

ASPECTOS RELACIONADOS À OCORRÊNCIA E MECANISMO DE AÇÃO DE FUMONISINAS

OCCURRENCE AND FUMONISINS PATHOPHYSIOLOGY-REVIEWS

Claudia Rodrigues Pozzi¹ Juliana Rodrigues Pozzi Arcaro²
Irineu Arcaro Júnior³ Helena Fagundes⁴ Benedito Corrêa⁵

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

As fumonisinas são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium*, um dos principais fitopatógenos de grãos de milho. Isoladas em 1988, a partir de amostras de milho mojado proveniente de região com alta incidência de câncer do esôfago na África, foram relacionadas à ocorrência de leucoencefalomalácia equina e hidrotórax e edema pulmonar suíno, e outras patologias animais. A presente revisão aborda aspectos da ocorrência natural das fumonisinas em grãos de milho, características físico-química das moléculas e efeitos toxicológicos em equinos, suínos, aves e bovinos, além do provável mecanismo de ação das micotoxinas.

Palavras-chave: *Fumonisinas, F.verticillioides (Sacc.) Nirenb.*

SUMMARY

Fumonisins are micotoxins produced by a fungus of the genera Fusarium, one of the main fitopathogens that occur in maize. Isolated in 1988, from mouldy corn samples in a high incidence area of esophageal cancer in Africa, fumonisins are related with several diseases including equine leucoencephalomalacia and porcine pulmonary edema and hydrothorax. The present review approaches the natural occurrence of fumonisins in maize, its physical and quimical molecular characteristics and toxicological effects in horses, porcine, poultry and cattle. This review also discusses the micotoxins pathophysiology.

Key words: *Fumonisins, F.verticillioides (Sacc.) Nirenb.*

INTRODUÇÃO

Os fungos filamentosos produzem uma imensa diversidade de metabólitos secundários, como pigmentos, antibióticos, fitotoxinas além de compostos tóxicos, denominados de micotoxinas. Quando produzidos em associação com os alimentos, ração animal e forragens, os metabólitos tóxicos podem ser ingeridos pelo homem e animais, provocando as micotoxicoses (MOSS, 1991)

O mais conhecido episódio de micotoxicose ocorreu em 1960, na Inglaterra, quando a torta de amendoim importada do Brasil foi responsabilizada como causadora da “Doença X dos perus”. Desta torta, foi obtido um extrato clorofórmico que, ao ser administrado a marrecos jovens, foi capaz de reproduzir as lesões hepáticas semelhantes à doença original, sendo a toxina denominada de *A. flavus* toxin ou aflatoxina (ALLCROFT *et al.*, 1961; ALLCROFT & CARNAGHAM, 1962)

¹Médico Veterinário, Pesquisador Científico IV, Doutor, Centro de Nutrição e Alimentação Animal, Instituto de Zootecnia, 13460-000, Nova Odessa, SP. E-mail:pozzi@izsp.br. Autor para correspondência.

²Médico Veterinário, Pesquisador Científico III, Mestre, Centro de Nutrição e Alimentação Animal, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP.

³Zootecnista, Pesquisador Científico IV, Doutor, Centro de Etologia e Ambiente, Instituto de Zootecnia.

⁴Médico Veterinário, bolsista Fapesp, Instituto de Zootecnia.

⁵Biomédico, Livre Docente, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

Em decorrência dos grandes esforços da comunidade científica internacional, desde 1960 a micotoxologia tem sido desenvolvida e novas micotoxinas vêm sendo isoladas e caracterizadas, especialmente as fusariotoxinas, micotoxinas produzidas pelo gênero *Fusarium*, dentre as quais se destacam as fumonisinas, que assim como as aflatoxinas, podem ser consideradas de ocorrência mundial.

As espécies do gênero *Fusarium* são citadas por MILLS (1989) como as principais invasoras de grãos de milho no campo, causando inclusive várias doenças, como a podridão de sementes e colmo. O pesquisador alerta que estas espécies, que invadem a planta no campo, também podem ser encontradas no armazenamento, caso as condições de temperatura e umidade sejam adequadas. O *Fusarium verticillioides* (Sacc.) *Nirenb.* é o fungo mais freqüente em grãos de milho recém colhidos, com níveis de contaminação de até 100%. No Brasil, algumas espécies do gênero *Fusarium* já foram isoladas do milho e outros substratos procedentes de vários Estados brasileiros, com predominância do *F. verticillioides* (Sacc.) *Nirenb.* (ASEVEDO *et al.*, 1994; POZZI *et al.*, 1995; ORSI *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2001).

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS FUMONISINAS

As fumonisinas são metabólitos fúngicos secundários produzidos por *Fusarium verticillioides* (Sacc.) *Nirenb.* (GELDERBLOM *et al.*, 1988; BEZUIDENHOUT *et al.*, 1988). Porém, outras espécies do gênero *Fusarium* também são produtoras de fumonisinas: *Fusarium proliferatum* (ROSS *et al.*, 1990), *Fusarium nygamai* (THIEL *et al.*, 1992), *Fusarium anthophilum*, *Fusarium dlamini* e *Fusarium napiforme* (NELSON, 1992), *Fusarium subglutinans* (SCOTT, 1993), *Fusarium polyphialidicum* (ABBAS & OCAMB, 1995), *Fusarium oxysporum* (AH SEO & WON LEE, 1999).

As fumonisinas são moléculas estruturalmente relacionadas e, até o momento, 16 foram isoladas e caracterizadas: Fumonisina B₁ (FB₁), FB₂, FB₃, FB₄, A₁, A₂, A₃, AK₁, C₁, C₃, C₄, P₁, P₂, P₃, PH_{1a}, PH_{1b} (MUSSER & PLATTNER, 1997; AH-SEO & WON LEE, 1999). As análises de ressonância nuclear magnética e espectrometria de massa revelaram que a fumonisina B₁ é um diéster de propano 1, 2, 3 - ácido tricarbóxico e 2 - amino - 12, 16 dimetil - 3, 5, 10, 14, 15 - pentahidroxicosano em que nos C₁₄ e C₁₅ os grupos hidroxilas são esterificados com o grupo carboxiterminal de propano 1, 2, 3 - ácido tricarbóxico (BEZUIDENHOUT *et al.*, 1988).

As fumonisinas chamadas de FB₁ e FB₂ foram isoladas de cepa *F. verticillioides* (Sacc.) *Nirenb.* causadora de leucoencefalomalácia equina por GELDERBLOM *et al.* (1988). As estruturas químicas das moléculas foram elucidadas por BEZUIDENHOUT *et al.* (1988). As fumonisinas B₃ e B₄, bem como os seus produtos de hidrólise (série "HB"), foram caracterizadas por CAWOOD *et al.* (1991), as fumonisinas da série "A" por BEZUIDENHOUT *et al.* (1988) e da série "C" por BRANHAM & PLATTNER (1993).

As fumonisinas são moléculas fortemente polares, solúveis em água e em acetonitrila-água e insolúveis em solventes orgânicos. A hidrólise das fumonisinas, através do aquecimento com ácido hidrocloreto 6 M ou hidróxido de potássio 0,05 e 2 M produz ácido tricarbóxico e o aminopolíol correspondente (SCOTT, 1993).

OCORRÊNCIA NATURAL DAS FUMONISINAS

Das fumonisinas identificadas até aqui, as FB₁, FB₂ e FB₃ são as mais isoladas em alimentos naturalmente contaminados, sendo que a FB₁ é quase sempre a mais abundante, representando cerca de 70% da concentração total das fumonisinas detectadas (SYDENHAM *et al.*, 1991; THIEL *et al.*, 1991).

A primeira descrição sobre a ocorrência natural de FB₁ foi realizada por SYDENHAM *et al.* (1990) a partir de milho mofado colhido de uma área em Transkei, Sul da África, que apresentava alta incidência de câncer de esôfago em humanos. Os níveis detectados nas amostras variavam de 44 a 83 µg/g. O milho proveniente de algumas regiões da África, com histórico da doença, apresentaram altos níveis de contaminação (117 µg/g), segundo análises realizadas por THIEL *et al.* (1992).

As fumonisinas causam leucoencefalomalácia em equinos (LEME) (MARASAS *et al.*, 1988), edema pulmonar e hidrotórax em suínos (HARRINSON *et al.*, 1990), hepatotoxicidade e hepatocarcinogenicidade em ratos (GELDERBLOM *et al.*, 1991), provável câncer de esôfago em humanos (SYDENHAM *et al.*, 1990) e leucoencefalomalácia em coelhos (BUCCI *et al.*, 1996). Os níveis de FB₁ detectados em alimentos associados à ocorrência de LEME na África do Sul e Estados Unidos chegaram a 8850 ng/g, 7700 ng/g e 7200 ng/g, conforme relatos de SHEPHARD *et al.* (1990), WILSON *et al.* (1990), THIEL *et al.* (1991), respectivamente.

WILSON *et al.* (1990) correlacionaram a ocorrência de fumonisinas com o diagnóstico de LEME, na África do Sul, analisando amostras de

milho mofado com concentrações de FB₁ que variavam de 37 a 122µg/g. Neste mesmo ano, PLATTNER *et al.* (1990) e SHEPHARD *et al.* (1990) também detectaram FB₁ e FB₂ em amostras de milho destinado a equinos que apresentaram quadro típico de LEME nos Estados Unidos e África do Sul, respectivamente.

No Brasil, são freqüentes os relatos de leucoencefalomalácia equina (RIET-CORRÊA *et al.*, 1982; HIROOKA *et al.*, 1988; HIROOKA *et al.*, 1991; HIROOKA & YAMAGUCHI, 1994; MEIRELLES *et al.*, 1992; MEIRELLES *et al.*, 1994). As primeiras citações sobre a detecção FB₁ e surtos de LEME ocorridos no país foram realizados por (MEIRELLES *et al.*, 1991; HIROOKA *et al.*, 1991; YAMAGUCHI *et al.*, 1992; HIROOKA *et al.*, 1996).

As fumonisinas foram detectadas naturalmente em vários tipos de alimentos, principalmente o milho e derivados, em vários países (Canadá, Egito, Peru, África do Sul, EUA), indicando a exposição do homem às micotoxinas em até 3µg/g (SYDENHAM *et al.*, 1991). Nos Estados Unidos, ROTTINGHAUS *et al.* (1992) encontraram concentrações de FB₁ entre 0,1 a 5,0µg/g em 15% das amostras de milho analisadas. Em outro trabalho, amostras de farelo de milho provenientes da mesma região produtora, os níveis detectados foram de até 2,8µg/g (HOLCOMB *et al.*, 1993).

No Brasil, YAMAGUCHI *et al.* (1992) analisaram 39 lotes de milho colhidos na safra de 1990 e 1991, provenientes de quatro regiões produtoras no Estado do Paraná. A análise de fumonisinas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi positiva em 97,4% das amostras para FB₁ e 4,8% para FB₂. As concentrações das micotoxinas detectadas no milho variaram, conforme a região, de 0,6 a 12,6 µg/g para FB₁ e 0,0 a 10,4µg/g para FB₂.

HIROOKA *et al.* (1996) analisaram 48 amostras de milho no Estado do Paraná e nove no Mato Grosso do Sul e Goiás, colhidas entre 1990 e 1991. Os pesquisadores detectaram fumonisinas em todas as amostras colhidas no Paraná, com níveis que variavam, de acordo com a região, de 3,25 a 4,79µg/g de FB₁ e 2,34 a 3,45µg/g para FB₂. Com exceção de uma amostra proveniente do Estado de Goiás, as outras provenientes da região Central do Brasil também estavam contaminadas com FB₁ e FB₂ (5,45 e 5,0µg/g, respectivamente). Já no Rio Grande do Sul, MALLMANN *et al.* (1997) analisaram 169 amostras de alimentos entre os anos de 1996 e 1997 e verificaram a contaminação por fumonisinas em 47,1% das amostras de milho, com concentração média de 8,4µg/g.

Estudos realizados por ORSI *et al.* (2000) mostraram a ocorrência natural de fumonisinas em 195 amostras de híbridos de milho no Estado de São Paulo, sendo 90,2% delas positivas para FB₁ e 97,4% para FB₂. Os índices médios de contaminação foram de 9,72µg/g de FB₁ e 7,67µg/g de FB₂. Diferenças regionais na concentração de fumonisina foram encontradas quando o mesmo milho híbrido foi analisado no Estado do Paraná, indicando interferências climáticas na predominância de linhagens toxigênicas de *Fusarium* ONO *et al.* (2001)

EFEITOS BIOLÓGICOS DAS FUMONISINAS

A Leucoencefalomalácia equina (LEME) é uma doença não infecciosa esporádica e altamente fatal que afeta o SNC de cavalos e outros equídeos. A LEME foi descrita no início do século por BUCLEY & McCALLUM (1901) e caracterizada por encefalite hemorrágica aguda acometendo os equinos de Maryland (EUA). BUTLER (1902) foi quem confirmou experimentalmente a doença, após a administração oral de milho mofado a equinos. Em 1971, WILSON & MARANPOT (1971) conseguiram reproduzir experimentalmente a doença através da administração oral a equinos de milho contaminado artificialmente com *Fusarium Verticillioides (Sacc.) Nirenb.*, isolados de cereal envolvido com surto da doença no Egito. No Brasil a doença foi descrita pela primeira vez em São Paulo por REGO (1950), entretanto a relação entre LEME e *Fusarium verticillioides (Sacc.) Nirenb.* foi estabelecida por RIET-CORREA *et al.* (1982) quando da descrição de três surtos da toxicose no Rio Grande do Sul.

Em 1988, após a descoberta das fumonisinas, realizada por GELDERBLUM *et al.* (1988), MARASAS *et al.* (1988) conseguiram reproduzir experimentalmente a LEME em equino que recebeu 0,125mg/kg PV de FB₁ purificada por via endovenosa durante nove dias (dose total: 276mg). Os sinais clínicos da micotoxicose tornaram-se aparentes no 8º dia após a inoculação e consistiam de apatia, tremores musculares, parestia do lábio inferior e língua, convulsões tetânicas e morte. À necropsia, foram observados edema cerebral acentuado e necrose focal bilateral da medula oblonga. As alterações bioquímicas observadas no soro sanguíneo foram pequena elevação das enzimas aspartato transferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT).

A confirmação do papel da FB₁ pura na apresentação dos sintomas foi realizada por KELLERMAN *et al.* (1990). Neste trabalho, os

autores induziram LEME através da administração oral de FB₁ a dois eqüinos, sendo que um deles recebeu FB₁ (50% de pureza) em 21 doses de 1,25mg a 4mg/kg /PV durante período de 33 dias (dose total de 8,925g) e o outro animal recebeu 1 a 4mg/kg/PV de FB₁ pura durante 24 dias (dose total de 8,417g). Entre o 24^o e o 30^o dias após a dosificação oral, os animais desenvolveram sinais neurotóxicos que incluíam alterações no comportamento, incoordenação, paralisia dos lábios e língua e tremores musculares. Após a eutanásia, realizada no início do aparecimento dos sinais, os autores observaram lesões típicas da doença com a presença de necrose cavitária ou amolecimento da substância branca de ambos hemisférios cerebrais.

Em suínos, o consumo de milho contaminado por *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenb. na safra de 1989, nos EUA, levou ao aparecimento de uma doença caracterizada por severo edema pulmonar e hidrotórax. HARRISON *et al.* (1990) colheram milho de duas fazendas, onde 34 suínos adultos morreram de edema pulmonar, cinco dias após o consumo de alimento contaminado. Um fungo morfológicamente idêntico ao *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenb. foi isolado e teores de 105 a 155mg/kg de FB₁ foram detectados no alimento. As alterações patológicas observadas nos animais mortos indicavam edema pulmonar e hidrotórax. No mesmo estudo, os autores injetaram, por via endovenosa, FB₁ purificada em dois animais nas doses de 0,4 a 0,174mg/kg pc. O animal que recebeu a maior dose morreu no 5^o dia após a inoculação, com lesões típicas de edema pulmonar.

O aparecimento de lesões e sinais clínicos nos suínos está relacionado à quantidade de toxina ingerida e dias de consumo (HASCHEK *et al.*, 1992). Os sinais clínicos que incluem inapetência, depressão, icterícia e síndrome hepática ocorrem cinco dias após a ingestão de ração contaminada com 20µg/g de FB₁. A taxa de mortalidade pode estar em torno de 50% (OSWEILER *et al.*, 1992). Observa-se aumento dos níveis sanguíneos de colesterol, bilirrubina e das atividades das enzimas aspartato aminotransferase e gama glutamiltranspeptidase (OSWEILER *et al.*, 1992; MOTELIN *et al.*, 1994). A morte de suíno intoxicado ocorre normalmente poucas horas após o início da apresentação dos sintomas. Na necropsia, pode ser observado edema pulmonar, hidrotórax, icterícia e fígado escurecido e firme. Doses baixas induzem degeneração hepática progressiva, enquanto doses mais altas causam edema pulmonar (OSWEILER *et al.*, 1992). Como em outras espécies animais, as fumonisinas alteram a biossíntese dos esfingolipídeos, com as maiores alterações nas

concentrações das bases esfingoides no rim, fígado, pulmão e coração. O sistema imune específico não é afetado, entretanto FB₁ inibiu a fagocitose e a biossíntese de esfingolipídeos nos macrófagos pulmonares, induzindo um acúmulo de material membranoso nas células endoteliais dos capilares pulmonares. Essa alteração parece ser específica a esse tipo de célula e a espécie suína (HASCHEK *et al.*, 2001).

Estudos sobre os efeitos tóxicos das fumonisinas em aves foram conduzidos utilizando material de cultura de *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenb. como fonte de contaminação. LEDOUX *et al.* (1992) alimentaram pintinhos de um dia com dietas contendo níveis de 0, 100, 200, 300 ou 400ppm de FB₁, durante 21 dias. O ganho diário de peso diminuiu com o aumento do nível de FB₁ na dieta. Lesões histopatológicas indicaram atrofia do timo, hiperplasia biliar e necrose hepática

HENRY & WYATT (1994) estudaram a toxicidade da fumonisina B₁ purificada em frangos em crescimento. A toxina foi incorporada na dieta de pintinhos de 1 dia nas concentrações de 0, 20, 40 e 80ppm. Níveis de até 80ppm não alteraram o ganho de peso, conversão alimentar e consumo de água. Nenhuma diferença quanto ao peso dos órgãos (fígado, baço e rins) foi observada. Os autores concluíram que dietas com níveis de até 80ppm não alteram o desempenho de frangos. Entretanto, os autores salientam a necessidade de pesquisas sobre a interação das fumonisinas com outras micotoxinas.

Os bovinos parecem ser menos susceptíveis aos efeitos adversos de FB₁. OSWEILER *et al.* (1993) avaliaram os efeitos da administração de material de cultura de *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenb. incorporado à dieta de 18 bezerros. Os alimentos continham 15, 31, 148mg de FB₁/kg e foram administrados durante o período de 30 dias. Os autores não observaram alterações no desempenho dos animais e houve apenas alterações das enzimas hepáticas (AST, GGT e lactato desidrogenase). O fornecimento aos bezerros, de dietas com níveis de FB₁ considerados tóxicos a eqüinos e suínos, não causaram alterações significativas nestes animais.

Estudos sobre a presença de FB₁ no leite sugerem que a contaminação por esta micotoxina pode ser teóricamente possível. Entretanto, alguns autores já observaram, após a administração de FB₁ por via oral e intravenosa a vacas leiteiras, a não detecção de resíduos da toxina no leite (SCOTT *et al.*, 1994; RICHARD *et al.*, 1996).

MECANISMO DE AÇÃO DAS FUMONISINAS

O mecanismo de ação das fumonisinas ainda não é perfeitamente conhecido, mas WANG *et al.* (1991), propuseram que a FB₁ poderia intervir na biossíntese de esfingolípídios ou “turnover” de esfingosina, porque existe uma similaridade da molécula de FB₁ com o complexo amino álcool esfingosina, que é um dos trinta ou mais aminoalcoois da cadeia longa encontrados nos esfingolípídios de várias espécies. Os esfingolípídios mais abundantes dos tecidos animais são a esfingosina e os glicoesfingolípídios. A esfingomielina é um fosfolípideo que contém ácido graxo, fosfato, colina e o amino álcool complexo esfingosina.

A inibição de biossíntese dos esfingolípídios pode ter um profundo efeito sobre a célula, uma vez que esses componentes têm papel importante na estrutura da membrana, comunicação celular, interação intracelular e matrix celular, regulação de fatores de crescimento, como mensageiro de vários fatores, incluindo fator de necrose de tumor, interleucina 1 e fator de crescimento de nervos (MERRILL *et al.*, 1993).

A esfingosina é sintetizada no retículo endoplasmático através da combinação de palmitoyl-CoA e aminoácido serina, formando o 3-ceto esfingonina que é reduzido à esfinganina e esfingosina. Ceramida é formada por combinação ou de um ácido graxo livre ou acetil CoA e esfingosina. Esfingomielina é formada quando ceramida reage com CDP - colina ou fosfatidil colina. Para testar a hipótese de que fumonisina age alterando a biossíntese de esfingolípídios, WANG *et al.* (1991) examinaram os efeitos da FB₁ sobre a habilidade de hepatócitos de ratos converter serina [C] aos esfingolípídios. Mostrou-se que FB₁ inibiu a biossíntese “de novo” de esfingolípídios com uma K₅₀ de 0,1µm. Assim, as fumonisinas parecem ter uma ação contra a biossíntese de esfingolípídios em concentrações que poderiam ser atingidas pelo consumo de milho naturalmente contaminado.

O sitio específico de ação de FB₁ parece ser as enzimas esfinganina e esfingosina N-acetiltransferase. A inibição desta via metabólica resulta na depleção do complexo esfingolípideo, aumento intracelular de concentração de esfinganina livre (ou em menor grau de esfingosina livre) e um aumento dos produtos de clivagem (ABBAS *et al.*, 1993). O acúmulo das bases esfingóides é a causa primária da toxicidade das fumonisinas. Apesar disso, os plenos efeitos das fumonisinas provavelmente envolvem muitos eventos bioquímicos. A elevação nas bases esfingóides

também afetam a quantidade de outros lipídeos, incluindo os derivativos 1-fosfatos e Nacetil de esfinganina. Além disso, o aminopentol de FB₁(AP(1)) é um inibidor e substrato para a enzima ceramida sintase e a molécula resultante, N-palmitoil-AP(1)(PAP(1)) é um potente inibidor da enzima e dez vezes mais tóxica do que a FB₁ ou AP(1) para as células HT-29 em cultura (MERRILL *et al.*, 2001). A alteração no metabolismo dos esfingolípídios pode ser monitorada, já que alguma esfinganina que acumula na célula pode aparecer no sangue periférico. WANG *et al.* (1992) alimentaram pôneis com dietas contendo 44µg/g de FB₁ durante 10 dias e observaram, no vigésimo dia do experimento, elevação no nível de esfinganina (2,7 vezes). As elevações das enzimas séricas ocorreram somente após 10 dias, indicando que os níveis de esfinganina e esfingosina podem ser utilizados como marcadores de exposição animal as fumonisinas.

CONCLUSÃO

As fumonisinas são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium* e detectadas em grande frequência em grãos de milho no Brasil e no mundo. Considerando que esse cereal é matéria-prima básica na formulação de rações destinadas a animais de produção e que estudos de biodisponibilidade realizados em suínos detectaram resíduos do metabolismo da FB₁ em tecidos desses animais, estudos são necessários para melhorar os métodos de detecção das bases esfingóides esfinganina e esfingosina, para monitoramento da exposição dos animais e do homem a essas micotoxinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H.K., DUKE, S.O., TANAKA, T. Phytotoxicity of fumonisin and related compounds. *J Toxicol - Toxin Reviews*, v.12, p. 225-251, 1993.
- ABBAS, H.T., OCAMB, C.M. First report of fumonisin B₁ *Fusarium polyphialidicum* collected from seeds of *Pinus strobes*. *Plant Dis*, v.79, p.642-645, 1995.
- AH SEO, J., WON LEE, Y. Natural occurrence of the C series of fumonisins in moldy corn. *Appl Environm Microbiol*, v.65, p.1331-1334, 1999.
- ALLCROFT, R., CARNAGHAN, R.B.A., SARGENT, K., *et al.* A toxic factor in Brazilian groundnut meal. *Vet Rec*, v.73, p.128-129, 1961.
- ALLCROFT, P., CARNAGHAN, R.B.A. Groundnut toxicity *Aspergillus flavus* toxin (aflatoxin) in animal products. Preliminary Communication. *Vet Rec*, v.74, p.863-864, 1962.

- ASEVEDO, I.G., GAMBALE, W., CORRÊA, B., *et al.* Mycoflora and aflatoxicogenic species of *Aspergillus spp* isolated from stored maize. **Rev Microbiol**, v.25, p.46-50, 1994.
- BEZUIDENHOUT, S.C., GELDERBLOM, W.C.A., GORST-ALLMAN, C.P., *et al.* Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. **J Chem Soc Chem Commun**, p.743-745, 1988.
- BRANHAM, B.E., PLATTNER, R.D. Isolation and characterization of a new fumonisin from liquid cultures of *Fusarium moniliforme*. **J Nat Prod**, v.56, p.1630-1633, 1993.
- BUCCI, T., HANSEN, D.K., LaBORDE, J.B. Leukoencefalomalacia and hemorrhage in the brain of rabbits gavaged with mycotoxin fumonisin B₁. **Nat Toxins**, v.4, p.51-52, 1996.
- BUCKLEY, S.S., MAcCALLUM, W.G. Acute hemorrhagic encephalitis prevalent among horses in Maryland. **Am Vet Rev**, v.25, p.99-101, 1901.
- BUTLER, T. Notes on a feeding experiment to produce leucoencephalitis in a horses with positive results. **Am Vet Rev**, v.26, p.748-751, 1902.
- CAWOOD, M.E., GELDERBLOM, W.C.A., VLEGGAR, R., *et al.* Isolation of the fumonisin mycotoxins: a quantitative approach. **J Agric Food Chem**, v.39, p.1958-1962, 1991
- GELDERBLOM, W.C.A., JASKIEWICZ, K., MARASAS, W.F.O. *et al.* Fumonisins: novel mycotoxin with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. **Appl Environ Microbiol**, v.54, p.1806-1811, 1988.
- GELDERBLOM, W.C.A., JASKIEWICZ, K., MARASAS, W.F.O. *et al.* Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B₁, in rats. **Carcinogenesis**, v.12, p.1247-1251, 1991.
- HARRISON, L.R., COLVIN, B.M., GREENE, J.T., *et al.* Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B₁ a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. **J Vet Diagn Invest**, v.2, p.217-221, 1990.
- HASCHEK, W.M., MOTELIN, G., NESS, D.K., *et al.* Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. **Mycopathol**, v.117, p. 83-96, 1992.
- HASCHEK, W.M., GUMPRECHT, L.A., SMITH, G., *et al.* Fumonisin toxicosis in swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. **Environ Health Perspect**, v.109, p. 251-257, 2001.
- HENRY, M.H., WYATT, R.D. A review of fumonisin production by *Fusarium moniliforme* and fumonisin toxicoses in animals. **Appl Poult Sci**, v.2, p. 188-192, 1994.
- HIROOKA, E.Y., VIOTTI, N.M.A., SOARES, L.M.V., *et al.* Intoxicação em eqüinos por micotoxinas produzidas por *Fusarium moniliforme* no Norte do Paraná. **Semina Ci Agri**, v.9, p.128-135, 1988.
- HIROOKA, E.Y., SHIBATA, M.M., VIOTTI, N.M.A., *et al.* Fumonisin: importância da nova micotoxina de *Fusarium moniliforme* em intoxicações animais no Norte do Paraná. **Rev de Microbiol**, v.22, p.312, 1991
- HIROOKA, E.Y., YAMAGUCHI, M.M. Micotoxinas e metabólitos bioativos de *Fusarium*: perspectiva de sua importância para o Brasil. **Semina Ci Agr**, v.15, p.74-79, 1994.
- HIROOKA, E.Y., YAMAGUCHI, M.M., AOYAMA, S., *et al.* The natural occurrence of fumonisin in Brazilian corn kernels. **Food Addit Contam**, v.13, p.173-183, 1996.
- HOLCOMB, M., SUTHERLAND, J.B., CHIARELLI, M.D. HPLC and FAB mass spectrometry analysis of fumonisin B₁ and B₂ produced by *Fusarium moniliforme* on food substrates. **J Agric Food Chem**, v.41, p.357-360, 1993.
- KELLERMAN, T.S., MARASAS, W.F.O., THIEL, P.G., *et al.* Leukoencefalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B₁. **Onderstepoort J Vet Res**, p. 269-275, 1990.
- LEDoux, D.R., BROWN, T.P., WEIBKING, T.S., *et al.* Fumonisin toxicity in broiler chicks. **J Vet Diagn Invest**, v.4, p.330-333, 1992.
- MALLMANN, C., SANTURIO, J.M., DILKIN, P., *et al.* Incidência de fumonisin B₁ em milho e rações no Brasil. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICOTOXICOLOGIA, 7, 1997, Maracay, Venezuela. **Anais...** Maracay : Sociedad Latinoamericana de Micotoxicologia, 1997. p.73
- MARASAS, W.F.O., KELLERMAN, T.S., GELDERBLOM, W.C.A., *et al.* Leukoencefalomalacia in horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. **Onderstepoort J Vet Res**, v. 55, p.197-203, 1988.
- MEIRELLES, M.C.A., CORRÊA, B., FISCHMAN, O., *et al.* Leucoencefalomalacia (LEME) no Brasil I- Aspectos epizootiológicos e micotoxicológicos dos surtos ocorridos nos anos de 1988 a 1990. **Rev Microbiol**, v.22, p. 316, 1991.
- MEIRELLES, M.C.A., CORRÊA, B., FISCHMAN, O., *et al.* Leucoencefalomalácia equina (LEME) no Brasil. II-Aspectos microbiológicos e micotoxicológicos dos surtos ocorridos nos anos de 1988 a 1990. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS, 7, São Paulo, 1992. **Anais...** São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1992. p.18
- MEIRELLES, M.C.A., CORRÊA, B., FISCHMAN, O., *et al.* Mycoflora of the toxic feeds associated with equine leucoencefalomalacia (ELEM) outbreaks in Brazil. **Mycopathol**, v.117, p. 183-188, 1994.
- MERRILL, A.H., VAN ECHTEN, G., WANG, E., *et al.* Fumonisin B₁ inhibits sphingosine (sphinganine) N - acyltransferase and de novo sphingolipid biosynthesis in cultured neuron in situ. **J Biol Chem**, v.268, p.2299-2306, 1993.
- MERRILL, A.H., SULLARDS, M.C., WANG, E., *et al.* Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. **Environ Health Perspect**, v.109, p. 283-289, 2001.
- MILLS, J.T. Ecology of mycotoxigenic *Fusarium* species on cereal seeds. **J Food Prot**, v.52, p.737-742, 1989.
- MOSS, M.O. Economic importance of mycotoxins-recent incidence in the United States. **Anim Sci**, v.27, p. 3941-3949, 1991.

- MOTELIN, G.K., HASCHEK, W.M., NESS, D.K., *et al.* Temporal and dose response features in swine fed corn screenings contaminated with fumonisin mycotoxins. **Mycopathol**, v. 126, p. 27-40, 1994.
- MUSSER, S.M., PLATTNER, R.D. Fumonisin composition in culture of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium nygamae*. **J Agri Food Chem**, v.45, p.1169-1173, 1997.
- NELSON, P.E. Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. **Mycopathol**, v.117, p.29-36, 1992.
- ONO, E.Y.S., ONO, M.A., FUNO, F.Y., *et al.* Evaluation of fumonisin-aflatoxin-co-occurrence in Brazilian corn hybrids by ELISA. **Food Addit Contam**, v.18, n.8., p. 719-729, 2001.
- ORSI, R.B., CORRÊA, B., POZZI, C.R., *et al.* Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. **J Stored Prod Res**, v.36, p. 75-87, 2000.
- OSWEILER, G.D., ROSS, P.F., WILSON, T.M., *et al.* Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine in corn screening. **J Vet Diagn Invest**, v.4, p.53-59, 1992.
- OSWEILER, G.D., KEHRLI, M.E., STABEL, J.R., *et al.* Effects of fumonisin-contaminated corn screenings on growth and health of feeder calves. **J Anim Sci**, v.71, p. 459-466, 1993.
- PLATTNER, R.D., NORRED, W.P., BACON, C.W., *et al.* A method of detection of fumonisins in corn samples associated with field cases of equine leukoencephalomalacia. **Mycologia**, v. 82, p. 692-702, 1990.
- POZZI, C.R., CORRÊA, B., GAMBALE, W., *et al.* Postharvest and stored corn in Brazil: mycoflora interaction, abiotic factors and mycotoxins occurrence. **Food Addit Contam**, v.12, n.3, p.313-319, 1995.
- REGO, C.L. Doença de sintomatologia nervosa causada por intoxicação pelo milho. **Rev Mil Remonta Vet**, v.10, p.199-215, 1950.
- RICHARD, J.L., MEERDINK, G., MARAGOS, C.M., *et al.* Absence of detectable fumonisin in the milk cows fed *Fusarium proliferatum* (Nirenberg) culture material. **Mycopathol**, v.133, p.123-126, 1996.
- RIET-CORREA, F., MEIRELES, M.C.A., SOARES, J.M., *et al.* Leucoencefalomalácia em equinos associada à ingestão de milho mofado. **Pesq Vet Bras**, v.2, p.27-30, 1982.
- ROSS, P.F., NELSON, P.E., RICHARD, I.D., *et al.* Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolate associated with equine leukoencephalomalacia and pulmonary edema syndrome in swine. **Appl Environm Microbiol.**, v.56, p. 3225-3226, 1990.
- ROTTINGHAUS, G.E., COATNEY, C.G., MINOR, H.C. A rapid, sensitive thin layer chromatography procedure for the detection of fumonisin B1 and B2. **J Vet Diagn Invest** v.4, p.326-330, 1992.
- SCOTT, P.M. Fumonisin. **Inst. J Microbiol**, v.18, p.257-270, 1993.
- SCOTT, P.M., DELGADO, T., PRELUSKY, D.B., *et al.* Determination of fumonisins in milk. **J Environm Sci Health**, v.29, p. 989-998, 1994.
- SHEPHARD, G.S., SYDENHAM, E.W., THIEL, P.G., *et al.* Quantitative determination of fumonisins B1 and B2 by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **J Liq Chromatogr**, v.13, p.2077-2087, 1990.
- SILVA, J.B., POZZI, C.R., MALLOZZI, M.A.B., *et al.* Mycoflora and occurrence of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ during storage of Brazilian sorghum. **J Agri Food Chem**, v.48, p. 4352-4356, 2001.
- SYDENHAM, E.W., GELDERBLUM, W.C.A., THIEL, P.G., *et al.* Evidence for the natural occurrence of Fumonisin B₁, a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme* in corn. **J Agric Food Chem**, v.38, p.285-290, 1990.
- SYDENHAM, E.W., GELDERBLUM, W.C.A., THIEL, P.G., *et al.* Evidence for the natural occurrence of fumonisin B₁ a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme* in corn. **J Agric Food Chem**, v.39, p.2014-2018, 1991.
- THIEL, P.G., SHEPHARD, G.S., SYDENHAM, E.W., *et al.* Levels of fumonisins B1 and B2 in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. **J Agric Food Chem**, v.39, p.109-111, 1991.
- THIEL, P.G., MARASAS, W.F.O., SYDENHAM, E.W., *et al.* The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn human and animal health. **Mycopathol**, v.117, p.3-9, 1992.
- WANG, E., NORRED, W.P., BACON, C.W., *et al.* Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. **J Biol Chem**, v.266, p.1486-1490, 1991.
- WANG, E., ROSS, F.P., WILSON, T.M., *et al.* Increases in serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies, given, feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. **Nutrit Pharmacol Toxicol**, v.122, p.1706-1716, 1992.
- WILSON, B.J., MARONPOT, R.R. Causative fungus agent of leukoencephalomalacia in equine animals. **Vet Rec**, v.88, p.484-486, 1971.
- WILSON, T.M., ROSS, P.F., RICE, L.G., *et al.* Fumonisin B₁ levels associated with and epizootic of equine leukoencephalomalacia. **J Vet Diagn Invest**, v.2, p.213-216, 1990.
- YAMAGUCHI, M.M., HIROOKA, E.Y., SHIBATA, T.M.M., *et al.* Fumonisin em milho no Estado do Paraná. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS 7, São Paulo, 1992. **Anais...** São Paulo : Instituto Adolfo Lutz, 1992. p.27