

ESTUDIO CLÍNICO PATOLÓGICO DE LA INTERACCIÓN DE LA OCRATOXINA A Y FUMONISINA B1 EN CERDOS

Ochratoxin A and Fumonisin B1 Natural Interaction in Pigs. Clinical and Pathological Study

Carmen T. Díaz, Elías Sogbe, Elías Ascanio y Marcos Hernández

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 4563. Maracay, Edo. Aragua, Venezuela

RESUMEN

Se realizó un estudio en 12 cerdos de 13 a 18 semanas de edad, los lechones mestizos de Yorkshire, de ambos sexos procedían de 2 granjas porcinas de estados centrales de Venezuela (Aragua y Carabobo), los cuales sufrieron de muerte súbita, sin mostrar signos clínicos previos, al momento de ser estudiados. El examen postmortem fue efectuado, con estudios macroscópicos e histopatológicos. Se practicó el estudio toxicológico, el cual fue particularmente orientado para detección de micotoxinas en el alimento: Aflatoxina B1 (AFB1), Fumonisin B1 (FB1) y Ochratoxin A (OA), siguiendo la técnica sugerida por la AOAC para HPLC. El aspecto macroscópico mostró: edema agudo pulmonar con grado variable de hidrotórax, moderada congestión en hígados y quistes renales; los otros órganos no mostraron lesiones. El estudio histopatológico mostró, Pulmones: edema agudo pulmonar y marcada congestión vascular; Hígado: congestión sinusoidal y micro focos de necrosis unicelular; Riñones: quistes, ectasia tubular y glomérulo esclerosis. El estudio toxicológico de alimentos reveló: 10-40 ppm de FB1 y 20-39 ppm de OA. La causa de muerte en todos los lechones estudiados fue edema agudo pulmonar, no asociado con cardiopatía. Este evento patológico agudo se atribuye a la acción de FB1, demostrada en los análisis toxicológicos. El edema pulmonar se debió al daño vascular ocasionado por esta micotoxina, mientras que las alteraciones hepáticas eran causadas por la inhibición de la ceramida sintetasa, incrementándose la biosíntesis de esfingolípidos, coincidiendo con lo demostrado en los valores toxicológicos, los cuales, aunque con niveles eventuales bajos, aparentemente son potenciados o interactúan con los niveles de OA detectados, estos últimos, responsables de las mencionadas lesiones renales. En vista de que no fueron detectados otros agentes tóxicos, se pudo asumir que tales daños tisulares eran causados por la interacción entre FB1 y OA. Este es el primer repor-

te en Venezuela demostrando la interacción entre FB1 y OA, lo que permite recomendar el monitoreo periódico de las mencionadas micotoxinas.

Palabras clave: Cerdos, interacción natural de micotoxinas, patología.

ABSTRACT

Determination of several mycotoxins was carried out in twelve 13 to 18 week old, Yorkshire piglets. The animals were obtained from two farms Aragua and Carabobo states, Venezuela, which suffered sudden death with no previous clinical signs. Postmortem examination was performed for gross and histopathological study. Presence of two mycotoxins was assessed: Fumonisin B1 (FB1) and Ochratoxin A (OA) from feed-stuff samples, according to the HPLC technique. Gross examination showed: acute pulmonary oedema with several degrees of hydrothorax. Mild congestion in liver and cysts in kidneys were observed. No lesions were detected in other organs. Histopathological evaluation showed the following results, Lungs: Acute oedema and marked vascular congestion. Liver: Sinusoidal congestion, and unicellular necrosis micro focuses, Kidneys: cysts, tubular ectasia and glomerulosclerosis. Feed-stuff toxicological study showed: 10-40ppm FB1, and 20-39 ppm of OA. The cause of sudden death in all studied piglets was acute pulmonary oedema not associated with cardiopathy. This acute pathological event is attributed to Fumonisin B1 action shown through toxicological analyses. Pulmonary oedema is due to vascular damage caused by this mycotoxin, whereas liver alterations caused by inhibition of ceramide synthetase, increasing sphingolipids biosynthesis, which coincide with the demonstrated toxicological values, that eventhough show low levels of Ochratoxin, responsible for the mentioned kidneys lesions. Since other etiological agents were not detected it can be assumed that such tissue damage is caused by FB1 and OA interaction. This is the first report demonstrating

FB1 and OA interaction in Venezuela, which suggest that periodical monitoring on these mycotoxins should be performed.

Key words: Swine, natural mycotoxins interaction, pathology.

INTRODUCCIÓN

La presencia de micotoxinas en los alimentos se ha asociado a severos daños orgánicos en animales y en el hombre [2]. Dentro de las micotoxinas de mayor relevancia se encuentran: las aflatoxinas, ocratoxinas, fumonisinas, tricotecenos, ergotamina, zearalenona, deoxinivalenol, entre otras.

La intoxicación por estas toxinas elaboradas por hongos en activo crecimiento se produce en los animales con relativa frecuencia [1].

En los establecimientos de cría de las diferentes especies animales, las micotoxinas producen alteraciones en el crecimiento, en la ganancia de peso, crean desórdenes reproductivos, incremento de la susceptibilidad a infecciones, llegando incluso a producir la muerte [1, 2, 18].

Las micotoxinas y en especial las aflatoxinas han sido objeto de numerosas investigaciones en Venezuela, algunas relacionadas al aspecto agronómico [1] y otras a cambios clínico patológicos ocurridos en varias especies, particularmente en los cerdos [4, 5, 14, 19].

Bajo ciertas condiciones de campo, existe la posibilidad de que un alimento se encuentre contaminado con mas de una micotoxina, así que la presencia de dos o mas de estos compuestos tóxicos pueden producir efectos aditivos o sinérgicos, potenciarse o aun ser antagónicos [5, 6].

Las Fumonisinias son uno de los mas recientes grupos de micotoxinas descubiertos, son producidas por el hongo *Fusarium moniliforme* [16]. La Fumonisina B1 (FB1) es la de mayor importancia, ya que desde su identificación ha sido asociada a enfermedades: leucoencefalomalacia en equinos y edema pulmonar en porcinos [3, 17]. Su mecanismo de acción es a través de la alteración de la síntesis de esfingolípidos [22], de allí que la exposición a FB1 produce incremento en los niveles séricos de esfingandina y esfingasina, con depleción de los niveles de esfingolípidos. El edema agudo pulmonar descrito en porcinos se atribuye al daño vascular causado por esta micotoxina y es causa primaria de muerte súbita en cerdos [17]. Los niveles de tolerancia a FB1 en alimentos concentrados para la especie porcina deben ser iguales o inferiores a 10 ppm., según las normas internacionales de la Federal Drug Administration (F.D.A) [15].

Ocratoxina A es una micotoxina generada por hongos de la especie *Penicillium*, siendo una de las mas tóxicas y distribuida ampliamente como un contaminante natural de cereales y otras materias primas utilizadas en la elaboración de alimentos concentrados para animales. El órgano blanco principal de

esta toxina es el riñón, donde produce alteraciones en el tubo contorneado proximal y en los glomérulos, a través de la interferencia con el DNA, RNA y síntesis de proteínas por inhibición de la enzima fenil alanina sintetasa. Aunque es capaz de producir daños hepáticos, son las lesiones renales las que mejor identifican su acción. Según la F.D.A [10, 15] los niveles de tolerancia a OA en alimento concentrado para porcinos son iguales o inferiores a 20 ppm en el alimento. OA es considerada un serio problema de salud pública para humanos cuando se ingiere carne de porcino, y sus derivados especialmente en áreas rurales donde los alimentos consumidos provienen de cerdos domésticos que no han sido objeto de la inspección adecuada por los organismos sanitarios competentes [12, 21].

La posibilidad de sinergismo entre FB1 y OA, aumenta el efecto patógeno individual, requiriendo de menores niveles de su presencia para generar los cambios orgánicos producidos por cada una de ellas de manera independiente [9].

En Venezuela se han realizado pocos estudios sobre la interacción de FB1 con otras micotoxinas, de allí que el objeto de esta investigación fue presentar los aspectos clínico-patológicos de una interacción natural entre FB1 y OA, en un estudio de campo efectuado en granjas porcinas de los estados Aragua y Carabobo, señalando los aspectos histológicos relevantes, en casos de muerte súbita en cerdos en apariencia, sanos [5].

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre los meses de enero y julio de 2000, se evaluaron 2 granjas porcinas de los estados Aragua y Carabobo, en las cuales se habían presentado episodios de muerte súbita en lechones de 13 a 18 semanas de edad, raza Yorkshire-mestizos, con aparente buen estado de salud, sin presentar ninguna sintomatología clínica previa. En las evaluaciones realizadas en las granjas por los médicos veterinarios de planta los controles bacteriológicos y perfiles serológicos no mostraban evidencias de patología infecciosa.

Las necropsias y revisión macroscópica de las vísceras de 12 animales (6 en cada granja), fue efectuada en las respectivas instalaciones de los establecimientos de cría. La evaluación se realizó mediante los métodos de inspección ocular, palpación e incisión de los órganos, registrándose los hallazgos macroscópicos mas relevantes.

Se tomaron muestras de las lesiones con mayor representatividad de los órganos lesionados, se fijaron en formalina bufferada al 10%, en una proporción 1:10 muestra fijador; luego fueron enviadas al laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela (UCV), para su posterior deshidratación e inclusión en parafina, obteniéndose secciones histológicas de 5 a 6 micras de los tejidos. Posteriormente fueron coloreadas con Hematoxilina-Eosina (H-E) y reacción del ácido periódico de

Schiff, según técnicas convencionales [13], luego se estudiaron siguiendo los criterios anatomopatológicos, en un microscopio óptico. Los casos mas representativos se registraron y fotografiaron.

Simultáneamente eran realizados los estudios toxicológicos del alimento concentrado consumido por los animales, para tal fin se tomaron 5 muestras procedentes de diferentes partes del silo y de 5 comederos, del área ocupada por los cerdos afectados, tomando de los extremos y del centro de cada uno de ellos 200 gramos, las muestras fueron trasladadas en bolsas de papel en ambiente refrigerado al laboratorio de Toxicología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV, para proceder a realizar determinaciones de: AFB1, FB1, OA.

Mientras que las de AFB1 se utilizó el método de mini columna de Velasco y cromatografía de capa fina, siguiendo técnicas de Oficial Methods of Analysis of Association Chemists, A.O.A.C [15] y sometidas a la acción de ácido sulfúrico para su verificación.

Las determinaciones de FB1 y OA se realizaron siguiendo el método de Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) [8, 15].

RESULTADOS

Estudio morfológico microscópico

- Permitió apreciar animales con buen estado físico y de carnes
- Congestión y edema pulmonar

- Congestión hepática y esplénica
- Riñones congestivos, con formaciones quísticas en la superficie de corte
- El resto de los órganos no mostró alteraciones.

Estudio morfológico microscópico (histopatológico)

Los resultados obtenidos en todos los casos (n=12), se resumen en la TABLA I.

Las evaluaciones histopatológicas mostraron en el 100% de los pulmones:

- Edema agudo y masivo intralveolar, simplemente variando en grado de caso a caso, pero de manera constante, TABLA I, FIG.1.
- Los hígados se observaron congestivos, con plétora sinusoidal, Vacuolización difusa de hepatocitos y microfocos de necrosis intra parenquimatosos en el área periférica del lobulillo. FIG. 2, estos hallazgos, se presentaron el 50% de los casos.

En todos los riñones observados, de manera constante y sólo variando en grado, se pudo apreciar, FIGS. 3 y 4:

- Ectasia de los tubulos renales
- Dilatación quística tubular
- Engrosamiento de la membrana basal de los glomérulos
- Glomérulo esclerosis
- Focos de nefritis intersticial mononuclear.

TABLA I
RESULTADOS MICROSCÓPICOS DE LECHONES AFECTADOS

Nº de Casos	Pulmón	Hígado				Riñón				
	Edema Agudo	Vacuol.	Necrosis Uni-Multi	Deg. Grasa	F.M.N.	Ect. Tubular	Deg. Tubular	Engr. M.B.	Glom. Escler.	Nefrit. Interst
1	+++	-	--	-	-	++	+	++	++	++
2	+++	++	+-	-	-	++	+	++	+++	++
3	+++	-	+-	-	+	++	+	++	+	+
4	+++	+++	- ++	-	+	+++	+	+	+++	++
5	+++	-	--	-	-	++	+	+	+	+
6	+++	+++	++ -	-	-	+++	++	++	+++	++
7	+++	-	--	-	-	++	+	+	+	+
8	+++	+++	- +++	-	+	+++	++	+	+	+
9	+++	-	--	-	-	++	+	++	+++	+++
10	+++	+++	- +	-	-	++	+	++	++	++
11	+++	-	--	-	-	++	++	++	+	+
12	+++	++	- ++	-	+	++	++	++	+++	++

—: Sin lesiones; +: leve; ++: moderado; +++: severo.

Vacuol: vacuolización. Uni-Multi: unicelular-multicelular. Deg: degeneración. F.M.N.: focos mononucleares. Ect. Tubular: ectasia tubular. Engr. M.B.: engrosamiento membrana basal. Glom. Escl: glomérulo esclerosis. Nefrit. Interst.: nefritis intersticial.

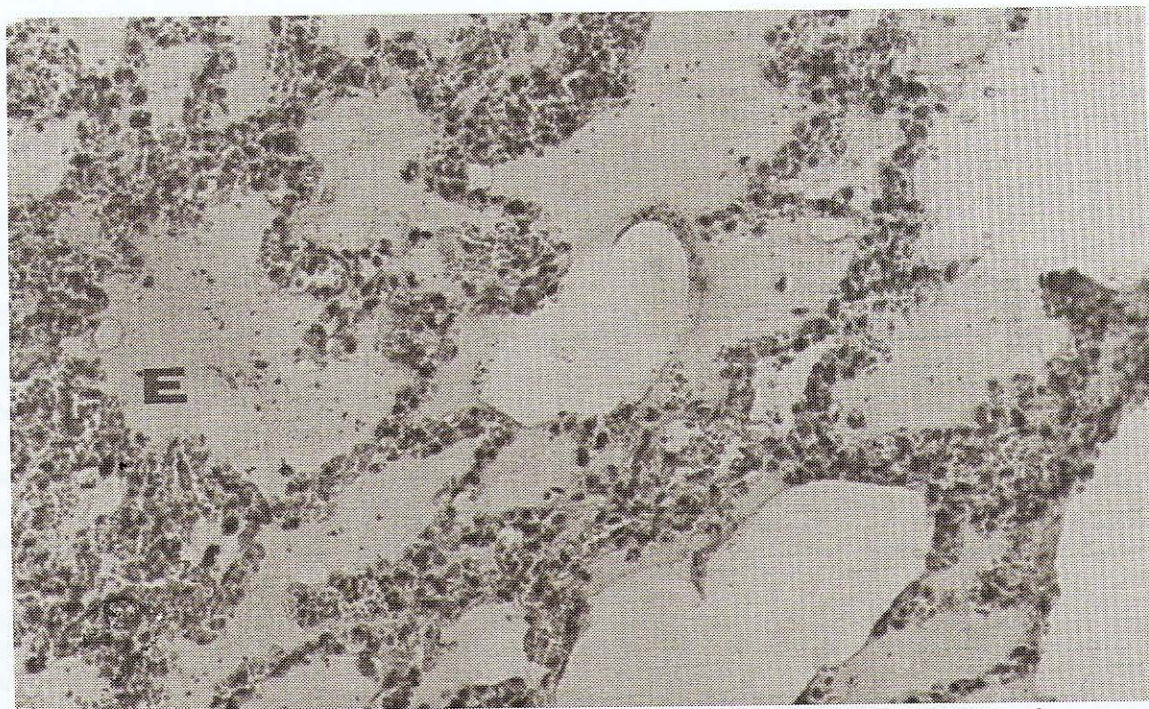


FIGURA 1. MICROGRAFÍA DE PULMÓN: SE APRECIA EDEMA PULMONAR EN LA LUZ DE LOS ALVÉOLOS (E) H.E 400X.



FIGURA 2. MICROGRAFÍA DE HÍGADO: MUESTRA FOCOS DE NECROSIS EN EL PARÉNQUIMA (*) H.E 100X.

Los hallazgos más significativos fueron la total conjunción de las lesiones pulmonares con las marcadas alteraciones renales, mientras los trastornos degenerativos hepáticos se presentaron en el 50% de los casos.

La TABLA I muestra además, la gradación de las lesiones señaladas en cada uno de los órganos anteriormente

mencionados; allí se utilizaron 3 grados: + (leve), ++(moderado) y severo(+++), para señalar el daño orgánico respectivo.

El resto de los órganos estudiados (corazón, bazo, sistema nervioso, tubo digestivo, etc.) no mostraron alteraciones significativas.

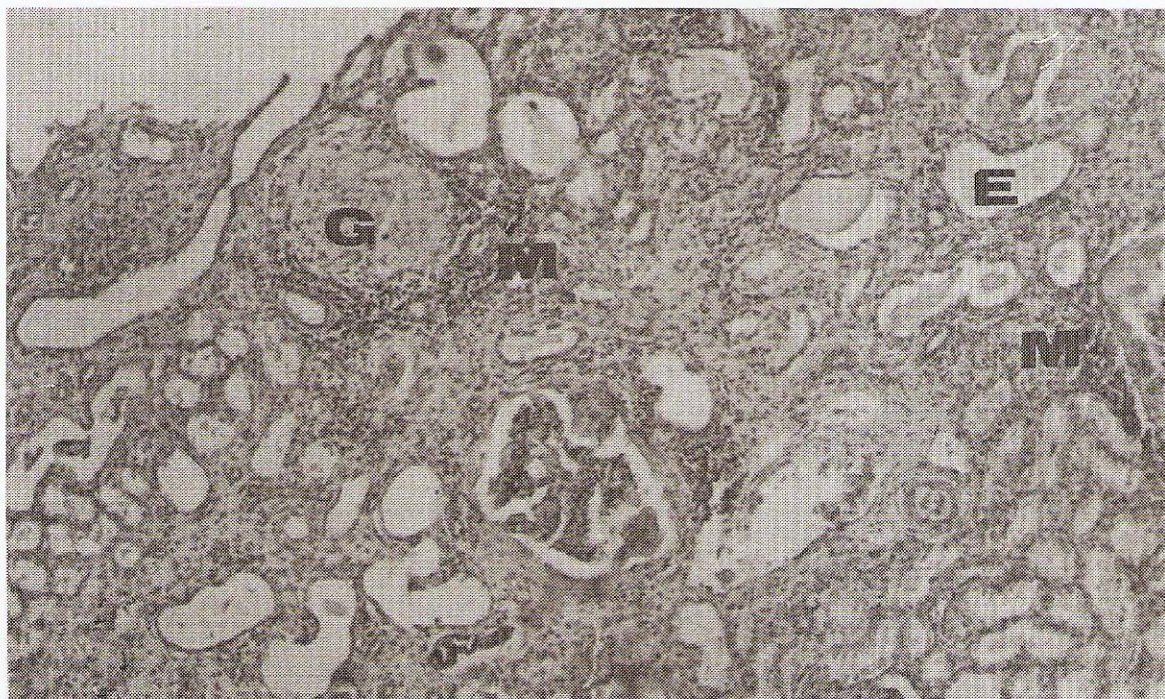


FIGURA 3. MICROGRAFÍA DE RIÑÓN: PERMITE APRECIAR GLOMERULOS EN VARIAS FASES DE ESCLEROSIS (E), INFILTRADO MONONUCLEAR (M) Y ECTASIA DE LOS TUBULOS (E). H.E 250X.

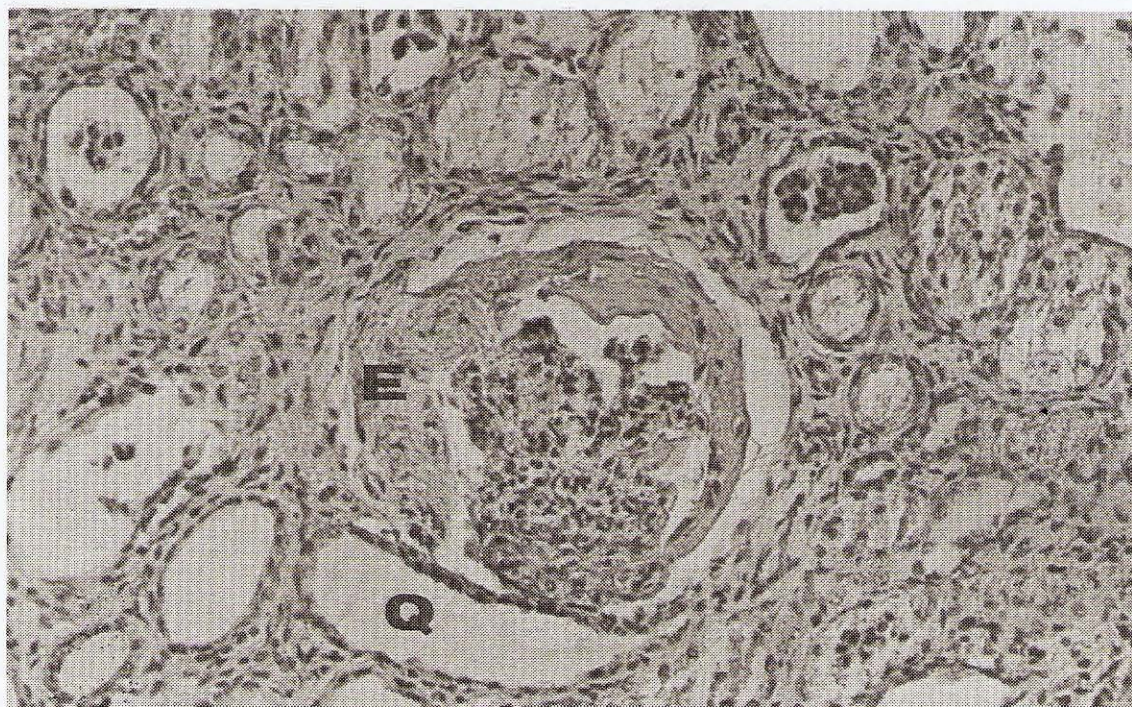


FIGURA 4. MICROGRAFÍA DE RIÑÓN: A MAYOR AUMENTO SE OBSERVA EL ENGROSAMIENTO DE LA MEMBRANA BASAL Y ESCLEROSIS GLOMERULAR (E), CON TENDENCIA QUISTICA TUBULAR (Q) H.E. 400X

Estudio toxicológico

Los resultados de los análisis toxicológicos se refieren en la TABLA II, allí se puede notar que no hubo niveles detectables en el alimento el método de minicolumna de Velasco de AFB1.

Los niveles detectados de FB1 en alimento, se encontraron entre 10-40 ppm, siendo los niveles permitidos por la FDA y normas COVENIN inferiores o iguales a 10 ppm.

Por otra parte, los análisis señalaron niveles de OA entre 20-39 ppm, ligeramente superiores a los permitidos por la FDA

y normas COVENIN, las cuales contemplan un máximo permisible de hasta 20 ppm en alimento concentrado para cerdos [8].

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que la causa fundamental de la muerte de los cerdos estudiados es el cuadro pulmonar, con edema intra-alveolar agudo, daños atribuibles al agente tóxico FB1 detectado en el alimento, TABLA I. Ella además, es capaz de producir daño hepático variable, tal como lo señalan algunos autores [7, 17]. La variedad de grados de lesión tanto en los pulmones como en los hepatocitos en la misma población fue independiente del sexo, y la variabilidad de ellas puede tener relación, además de la susceptibilidad individual, con la posible interacción entre las micotoxinas detectadas en los análisis toxicológicos.

Asociado a la injuria de los órganos anteriormente señalados, se pudo apreciar que los riñones también mostraban cambios histopatológicos notables, tales como: degeneración del epitelio de los tubulos contorneados proximales, con degeneración parenquimatosa y vacuolar de las mismas, ectasia tubular y formaciones quísticas, con infiltrado inflamatorio mononuclear en el intersticio, además de engrosamiento de la membrana basal y glomérulo esclerosis. Estos cambios pueden haber sido producidos presumiblemente por la acción de la OA sobre ese órgano, ya que otros agentes infecciosos o tóxicos no fueron evidenciados en los casos estudiados, por otra parte, lesiones similares han sido descritas por Stoev [20] y por Krog [11], quienes describen una nefropatía porcina en Bulgaria, con un cuadro progresivo de etiología asociable a la presencia de OA. Estos autores describen tales daños con solo la presencia de OA en los alimentos ingeridos por los cerdos, en concentraciones superiores a las señaladas en este ensayo. Algunos autores [14] demuestran la influencia de la OA en la ganancia de peso de cerdos de 60 días de edad, con concentraciones de OA en dos grupos experimentales, uno al que se le administró 1,06 mg/kg en el alimento y otro con niveles de 3,10 mg/kg, en ambos casos señalan reducción en la ganancia de peso y lo explican por la presencia de OA en la dieta, por el efecto directo de esta micotoxina sobre la síntesis proteica, ocasionando una nefrosis aguda con daños isquémicos renales.

En los casos referidos en el presente trabajo, no hubo signos clínicos de proceso agudo de nefrosis, como poliuria y polidipsia, lo que puede ser explicado por que las concentraciones de OA detectadas en los alimentos evaluados presentaban niveles bajos (20-39 ppm), aunque ligeramente superiores a los considerados permisibles por la FDA (20 ppm) y por otra parte podría asumirse que la presencia de FB1 en el alimento, con niveles superiores a los permitidos en el alimento ha podido generar procesos de adición o sinergismo al encontrarse con la presencia de OA.

En este aspecto es de interés señalar, que se han descrito efectos por la interacción entre varias micotoxinas [5, 9].

TABLA II
NIVELES DE OCRATOXINA A Y FUMONISINA B1
EN ALIMENTO

Estado	Muestra	FB1 (ppm)	OA (ppm)
Aragua	1	10	27
Aragua	2	25	28
Aragua	3	20	35
Aragua	4	36	38
Aragua	5	25	24
Aragua	6	24	27
Carabobo	1	18	15
Carabobo	2	40	39
Carabobo	3	30	20
Carabobo	4	15	26
Carabobo	5	20	25
Carabobo	6	20	27
MIN-MAX	12	10-40	20-39
Niveles (FDA)		<10	<20

En ellos la interacción de FB1 y OA explicaría satisfactoriamente, la coincidencia de severas lesiones renales y pulmonares con predominio de la neumopatía aguda, edema pulmonar, causa de la muerte súbita, sin signos histopatológicos de cardiopatía y sin clínica previa de enfermedad, tales hechos obligan a plantearse esa posibilidad.

La presencia o ausencia de interacciones entre micotoxinas son de fundamental interés y de importancia práctica en la micotoxicología. Existen frecuentes reportes que señalan la relación sinérgica entre ellas [5, 9, 18] sin que existan rigurosas bases científicas que lo comprueben, de allí, que es necesario profundizar en este aspecto y se requiera de investigaciones adicionales en Venezuela, país de particulares condiciones climáticas y productora de alimentos para animales, que tiene connotaciones diferentes a las expuestas por autores en países de otras características bioclimatológicas, y con regulaciones probablemente adecuadas para ellos, pero que no necesariamente lo son para Venezuela. En ese orden de ideas se debe reconocer que los parámetros conducentes a comprender la interacción natural de las micotoxinas permanecen parcialmente explicados y comprendidos.

Por otra parte las condiciones de campo en las micotoxicosis son extremadamente complejas. Una de las dificultades en determinar su importancia es la discrepancia en las observaciones clínico-patológicas entre el consumo de alimentos contaminados con hongos y el consumo de cantidades o niveles equivalentes de las mismas micotoxinas purificadas. Aún con una sola micotoxina presente, factores como la dieta, es-

tado nutricional, temperatura y grado de estrés pueden afectar la evolución de una micotoxicosis. Un reto aún mayor es comprender las micotoxicosis cuando existe una mezcla de ellas, hecho que por otra parte es lo usual. La micotoxicosis en animales está pobremente comprendida y dificulta la clarificación de las interacciones entre ellas, el entendimiento de éstas no es sólo de interés académico, ya que tiene un impacto significativo en los aspectos de alimento-salud, pudiendo requerir de una redefinición de la legislación en lo referente a los límites de tolerancia de ellas en este país.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La causa de la muerte súbita en todos los lechones estudiados fue un edema agudo pulmonar, no asociado a cardiopatía. Este evento patológico es atribuible a la acción de FB1, cuya presencia fue detectada en los análisis toxicológicos realizados.

El edema pulmonar se debió a los daños vasculares causados por esta micotoxina, aunado a la predisposición individual y de especie; mientras que las alteraciones hepáticas, fueron ocasionadas por inhibición de la ceramida sintetasa e incremento de la biosíntesis de esfingolípidos, probablemente causada por la acción sinérgica de FB1 y OA.

Las alteraciones renales eran producidas por la acción de OA, acorde con los resultados toxicológicos señalados y por la ausencia de otros entes patógenos, de allí que se asume que los daños orgánicos mencionados, son causados por la interacción entre esta micotoxina y FB1.

Este es el primer reporte en Venezuela demostrando la interacción entre FB1 y OA, lo que permite recomendar el estudio o monitoreo periódico de tales micotoxinas, particularmente orientado cuando se observen casos de muerte súbita en establecimientos de cría de porcinos.

Es importante resaltar asimismo, que la patología señalada puede ser motivo de riesgo en salud pública humana por lo cual se debe alertar y monitorear las micotoxinas en el alimento ofrecido en granjas porcinas y adicionalmente en el consumo humano de productos derivados de cerdos beneficiados en empresas domésticas, expedidos en carreteras o vías nacionales sin la debida inspección sanitaria gubernamental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARZOLA, A.S. Detección y evaluación de micotoxinas en maíz. (Tesis de Grado). Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 1-91. 1991
- [2] CARLTON, W.W.; KROG, P. "Ochratoxins". In: **Conference on mycotoxins in Animal Feeds and Grain Related to Animal Health**. PB-300 300. Sponsored by Bureau of Veterinary Medicine Food and Drug Administration. June 8, Rockville, Maryland (USA), 165-287.1979.
- [3] COLVIN, B.M.; COOLEY, A.J.; BEAVER, R.W. Pulmonar Oedema and cellular hepatonecrosis by Fumonisin. **J. Vet. Diagn. Invest**, 5 (2):232-241.1993.
- [4] DIAZ, C.T. Aflatoxicosis en lechones de una granja del estado Carabobo. Aspectos clínicos y de laboratorio. (Trabajo de Ascenso). FCV. UCV. 1-96.1993.
- [5] DIAZ, C.T.; UTRERA, V.; SOGBE, E.; ASCANIO, E.; VEGA, F.; YUFA, B. Natural interaction of Ochratoxin A and Fumonisin in Venezuelan pigs. Clinical and Pathological study. In: **Proceeding**. 16th.I.P.V.S. Congress. Melbourne, September 17-20. Australia: 196. 2000.
- [6] FAZEKAS, B.; BAJMOCY, E.; GLAVITS, R.; FENYVESI, A.; TANYI, J. Fumonisin B1 contamination of maize and experimental Fumonisin toxicoses in pigs. **Zentralbl Veterinarmed**. 45 (3):171-181. 1998.
- [7] GRUMPCHT, L. Development of Fumonisin-induced hepatotoxicity and pulmonary edema in orally doses swine: morphological and biochemical alterations. **Toxicol Pathol** 26 (6): 777-788.1998.
- [8] GIMENO, A. Reglamentaciones para algunas micotoxinas en la alimentación humana y animal. **Curso de micotoxinas**. Sept 20.. Consultor técnico de Special Nutrients, INC. Miami. Florida. 2000.
- [9] HUFF, W.E. Mycotoxins interaction in poultry and swine. In: **Proceeding**. Symposium recent development in the study of mycotoxins. July 5. Rosemont, Illinois USA: 18 1987.
- [10] HSIEH, D.P.H. Mode of action of mycotoxins. In: KROG, P. Ed 9a. **Mycotoxins in Food**. London. Academic Press. 149-176. 1987.
- [11] KROG, P. Porcine nephropathy associated with Ochratoxin A. In: SMITH, J.E & HENDERSON, R.S (Eds). **Mycotoxins and Animal Foods**. Boca Ratón, Florida, CRC Press. 627-645. 1991.
- [12] KUIPER-GOODMAN, T. Risk assesment to humans of mycotoxins in animal derived food products. **Vet. Hum. Toxicol**, 33: 332. 1991.
- [13] LUNA, L.G. **Manual of histological staining methods of Armed Force**. Institute of Pathology. 3a. Ed. Mc.Graw. Hill.Book Company. New York 33. 1968.
- [14] MASIC, Z.; KJAJIC, R.; TESIC, M.; KOSARIC, S. Influence of Ochratoxin A on weight gain, conversion of food and frequency of urinating in pigs. In: **Proceeding** 16th I.P.V.S. Congress, Melbourne. 17-20 September. Australia 249.2000.
- [15] **OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF ANALITICAL CHEMIST**. 15th Ed., A.O.A.C. secretary. 49. Natural Poisons (Peter M.Scott Associate Chapter Editor). 1184-1213. 1990.

- [16] RIBAR, S.; MESARIC, M. Fumonisin-mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. **Lijec Vjesn.** 120 (3-4): 85-91. 1998.
- [17] ROSS, P.F.; NELSON, P.E.; RICHARD, J.L.; OSWEILER, G.D.; RICE, L.G.; PLATTNER, R.D.; WILSON, T.M. Production of Fumonisin by *Fusarium Moniliforme* and *Fusarium Proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia and a pulmonary syndrome in swine. **Appl. Environ. Microbiol.** 56: 3224-3226. 1990.
- [18] ROSS, P.F.; RICE, L.G.; PLATTNER, R.D.; OSWEILER, G.D.; RICHARD, J.L. Concentration of Fumonisin B1 in feed associated with animal health problems. **Mycopathologia**, 114: 129-135. 1991.
- [19] SOGBE, E.; UTRERA, V. Clinical and anatomopathological evaluation of Aflatoxicoses in swine in Venezuela. In: **Proceeding 16th**. IPVS Congress. The Hague, August 17-20. Holland. 664. 1992.
- [20] STOEV, S. The role of Ochratoxin A as a possible cause of Balkan endemic nephropathy. **Vet. Hum Toxicol**, 40 (6): 352-360. 1998.
- [21] VASANTHI, S.; BATH, R.V. Mycotoxins in food occurrence, health & economic significance & food control measures. **Indian Med. Res.** 108: 212-214. 1998.
- [22] WANG, E.; ROSS, P.F.; WILSON, T.M.; RILEY, R.T.; MERRIL, A.H. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by Fumonisin. **J. Biol. Chem.** 266:14486-14490. 1991.