca-se ainda a importância de detecção de aflatoxinas e controle destas para que estejam dentro dos limites máximos tolerados pela legislação brasileira vigente (Iamanaka; Oliveira; Taniwaki, 2010).

A principal forma de prevenir a proliferação do fungo *Aspergillus* na fase de cultivo se dá pelo uso de fungicidas. No entanto, devido a grande maioria destes compostos químicos também serem nocivos à saúde humana com efeitos carcinogênicos, tem-se buscado alternativas de controle fúngico ambientalmente mais sustentáveis, como por exemplo o controle biológico, correção do solo diminuindo sua umidade e o uso adsorventes. Como controle biológico tem se utilizado cepas não aflatoxigênicas do próprio fungo *Aspergillus*, gerando competição nas culturas e reduzindo a contaminação. Algumas bactérias e leveduras têm mostrado resultados promissores, agindo na degradação de compostos fúngicos, impedindo sua disseminação (Zucchi; Melo, 2009).

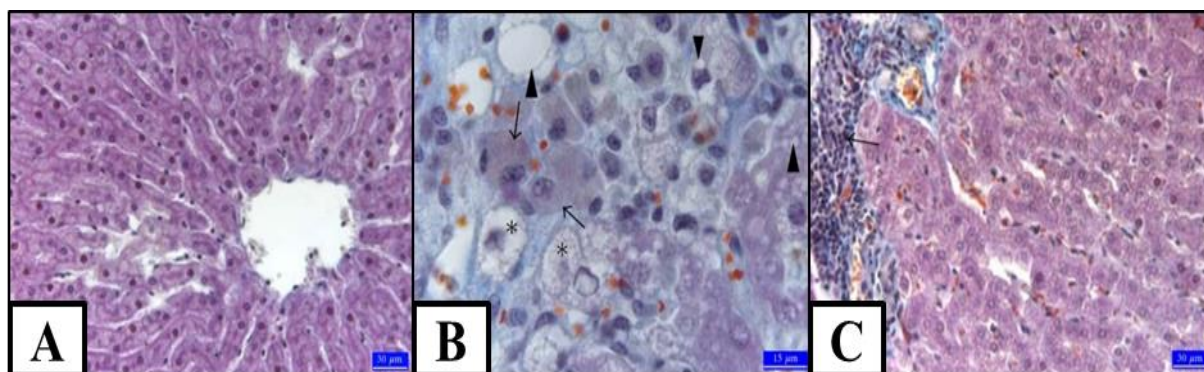
O processo de desintoxicação deve destruir, inativar ou eliminar a toxina e não produzir metabólitos tóxicos ou carcinogênicos ao organismo, bem como não afetar o valor nutricional e nem alterar as características físico-químicas do alimento (Bretas, 2018). Os adsorventes são substâncias inertes que são capazes de se fixar às micotoxinas, ligando-se a AFB1 dentro do trato gastrointestinal dos ruminantes, diminuindo sua biodisponibilidade e transferência de AFM1 para o leite (Bretas, 2018; Rojo *et al.*, 2014). Podem ser compostos inorgânicos hidrofóbicos que se ligam bem a compostos orgânicos como sepiolita, diatomitos, aluminossilicatos de sódio e cálcio ou compostos orgânicos provenientes de leveduras que possuem carboidratos em sua parede celular que conseguem adsorver micotoxinas (Bretas, 2018; Maia *et al.*, 2021).

Colakoglu e Donmez (2012) avaliaram o efeito da intoxicação experimental com aflatoxinas em carneiros da raça Merino e o efeito do glucomanano esterificado (GE) como

adsorvente. No grupo controle e no que recebeu apenas o GE não foram observadas alterações histológicas em fígado (Figura 13 - A) e a taxa de gordura dos hepatócitos foi de 2,6% e 2,9%, respectivamente. No grupo que só recebeu aflatoxinas, a taxa de gordura foi de 35,5% e apresentaram alterações hepáticas específicas como degeneração vacuolar e hidrópica, hiperemia local, contração sinusoidal acentuada, hepatócitos com núcleos picnóticos e pigmentação ceróide em macrófagos (Figura 13 - B). Já no grupo que recebeu aflatoxinas e o adsorvente GE, a taxa de gordura dos hepatócitos correspondeu a 9,6% e a alteração observada foi a presença de infiltrado de células mononucleares em áreas portais (Figura 13 - C).

O experimento demonstrou que as aflatoxinas promovem danos histológicos hepáticos, mas o GE reduziu os efeitos da aflatoxicose. Em contrapartida, Rossi e colaboradores (2010) não observaram resultados significativos do uso do GE como adsorvente de aflatoxinas em frangos de corte, apesar de terem ocorrido redução nas lesões macroscópicas.

**Figura 13** - Cortes histológicos hepáticos de carneiros intoxicados experimentalmente por aflatoxinas e o efeito do glucomanano esterificado como adsorvente



Fonte: Colakoglu; Donmez, 2012.

No estudo de Rojo e colaboradores (2014) observaram que os adsorventes minerais de aluminossilicato reduziram significativamente a transferência de AFM1 para o leite em vacas holandesas alimentadas com dieta contaminada artificialmente com AFB1 e apresentaram eficiência superior aos glucomananos de paredes celulares de leveduras. Rezasoltani *et al.* (2022) utilizaram os probióticos *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus acidophilus* para desintoxicação de AFM1 em leite reconstituído e obtiveram bons resultados. Os autores obtiveram com *S. boulardii* um nível de desintoxicação de 97% e quando associaram aos outros probióticos, chegaram a 100% de desintoxicação. Já Zaghini *et al.* (2005) não observaram resultados significativos com o uso de *Saccharomyces cerevisiae* como adsorvente

em suínos experimentalmente intoxicados com AFB1, ressaltando que este resultado poderia estar relacionado com a dose utilizada e que são necessários mais estudos para afirmar a eficácia e a viabilidade de probióticos como adsorventes de aflatoxinas B1 e M1.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O leite e seus derivados são consumidos por indivíduos de todas as faixas etárias e a presença de aflatoxina nestes alimentos é uma questão de saúde pública importante. O fato de que as micotoxinas serem estáveis e resistentes aos processos de pasteurização e beneficiamento do leite torna-se ainda mais relevante o controle rigoroso na indústria alimentícia, para que estes metabólitos estejam dentro dos limites máximos tolerados e estipulados pela legislação vigente. Às implicações para a saúde única e importância econômica das aflatoxicoses, despertou a preocupação de autoridades internacionais de saúde, que desenvolveram leis que visam o controle destas toxinas e os limites máximos que podem estar presentes em cada alimento.

As aflatoxicoses são de difícil diagnóstico por apresentarem sinais clínicos e alterações laboratoriais inespecíficas, o que sugere estar sendo confundida com outras patologias que cursam com dano hepático e, conseqüentemente, sendo subdiagnosticada. Tendo em vista a hepatotoxicidade apresentada pelas aflatoxinas B1 e M1 aos organismos humanos e animais, tanto nos casos de intoxicações agudas, mas principalmente nas intoxicações crônicas, já que existe uma elevada associação de que indivíduos expostos e sensíveis desenvolvam o carcinoma hepatocelular, podendo ser letal. Torna-se relevante o estudo contínuo sobre a aflatoxicoses, implementação de estratégias de controle e prevenção que sejam aplicáveis e úteis, bem como a conscientização da população.

## REFERÊNCIAS

- ADEGBEYE, M. J.; REDDY, P. R. K.; CHILAKA, C. A.; BALOGUN, O. B.; ELGHANDOUR, M. M. M. Y.; RIVAS-CACERES, R. R.; SALEM, A. Z.M. Mycotoxin toxicity and residue in animal products: Prevalence, consumer exposure and reduction strategies – A review. **Toxicon**, v. 15, n. 177, p. 96-108, jan. 2020.
- ALSHANNAQ A.; YU JH. Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. **Int J Environ Res Public Health**, v. 14, n. 632, jun. 2017.
- AMORAS, E. S.; COSTA, A. L. P. Aflatoxicoses: uma revisão das manifestações clínicas em seres humanos e animais. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, Macapá, v. 4, n. 1, p. 47-53, 2021.
- ARRUDA, A. D.; BERETTA, A. L. R. Z. Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Araras, v. 51, n. 4, p. 286-289, dez., 2019.
- ASPLIN, F.D.; CARNAGHAN, R.B.A. The Toxicity of Certain Groundnut Meals for Poultry with Special Reference to Their Effect on Ducklings and Chickens. **Vet. Rec.**, 73, p. 1215–1219, 1961.
- ASAO, T.; BUCHI, G.; ABDEL-KADER, M.; CHANG, S.; WICK, E.; AND WOGAN, G. N. Aflatoxins B and G. **J. Am. Chem. Soc.** v. 85, p. 1706–1707, 1963.
- BANDO, E.; GONÇALES, L. N.; TAMURA, N. K.; MACHINSKI JUNIOR, M. Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas. **Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 3, p. 175-180, jun. 2007.
- BARNES, J.M.; BUTLER, W.H. Carcinogenic Activity of Aflatoxin to Rats. **Nature**. v. 202, n. 1016, 1964.
- BATTACONE, G.; PALOMBA, M.; USAI, M.G.; PULINA, G. Transfer of aflatoxin from feed to milk and curd in Sarda ewes with different milk production level. **ITAL.J.ANIM.SCI**. v. 2, n. 1, p. 530-532, 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 7**, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre Limites Máximos Tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Brasília, 2011. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 18 abr. 2023.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **RDC nº 274**, de 15 de outubro de 2002. Brasília, 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> Acesso em: 25 mai. 2023.
- BOLZAN, A. A.; SILVA, C. M.; FRANCESCATO, L. N.; MURARI, A. L.; SILVA, G. N. S.; HELDWEIN, C. G.; HEINZMANN, B. Espécies de *Senecio* na Medicina Popular da América Latina e Toxicidade Relacionada a sua Utilização. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 26, n. 4, p. 619-25, 2007.

- BLOUNT, W.P. Disease of turkey poult. **Vet. Rec.**, v. 72, n. 38, p.786, 1960.
- BRETAS, A.A. Inclusão de adsorventes de micotoxinas para leitões. **Revista CES Medicina Veterinário Y Zootecnia**, v.13, n.1, p.80-95, 2018.
- CARDOSO, M. S. M. P. **Determinação de Aflatoxina M1 em Leite Materno - Exposição Materna e dos Lactentes**. 2019. 80 f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2019.
- CARVALHO, E. C. Q. Micotoxinas e alimentos: implicações na saúde humana e animal. **Rev. Bras. Ci. Vet.**, v. 2, n. 1, p. 27-31, jan./abr. 1995.
- CARVALHO, L. I. C. **Aspergillus e aspergilose – desafios no combate da doença**. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.
- COLAKOGLU, F.; DONMEZ, H. H.; Effects of Aflatoxin on Liver and Protective Effectiveness of Esterified Glucomannan in Merino Rams, **The ScientificWorld Journal**, 2012.
- COSTAMAGNA, D.; GAGGIOTTI, M.; CHIERICATTI, C.A.; COSTABEL, L.; AUDERO, G.M.L.; TAVERNA, M.; SIGNORINI, M.L. Quantification of aflatoxin M1 carry-over rate from feed to soft cheese. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 782–787, 2019.
- CRISTO, D.; NIEHUES, J. R.; ADAM, C. T.; NAZÁRIO, A. C.; HAAS, P.. Exposição a aflatoxinas: fator de risco para câncer de fígado. **VITTALLE - Revista de Ciências da Saúde**, [S. 1.], v. 27, n. 1, p. 13–20, 2016. Disponível em: <https://periodicos.furg.br/vittalle/article/view/6080>. Acesso em: 18 dez. 2023.
- DHAKAL, A. HASHMI; M. F.; SBAR, E. Aflatoxin toxicity. **Treasure Island, FL: StatPearls**; 2023.
- EUROPEAN COMMISSION (EU), Commission Regulation No. 165/2010 of 26 February 2010, Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 **Setting maximum levels for certain contaminants in as regards aflatoxin**. Off J Eur Union L 50:8–12. Disponível em: <http://data.europa.eu/eli/reg/2010/165/oj>.
- FARIAS, A. X. et al. **Aflatoxinas M1 em leite: um risco para a saúde pública**. 1 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2005.
- FINOLI, C.; VECCHIO, A. Occurrence of aflatoxins in feedstuff, sheep milk and dairy products in Western Sicily. **ITAL.J.ANIM.SCI**. v. 2, p. 191-196, 2003.
- GALLAGHER, E. P.; KUNZE, K. L.; STAPLETON, P. L.; EATON, D. L. The Kinetics of Aflatoxin B1 Oxidation by Human cDNA-Expressed and Human Liver Microsomal Cytochromes P450 1A2 and 3A4. **Toxicology And Applied Pharmacology**, v. 141, n. 326, p. 595-606, 1996.

GOMES, M. A.; PRIOLLI, D. G.; TRALHÃO, J. G.; BOTELHO, M. F. Carcinoma hepatocelular: epidemiologia, biologia, diagnóstico e terapias. **Rev. assoc. med. bras.**, v. 59, n. 5, p. 514–524, 2013.

GONÇALEZ, E.; FELICIO, J.D.; PINTO, M.M.; ROSSI, M.H.; NOGUEIRA, J.H.C.; MANGINELLI, S. Ocorrência de aflatoxina m1 em leite comercializado em alguns municípios do estado de São Paulo. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.4, p.435-438, out./dez., 2005.

GONÇALEZ, E.; PINTO, M. M.; MANGINELLI, S.; FELICIO, J. D. Intoxicação de vacas leiteiras por farelo de algodão naturalmente contaminado com aflatoxinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p. 171-174, 2004.

GONG, Y. Y.; CARDWELL, K.; HOUNSA, A.; EGAL, S.; TURNER, P. C.; HALL, A. J.; WILD, C. P. Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in Young children from Benin and Togo: cross sectional study. **BMJ**, v. 325, jul. 2002.

GONZÁLEZ, J. J. P.; VEGA Y LEÓN, S.; TOLENTINO, R. G.; BERMÚDEZ, B. S. S.; SOLIS, F. I. M.; MEDINA, A. C. E. Presencia de aflatoxina B1 en alimentos para cabras en unidades de producción de leche caprina del altiplano mexicano. **Rev. Mex. Cienc. Pecuária**, v. 12, n. 2, p. 598-608, 2021.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em Alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, vol. 7, p.138-161, 2010.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins**. 1993. 521 p. (Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human, 56). Lyon, 1993.

JAFARI, T.; FALLAH, A. A.; KHEIRI, S.; FADAEI, A.; AMINI, S. A. Aflatoxin M1 in human breast milk in Shahrekord, Iran and association with dietary factors, **Food Additives & Contaminants: Part B**, 2017.

LANCASTER, M.C.; JENKINS, F.P.; PHILP, J.M. Toxicity Associated with Certain Samples of Groundnuts. **Nature**. 192, 1095–1096, 1961.

MAGNUSSEN, A.; PARSI M. A. Aflatoxins, hepatocellular carcinoma and public health. **World J Gastroenterol**, v. 19, n. 10, p. 1508-1512, 2013.

MAIA, K. M.; ALCALDE, C. R.; BARBOSA, M. A.; MARCATO, S. M. Micotoxinas e adsorventes na alimentação animal. **Ciência Animal**, v.31, n.4, p.82-91, 2021.

MARCHESE, S.; POLO, A.; ARIANO, A.; VELOTTO, S.; COSTANTINI, S.; SEVERINO, L. Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. **Toxins**, v. 10, n. 214, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. PORTARIA CONJUNTA SAES/SCTIE/MS Nº 18, DE 14 DE OUTUBRO DE 2022. **Carcinoma hepatocelular no adulto.**, Brasília, 2022.

- NESBITT, B.F.; O'KELLY, J.; SARGEANT, K.; SHERIDAN, A.N.N. Aspergillus Flavus and Turkey X Disease. Toxic Metabolites of Aspergillus Flavus. **Nature**. 1962, 195, 1062–1063.
- OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L.; Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Rev. Saúde Pública**, v. 31, n. 4, p. 417-424, 1997.
- OSWEILER, G. D. **Toxicologia Veterinária**. Trad. Eliane Maria Zanchet et al., - Porto Alegre: Artes Médicas, 1998.
- PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; LIMA, A. S.; MOREIRA, A. P. A. Occurrence Of Aflatoxin M1 In Parmesan Cheese Consumed In Minas Gerais, **Brazil. Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 32, n. 6, p. 1906-1911, nov./dez., 2008.
- PICKOVA, D.; OSTRY, V.; TOMAN, J.; MALIR, F. Aflatoxins: History, Significant Milestones, Recent Data on Their Toxicity and Ways to Mitigation. **Toxins**, v. 13, n. 399, 2021.
- PIEREZAN, F.; OLIVEIRA FILHO, J. C.; CARMO, P. M.; LUCENA, R. B.; RISSI, D. R.; TOGNI, M.; BARROS, C. S. L. Surto de aflatoxicose em bezerros no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 418-422, mai. 2010.
- REZASOLTANI, S.; EBRAHIMI, N. A.; BOROUJENI, R. K.; AGHDAEI, H. A.; NOROUZINIA, M. Detoxification of aflatoxin M1 by probiotics *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei*, and *Lactobacillus acidophilus* in reconstituted milk. **Gastroenterol Hepatol Bed Bench**, v. 15, n. 3, p. 263-270, 2022.
- ROJO, F.; MARTÍNEZ, S. P.; ESPINOZA, V. H. I.; VERA, M. A. N.; PALACIOS, E. L.; VELÁZQUEZ, W. P. R. Evaluación de adsorbentes para la reducción de aflatoxina M1 en leche de vacas alimentadas com dietas contaminadas artificialmente con AFB1. **Rev. Mex. Cienc. Pecuária**, v. 5, n. 1, p. 1-15, 2014.
- ROSSI, P.; RUTZ, F.; LIMA, G. J. M. M.; NUNES, J. K.; ANCIUTI, M. A.; MORAES, P. V. D.; SILVA, J. G. C.; SILVEIRA, M. H. D.; MAIER, J. C. Efeito do adsorbente a base de glucomamano esterificado no desempenho e caracterização visceral de frangos de corte. **R. Bras. Agrocência**, Pelotas, v. 16, n. 1-4, p. 91-100, jan-dez, 2010.
- SAMUEL, N.; EZRIB, Y.; FARAHA, R.; IGORE, V.; HUSSEINC, A.; RUBINSHTEINA, O.; ASSY, N. Acute Aflatoxicosis Resulting in Fulminant Hepatic Failure and Rhabdomyolysis. **Gastroenterology Research**, v. 2, p. 48-50, 2009.
- SARGEANT, K.; SHERIDAN, A.; O'KELLY, J.; CARNAGHAN, R.B.A. Toxicity Associated with Certain Samples of Groundnuts. **Nature**. 1961, 192, p. 1096–1097.
- SCHOENTAL, R. Liver Changes and Primary Liver Tumours in Rats given Toxic Guinea Pig Diet (M.R.C. Diet 18). **Br. J. Cancer**. 1961, 15, 812–815.



SERRA, R. M. A. **Micoflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação das uvas com micotoxinas, com destaque para a ocratoxina A**. Tese de doutoramento em Engenharia Química e Biológica, Universidade do Minho, Braga, 2005.

SIFUENTES DOS SANTOS, J.; FRANÇA, V. R.; KATTO, S.; SANTANA, E. H. W. Aflatoxina M1 em leite pasteurizado, UHT e leite em pó comercializados em Londrina, Brasil e estimativa de exposição. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 65, n. 3, p. 181-185, 2015.

SORIANO, J. M., RUBINI, A., MORALES-SUAREZ-VARELA, M., MERINO-TORRES, J. F., & SILVESTRE, D. Aflatoxins in organs and biological samples from children affected by kwashiorkor, marasmus and marasmic-kwashiorkor: A scoping review. **Toxicon**, v. 185, p. 174-183, 2020.

SOUZA SVC, VARGAS EA, JUNQUEIRA RG. Eficiência de um kit de ELISA na detecção e quantificação de aflatoxina M1 em leite e investigação da ocorrência no estado de Minas Gerais. **Food Sci Technol.**, v. 19, n. 3, p. 401-405, set., 1999.

TARAZONA-MANRIQUE, L. E., ANDRADE-BECERRA, R. J., & VARGAS-ABELLA, J. C. Frecuencia de la contaminación de leche cruda de vaca por aflatoxina M1 en tanques de enfriamiento en Boyacá, **Colombia. Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 23, n.2, 2022.

TROTTA, M. R. **Correlação entre a ingestão de aflatoxina B1, concentração sérica e urinária de AFB1-adutos e expressão hepática de marcadores moleculares, relacionados à hepatocarcinogênese em ratos**. Tese de doutorado – Universidade de São Paulo, Riberão Preto, 2016.

VAZ, A.; SILVA, A. C. C.; RODRIGUES, P.; VENÂNCIO, A. Detection Methods for Aflatoxin M1 in Dairy Products. **Microorganisms**. v. 8, n. 246, 2020.

VELDMAN, A.; MEIJS, J. A. C.; BORGGREVE, G. J.; HEERES-VAN DER TOL, J. J. Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. **Animal Production**, v. 55, p. 163-168, 1992.

VOTH-GAEDDERT, L. E.; STOKER, M.; TORRES, O.; OERTHER, D. B. Association of aflatoxin exposure and height-for-age among young children in Guatemala, **International Journal of Environmental Health Research**, 2018.

WILLIAMS, J. H.; PHILLIPS, T. D.; JOLLY, P. E.; STILES, J. K.; JOLLY, C. M.; AGGARWAL, D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. **American Society for Clinical Nutrition**, v. 80, p. 1106-1022, 2004.

WHO – World Health Organization. **Safety evaluation of certain mycotoxins in food**. FAO Food and Nutrition paper. Prepared by the Fifth and Sixth Meeting of the Joint FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives (JECFA). Geneva: World Health Organization, 2004.

ZAGHINI, A.; SARDI, L.; ALTAFINI, A.; RIZZI, L. Residues of aflatoxins B1 and M1 in different biological matrices of swine orally administered aflatoxin B1 and *Saccharomyces cerevisiae*. **ITAL.J.ANIM.SCI.**, v. 4, n. 2, p. 488-490, 2005.

ZUCCHI, T. D.; MELO, I. S. Controle Biológico de Fungos Aflatoxigênicos. Cap. 5. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 69-84.