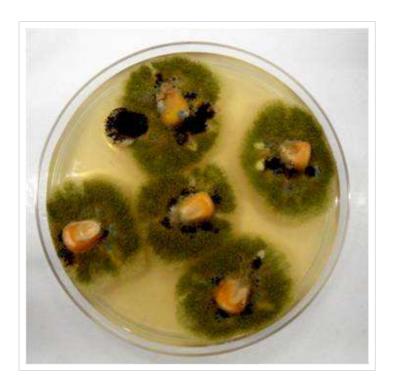
# **Microbiologia**

Portuguese Society for Microbiology Magazine

# Fungos produtores de micotoxinas

Posted on 30/07/2013 by cmanaia



Autores: Soares C, Abrunhosa L, Venâncio A (avenan@deb.uminho.pt)

## Fungos produtores de micotoxinas: impacto na segurança alimentar

As micotoxinas são metabolitos tóxicos secundários produzidos por alguns fungos filamentosos que surgem de forma natural em produtos agroalimentares em todo o Mundo. As mais relevantes para a segurança sanitária de alimentos são as aflatoxinas, a ocratoxina A, a patulina, as fumonisinas, a zearalenona e o desoxinivalenol, estando a sua presença em alimentos regulamentada. Estas micotoxinas são produzidas principalmente por espécies que pertencem aos géneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, sendo tóxicas para humanos e animais, quando ingeridas em pequenas quantidades. Podem ser carcinogénicas, mutagénicas, teratogénicas, citotóxicas, neurotóxicas, nefrotóxicas, estrogénicas e imunossupressoras. Este trabalho faz uma revisão dos principais fungos produtores destas micotoxinas, das condições em que podem ser produzidas e do seu impacto na segurança alimentar.

#### 8

#### Introdução

Em 1960, mais de 100 mil perus morreram em Inglaterra devido a uma intoxicação que foi acompanhada por um quadro de hemorragias internas e necrose hepática. Estudos posteriores mostraram que a morte destas aves se deveu à ingestão de farinha de amendoim contaminada com um metabolito tóxico produzido pelo fungo filamentoso *Aspergillus flavus* (Goldblatt, 1969). Esse composto depois de ter sido isolado e identificado foi denominado de aflatoxina. A partir daí, a implicação que as micotoxinas acarretam para a saúde humana e animal despertou a atenção da comunidade científica e o termo genérico micotoxina começou a ser utilizado.

As micotoxinas são, portanto, metabolitos secundários produzidos por fungos filamentosos que são tóxicos para humanos e animais, quando ingeridos ou inalados em pequenas quantidades. Estas são ubíquas em produtos agroalimentares, acabando por ser ingeridas involuntariamente, quando produtos de origem vegetal contaminados são consumidos. Por serem um contaminante natural, não é possível eliminar completamente a sua presenca dos alimentos, mas o seu nível pode e deve ser reduzido tanto quanto seja tecnologicamente possível, para que não representem risco para a saúde pública (Bennett & Klich, 2003). Por isso, a maior parte dos países adoptou legislação que estabelece limites máximos para a presença de certas micotoxinas em alimentos. Nos países desenvolvidos, a legislação em vigor é muito restritiva e os problemas de saúde mais comuns associados às micotoxinas estão relacionados com o aparecimento de tumores e a debilitação do sistema imunológico dos indivíduos, o que reduz a sua resistência a doenças infeciosas (FAO/IAEA, 2001). Nos países subdesenvolvidos, a exposição a micotoxinas ocorre com mais facilidade uma vez que as práticas agrícolas, os métodos de armazenamento e a legislação são inadequados (Wild & Gong, 2010). Nalguns destes países, continua a ocorrer morbilidade elevada e mortes prematuras entre a população humana devido à exposição a micotoxinas.

Atualmente, conhecem-se cerca de 400 micotoxinas mas apenas algumas destas são encontradas nos alimentos em quantidade suficiente para constituir um verdadeiro risco para a saúde pública (Bennett & Klich, 2003). As mais relevantes são as aflatoxinas (AFs), a ocratoxina A (OTA), a patulina (PAT), as fumonisinas (FUM), a zearalenona (ZEA) e o desoxinivalenol (DON), que se encontram todas legisladas a nível Europeu. Os principais efeitos tóxicos destas micotoxinas estão descritos na Tabela 1. A severidade dos mesmos depende grandemente das quantidades ingeridas, do tempo de exposição e das possíveis sinergias toxicológicas que podem advir da ingestão de diversas micotoxinas simultaneamente. Para além disso, a idade dos indivíduos, o sexo e o seu estado fisiológico pode influenciar a extensão dos seus efeitos tóxicos. Quando são ingeridas em grandes quantidades, estas podem levar à morte dos indivíduos (micotoxicoses).

**Tabela 1.** Efeitos tóxicos associados às micotoxinas, adaptado de Pitt and Hocking (2009) e CAST (2003).

Micotoxina	Efeitos tóxicos	Efeitos patológicos  Hiperplasia das vias biliares, hemorragias intestinais e renais, tumores no figado, hepatite aguda, cirrose hepática		
Aflatoxinas	Citotóxico, mutagénico, hepatotóxico, carcinogénico, teratogénico, imunossupressor			
Ocratoxina A	Citotóxico, nefrotóxico, teratogénico, hepatotóxico	Nefropatia endémica dos Balcãs, nefropatia intersticial crónica, enterite, nefropatia suína, tumores renais		
Patulina	Neurotóxico, genotóxico, teratogénico, imunossupressor,	Edema cerebral e pulmonar, Hemorragias pulmonares, danos nos capilares, paralisia dos nervos motores, convulsões		
Fumonisinas	Citotóxico, carcinogénico, teratogénico, hepatotóxico	Leucoencefalomalácia, edema pulmonar, cancro esofágico		
Zearalenona	Genotóxico, efeito estrogénico	Puberdade precoce, edema da vulva, prolapso vaginal, atrofía testicular e dos ovários, aumento das glândulas mamárias, abortos		
Desoxinivalenol	Imunossupressor, neurotóxico, genotóxico, teratogénico	Náuseas temporárias, vómitos (emesis), diarreia, dor abdominal, dor de cabeça, tonturas, febre, anorexia		

### **Fungos Produtores de Micotoxinas**

Os fungos produtores de micotoxinas podem colonizar os alimentos durante os períodos de pré-colheita, de colheita ou de armazenamento. A colonização e a contaminação com micotoxinas podem ocorrer em simultâneo, ou a produção de micotoxinas pode ocorrer numa fase posterior (Logrieco *et al.*, 2003). Normalmente, os requisitos ecofisiológicos para a produção de micotoxinas são mais restritos do que aqueles necessários ao crescimento fúngico. Tipicamente, os fungos de campo são aqueles que colonizam os alimentos durante a fase de pré-colheita. Estes crescem, habitualmente, a humidades relativas entre 70 a 90% e a temperaturas à volta dos 20 e 25 °C. Para um crescimento ativo necessitam de atividades da água (a<sub>w</sub>) superiores a 0,85; e, para um crescimento ótimo, aW perto de 0,99. Alguns exemplos destes fungos são os géneros *Alternaria*, *Cladosporium* e *Fusarium*. Por outro lado, fungos que surgem durante a fase de armazenamento das culturas agrícolas estão geralmente melhor adaptados a baixas a<sub>w</sub> e a temperaturas mais elevadas. Neste caso, os géneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os seus maiores representantes. A aW mínima tolerada pela maioria das suas espécies é de 0,75-0,85 mas para o seu crescimento ótimo é de 0,93-0,98 (Magan, 2006).

## **Aflatoxinas**

As principais aflatoxinas são quatro, aflatoxina  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  e  $G_2$ . A mais abundante e mais tóxica é a aflatoxina  $B_1$  (AFB<sub>1</sub>), que é considerada o composto natural mais carcinogénico que se conhece. Encontram-se principalmente nos amendoins, no milho, nas oleaginosas, nas especiarias e nos frutos secos. As espécies produtoras pertencem na sua maioria ao género *Aspergillus* e à secção *Flavi*. As mais importantes são *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus nomius* (Rodrigues *et al.*, 2009). *A. flavus* é ubíquo estando adaptado a uma grande variedade de climas, habitats e substratos. Surge sobretudo associado às culturas do amendoim, milho e sementes de algodão. São produtores exclusivos das aflatoxinas Bs e

só cerca de 40% das estirpes são micotoxigénicas (Frisvad *et al.*, 2006). Por outro lado, *A. parasiticus* possui uma distribuição geográfica mais restrita e é sobretudo encontrado em amendoins. Neste caso, praticamente todas as estirpes são produtoras de AFs, produzindo ambas as séries (B e G). Culturas aéreas como a de milho são infetadas predominantemente por *A. flavus* enquanto culturas rasteiras como a dos amendoins ou frutos secos, que entrem em contacto com o solo, são susceptíveis à contaminação por *A. flavus* e *A. parasiticus* em simultâneo (Horn, 2005). *A. nomius* é pouco comum, ocorre sobretudo em países tropicais associado ao milho e à castanha do Pará (Olsen *et al.*, 2008). No entanto, a sua ocorrência pode estar subavaliada, uma vez que se suspeita que muitos isolados são incorretamente identificados como *A. flavus* ou *A. parasiticus* (Frisvad *et al.*, 2006). Existem outras espécies produtoras menos relevantes pois são pouco comuns nos alimentos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Principais espécies micotoxigénicas e alimentos afetados (Varga *et al.*, 2003; Frisvad *et al.*, 2005; Frisvad *et al.*, 2007; Puel *et al.*, 2010; Varga *et al.*, 2011; Mogensen *et al.*, 2011; Soares *et al.*, 2012; Mogensen, 2012).

Micotoxina	Espécies	Alimento			
Aflatoxinas	A. flavus	Amendoins, frutos secos, milho, cereais, café, olcaginosas			
	A. parasiticus	Amendoins			
	A. nomius	Milho, castanha do Pará			
Fontes men	os relevantes				
		ae, A. minisclerotigenes, A. ochraceoroseus,			
	A. parvisclerotigenus, A. pseudocaelatus, A. pseudonomius, A. pseudotamarii, A. rambellii, A. sergii, A. toxicarius, A. transmontanensis, Emericella astellata, E. venezuelensis				
Ocratoxina A	P. verrucosum	Cereais			
	A. westerdijkiae	Café, frutos secos			
	A. carbonarius	Uvas, vinho, sumos de uva, uva passas			
	A. niger	Uvas, vinho, sumos de uva, uva passas, milho			
	P. nordicum	Produtos cárneos			
	Petromyces alliaceus	Figos secos			
	A. steynii	Grãos de café verde, soja, arroz			
	Company of the control of the contro	COLUMN TO THE TAXABLE PROPERTY OF THE SAME SECTION			
Fontes men	os relevantes	A manuda alamana A salamata anno			
	Aspergillus cretensis, A. flocculosus, A. roseoglobulosus, A. sulphureus, A.				
	A. roseogiobulosus, A. sulptureus, A. Neopetromyces muricalus, Petromyces	- CONTROL - CONT			
95 J. 1895 15					
Patulina	P. expansum	Maçã, pera, frutas em geral			
	A. clavatus	Cereais, milho, pão, frutos secos			
	P. carneum	Enchidos, queijo, produtos cárneos			
	P. griseofulvum	Cereais			
Fontes men	os relevantes				
	A. giganteus, A. longivesica, P. clavig				
	P. dipodomyicola, P. glandicola, P. gl				
	P. sclerotigenum, P. vulpinum, Byssoc	hlamys nivea, Paecilomyces saturatus			
Fumonisinas	F. verticillioides	Milho			
	F. proliferatum	Milbo			
	F. globosum	Milho			
Fontes men	os relevantes				
	Fusarium acutatum, F. andiyazi, F. a	ınthophilum, F. begoniae, F. brevicatenilatur			
	F. dlamini, F. equiseti, F. fujikuroi, F.	globosum, F. lactis, F. napiforme, F. nygama			
	F. oxysporum, F. phyllophilum,	F. polyphialidicum, F. pseudocircinatur			
	F. pseudonygamai, F. ramigenum,				
		um, Tolypocladium cylindrosporum, T. geode			
	T. inflatum				
Docovinivalanal	F. graminearum	Milho, cereais			
Desoxinivalenel		Cereais			
Desoxinivalenol	F. culmorum				
Company of the Express Court					
Company of the Express Court	r. cumorum  os relevantes F. pseudograminearum				
Company of the Express Court	os relevantes F. pseudograminearum	Milho, cereais			
Fontes men	os relevantes	Milho, cereais Milho, cereais			
Fontes mene Zearalenona	os relevantes F. pseudograminearum F. graminearum	Milho, cereais			

## Ocratoxina A

A OTA pode encontrar-se no café, vinho tinto e frutos secos mas a sua principal fonte são os cereais e os seus derivados (Jørgensen *et al.*, 1996). É produzida principalmente por *Penicillium verrucosum, Aspergillus westerdijkiae* (previamente conhecido como *A. ochraceus*) e *A. carbonarius*. Outro fungo produtor é o *Aspergillus niger*. Esta última espécie, apesar de

ser uma espécie ubíqua e muito comum em produtos como as uvas e o grão de café verde, produz OTA em pequena quantidade e só uma pequena percentagem das estirpes é produtora. Mais relevante é o *A. carbonarius*, que é apontado como a principal fonte de OTA em produtos derivados de uvas como os vinhos, os sumos de uva e as uvas passas (Frisvad *et al.*, 2006). Está também associado à presença de OTA no café. A incidência desta espécie nestes produtos é baixa mas todas as estirpes são produtoras de OTA em grandes quantidades. Nos cereais, a principal fonte de OTA é o *P. verrucosum*, que ocorre principalmente nas culturas de centeio e trigo das zonas temperadas. *A. westerdijkiae* ocorre sobretudo em cereais armazenados, café e frutos secos, é uma das principais fontes de OTA (Pitt, 2000). Outras fontes menos relevantes são *Penicillium nordicum*, que ocorre quase exclusivamente em produtos cárneos, *Petromyces alliaceus*, que ocorre frequentemente em figos secos, e *Aspergillus steynii*, que pode ocorrer em grãos de café verde, soja e arroz (Frisvad *et al.*, 2006).

#### **Patulina**

A patulina é uma micotoxina que ocorre sobretudo em maçãs e produtos alimentares derivados destas como sumos ou purés. O seu principal produtor é *P. expansum* que possui uma relação ecológica muito próxima com estes frutos, causando a sua podridão. Peras, alperces, pêssegos, uvas e alguns vegetais frescos são também susceptíveis a contaminação por *P. expansum*. Existem muitos outros produtores distribuídos pelos géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Byssochlamys* e *Paecilomyces* mas o seu impacto nos alimentos é residual. Como para outras micotoxinas, estão reportadas na literatura inúmeras espécies produtoras, mas revisões recentes concluíram que o seu número é de facto bem menor (Tabela 2).

### **Fumonisinas**

As FUM dividem-se em vários grupos estruturais distintos. As mais relevantes pertencem à serie B. A fumonisina B1 (FB1) é de todas a mais abundante pois representa cerca de 70% do total das fumonisinas produzidas por *Fusarium verticillioides* (antigamente *Fusarium moniliforme* = *Gibberella fujikuroi*) e *F. proliferatum*. Estas duas espécies ocorrem no milho um pouco por todo o mundo, sendo a principal fonte de FUM neste produto. As FUM encontram-se quase exclusivamente no milho e pontualmente no trigo, centeio, painço, sorgo, chá e arroz. *F. verticillioides* e *F. proliferatum* crescem a diversas temperaturas (entre 4 e 37 °C com ótimo a 30 °C) mas apenas a atividades de água elevadas (superiores a 0.9 a<sub>W</sub>) (Magan & Olsen, 2004). Por isso, estão predominantemente associados a contaminações pré-colheita e não constituem grande perigo para os alimentos na fase de armazenamento ao contrário das espécies de *Aspergillus* ou de *Penicillium*. Recentemente demonstrou-se que *A. niger* também pode produzir fumonisina B2 (FB2) (Frisvad *et al.*, 2007), o que aumenta o risco de contaminação em produtos armazenados. No entanto, a extensão do seu impacto ainda é pouco conhecida. Outras espécies produtoras menos relevantes estão descritas na Tabela 2.

## Desoxinivalenol

O desoxinivalenol (DON) é um tricoteceno encontrado com frequência em milho, aveia, cevada, centeio, sementes de girassol e trigo. Os tricotecenos constituem uma família de cerca de 200 metabolitos produzidos principalmente por espécies do género *Fusarium*.

Fusarium graminearum e F. culmorum são as principais fontes de DON, ocorrendo

predominantemente no milho e cereais. Estas espécies têm diferentes temperaturas ótimas de crescimento (25 e 21 °C, respetivamente) o que influencia a sua distribuição geográfica. *F. culmorum* é predominante nos territórios mais frios e *F. graminearum* nas zonas mais temperadas. Estes fungos têm ainda a particularidade de produzir outros tricotecenos como 15-acetildesoxinivalenol, 3-acetildesoxinivalenol, nivalenol, 4-acetilnivalenol e fusarenona-X, o que acarreta riscos toxicológicos acrescidos. Devido a esta diversidade metabólica, presentemente considera-se que *F. graminearum* é um complexo de 9 espécies com várias linhagens e vários quimiotipos distintos (O´Donnell *et al.*, 2004). Nos países desenvolvidos, onde os cereais são secos para humidades inferiores a 14%, de modo a prevenir o crescimento de fungos, o DON surge principalmente no campo. No entanto, esta micotoxina também pode ser produzida durante o armazenamento em países onde o controlo da humidade é menos rigoroso. A produção de DON nos campos depende na sua maioria das condições climatéricas, sendo favorecida por baixas temperaturas e alta humidade.

#### Zearalenona

A ZEA é uma das micotoxinas mais comuns produzidas por espécies de *Fusarium* (Bennett & Klich, 2003). *F. graminearum* e *F. culmorum* são os seus principais produtores, dada a sua alargada distribuição nas culturas de milho, aveia, centeio, trigo, sorgo e cevada em regiões temperadas da América, Europa e Ásia. Esta micotoxina ocorre em simultâneo com o DON nestas culturas pois são produzidas pelos mesmos fungos, mas a ZEA é geralmente encontrada em menores quantidades do que o DON (Krska *et al.*, 2003). Tal como para o DON, a produção de ZEA ocorre principalmente antes da colheita. No entanto, pode ser também produzida após a colheita se os grãos não forem secos e armazenados corretamente.

### Conclusão

A contaminação dos produtos alimentares por fungos e a posterior contaminação com micotoxinas é uma preocupação que não pode ser ignorada. A eliminação completa da presença de ambos não é possível e, por esta razão, é essencial conhecer a diversidade e incidência de espécies micotoxigénicas, tanto no campo como no armazenamento, de modo a se poder reduzir o risco de contaminação.

## Referências

Bennett, J. W. and Klich, M. 2003. Mycotoxins. Clin Microbiol Rev. 16:497-516.

CAST. 2003. Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human systems. Council for Agriculture Science and Technology, CAST, Ames, Iowa, USA.

FAO/IAEA. 2001. Manual on the application of the HACCP system in mycotoxin prevention and control, p. 2. Food and Nutrition Division, FAO, Rome, Italy.

Frisvad, J. C., Smedsgaard, J., Samson, R. A., Larsen, T. O. and Thrane, U. 2007. Fumonisin B<sub>2</sub> production by *Aspergillus niger*. *J Agric Food Chem*. 55:9727-9732.

Frisvad, J. C., Thrane, U., Samson, R. A. and Pitt, J. I. 2006. Important mycotoxins and the fungi which produce them. *Adv Food Mycol*. 571:3-31.

Frisvad, J. C., Skouboe, P. and Samson, R. A. 2005. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. *Syst Appl Microbiol*. 28:442-453.

Goldblatt, L. A. 1969. Aflatoxin: scientific background, control, and implications. Academic Press, New York, USA.

Horn, B. W. 2005. Colonization of wounded peanut seeds by soil fungi: selectivity for species from *Aspergillus* section *Flavi. Mycologia*. 97:202-217.

Jørgensen, K., Rasmussen, G. and Thorup, I. 1996. Ochratoxin A in Danish Cereals 1986-1992 and Daily Intake by the Danish Population. *Food Addit Contam.* 13:95-104.

Krska, R., Pettersson, H., Josephs, R. D., Lemmens, M., Mac Donald, S. and Welzig, E. 2003. Zearalenone in maize: stability testing and matrix characterisation of a certified reference material. *Food Addit Contam.* 20:1141-1152.

Logrieco, A., Bottalico, A., Mule, G., Moretti, A. and Perrone, G. 2003. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *Eur J Plant Pathol.* 109:645-667.

Magan, N. 2006. Mycotoxin contamination of food in Europe: Early detection and prevention strategies. *Mycopathologia*. 162:245-253.

Magan, N. and Olsen, M. 2004. Mycotoxins in food: Detection and control. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England.

Mogensen, J. M. 2012. Significance and occurrence of fumonisins from *Aspergillus niger*. Center for Microbial Biotechnology, Department of Systems Biology, Technical University of Denmark. Available at: http://orbit.dtu.dk/services/downloadRegister/52203032 /F\_rdig\_afhandling1.pdf

Mogensen, J. M., Moller, K., Freiesleben, P., Labuda, R., Varga, E., Sulyok, M., Kubátová, A., Thrane, U., Andersen, B. and Nielsen, K. 2011. Production of fumonisins B<sub>2</sub> and B<sub>4</sub> in *Tolypocladium* species. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 38:1329-1335.

Olsen, M., Johnsson, P., Möller, T., Paladino, R. and Lindblad, M. 2008. *Aspergillus nomius*, an important aflatoxin producer in Brazil nuts? *World Mycotoxin J.* 1:123-126.

O'Donnell, K., Ward, T. J., Geiser, D. M., Corby Kistler, H. and Aoki, T. 2004. Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. *Fungal Genet Biol.* 41:600-623.

Pitt, J. I. 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. Br Med Bull. 56:184-192.

Pitt, J. I. and Hocking, A. D. 2009. Fungi and Food Spoilage, 3 edition. Springer, New York, USA.

Puel, O., Galtier, P. and Oswald, I. P. 2010. Biosynthesis and toxicological effects of patulin. *Toxins*. 2:613-631.

Rodrigues, P., Venâncio, A., Kozakiewicz, Z. and Lima, N. 2009. A polyphasic approach to the identification of aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus* Section *Flavi* isolated from Portuguese almonds. *Int J Food Microbiol*. 129:187-193.

Soares, C., Rodrigues, P., Peterson, S. W., Lima, N. and Venâncio, A. 2012. Three new species of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from almonds and maize in Portugal. *Mycologia*. 104:682-697.

Varga, J., Frisvad, J. C. and Samson, R. A. 2011. Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi. Stud Mycol.* 69:57-80.

Varga, J., Rigó, K., Toth, B., Téren, J. and Kozakiewicz, Z. 2003. Evolutionary relationships among *Aspergillus* species producing economically important mycotoxins. *Food Tech Biotechnol.* 41:29-36.

Wild, C. P. and Gong, Y. Y. 2010. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinog.* 31:71-82.

## Afiliação e agradecimentos

C. Soares, L. Abrunhosa, A. Venâncio

IBB, Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal; Tel.: +351-253604413; Fax: +351-253604429.

## www.uminho.pt

Os autores agradecem à Fu	undação para a C	Ciência e a	Tecnologia	(FCT) pelo	apoio f	inanceiro
através do projeto FCT PEs	st-OE/EQB/LA00	23/2011.				

. ,	