

МИКОТОКСИНИ: РАЗПРОСТРАНЕНИЕ, ТОКСИЧНОСТ И БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ

Георги Беев¹, Димитринка Запрянова²

¹Катедра „Биохимия, микробиология и физика“, Аграрен факултет
Тракийски университет, гр.Стара Загора

²Катедра „Фармакология, ветеринарна физиология и физиологична химия“,
Факултет по Ветеринарна медицина, Тракийски университет, гр.Стара Загора

ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites produced by saprophytic and/or phytopathogenic fungi, which may be present on a variety of crops. They are considered a major issue worldwide because of their harmful effects on animals and humans. These contaminants lead to great economic losses and represent dangerous health implications. Over 400 mycotoxins have been identified. However, only few of them have a significant toxic effect and are of major concern. In this article, some of most important mycotoxins are described, including aflatoxins, ochratoxin A (OTA), trichothecenes, and fumonisins. For each toxin, its distribution, mode of action and symptoms of acute and chronic toxicity are discussed.

Key words: *mycotoxins, toxigenic fungi, animal health, food safety*

Въведение

Производството на храни и фуражи с високо качество е една от най-важните цели на аграрното производство. Усъвършенстването на техниката и методите за анализ през последните години фокусираха интереса на обществото и специалистите върху риска от замърсяване на растителната и животинска продукция с токсични вещества от различен произход. Към тях се числят и микотоксините, като продукти на гъбната микрофлора, съпътстваща растенията, фуражите и храните в процеса на тяхното производство и съхранение. От описаните над 400 вида микотоксини, с най- висок токсикологичен и епидемиологичен потенциал се открояват афлатоксините, охратоксините, фумонизините, зеараленонът, трихотецените, патулинът и др. (Stoev and Denev, 2013). Способността да образуват тези микотоксини имат различни видове микроскопични гъбички, като най-често това са представители на родовете – *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria* и др. Натрупаните знания за тяхната токсичност, практически повсеместното разпространение на микотоксигенните видове, размера на причиняваните икономически загуби, екологично и медико-социално значение, ги превръща в глобален проблем (Beev et al., 2011; Stoev et al, 2012; Stoev and Denev, 2013).

Основни класове микотоксини

Афлатоксини

Химичен състав и физико-химични свойства. Афлатоксините (AFs) са дифуранокумаринови производни, продуцирани чрез активиране на поликетидния път от множество щамове на *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus*. Четирите основни разновидности - AFB1, B2, G1 и G2 са означени на базата на тяхната флуоресценция под ултравиолетова светлина (синя или зелена) и относителната хроматографска подвижност при използване на тънкослойна хроматография (Беев, 2009; Anfossi et al., 2011)

Разпространение. Много субстрати благоприятстват растежа и продукцията на афлатоксини от афлатоксигенните видове. Често срещано явление е естествената контаминация на зърнени храни, смокини, семена на маслодайни растения, ядки, тютюн и дълъг списък от други основни суровини (Беев, 2009).

Токсичност. Токсичността на афлатоксините и по-специално на AFB1, е резултат от метаболитна активизация на тъканните оксигенази главно в черния, а също и в белите дробове. Това е причина за формирането на епоксиди, които лесно се свързват с различни макромолекули в организма (протеини и ДНК), като причиняват (чернодробна) клетъчна токсичност и увреждане на ДНК. Активните епоксиди могат по-нататък да бъдат метаболизирани чрез глутатион-S-трансферазната система, инактивирани и екскретирани (Massey et al., 1995). Клиничните симптоми на острата интоксикация включват, хепатоцелуларна некроза и липидоза около централните вени, хиперплазия на злъчния канал, иктерус, хеморагична болест (коагулопатия), загуба на телесното тегло и анорексия (Bondy and Pestka, 2000).

Биологична активност. Афлатоксините могат да причинят много и разнообразни неблагоприятни ефекти при различните видове животни и човека. При птиците тези ефекти се проявяват главно в увреждане на черния дроб, понижена продуктивност и репродуктивна ефективност (Wyatt, 1991). Приетият с храната AFB1 има способността да се инфилтрира и акумулира в гръдната мускулатура и мастните депа при пилета. Впоследствие AFB1 и неговите метаболити могат да преминат в яйцата (Oliveira et al., 2000).

При преживните, излагането на афлатоксини води до понижаване усвояемостта на приетите хранителни вещества, дължаща се на влошени търбухови функции, на имунокомпетентността и репродуктивните качества (Diekman & Green, 1992).

При прасетата, острата токсичност се характеризира с отказ от прием на храна, редуциране на телесното тегло, промени в хематологичните и биохимични показатели, както и с чернодробни и бъбречни лезии (Marin et al., 2002).

Афлатоксините са класифицирани от Международната Организация за Изучаване на Рака (IARC) към Световната Здравна Организация (WHO), като субстанции попадащи в група I, където се вписват вещества, които са доказани канцерогени. Счита се, че афлатоксините заедно с вирусите причиняващи хепатит В и хепатит С (HBV и HCV) инфекции, са едни от главните причинители на първичен рак на черния дроб при хората в различни региони на света (IARC, 1993).

Охратоксини

Охратоксините са група микотоксини продуцирани главно от няколко вида на род *Aspergillus* и род *Penicillium* (Pittet, 1998). Най-токсичен и често срещан е охратоксин А (ОТА), притежаващ нефротоксични и нефроканцерогенни свойства. Основен продуцент на ОТА е *Aspergillus ochraceus* в условията на субтропичен и тропичен климат, докато в зоните с умерен и по-студен климат това е *Penicillium viridicatum (verrucosum)*.

Химичен състав и физико-химични свойства. Охратоксин А е 5-хлор изокума-риново производно, свързано чрез пептидна връзка с фенилаланин. Представява безцветно кристално вещество, добре разтворимо в полярни органични разтворители и слабо разтворимо във вода. В чист вид е нестабилен под действие на светлина и въздух, поради което се съхранява под формата на етанолов разтвор.

Разпространение. Европейската статистика сочи, че 50% от приетия с храната и фуражите ОТА произхожда от зърнените храни (Stoev et al., 1998d). Оказва се, че ечемикът, овесът, пшеницата и царевичата в скандинавските страни, Индия, а също и в страните от балканския регион съдържат особено високи нива на ОТА (Stoev et al., 2002a).

Токсичност. Основното токсично действие на охратоксините и по-специално на ОТА е насочено към бъбреците. Те причиняват т. нар. нефротоксикоза. Патоморфологичните промени са свързани с тубуларно увреждане и фиброза, последвана от функционално бъбречно разстройство. Подобни симптоми са описани най-много при свине (нефропатия по свинете) и птици (Krogh, 1987). Трябва да се има предвид обаче, че нефротоксичните свойства на ОТА са демонстрирани експериментално върху всички животински видове изследвани досега (Fink-Gremmels, 2005).

Биологична активност. Поради дългия си период на полуразпад, при моногастричните видове, често се откриват остатъци от ОТА в произведените животински продукти, които преминават в организма на човека и могат да доведат до сериозни здравни последици. Счита се, че ОТА е главният етиологичен агент свързан със заболяването балканска ендемична нефропатия (БЕН), което е разпространено в някои региони на България, Хърватия и Албания. Често при боледуващите се установяват карциноми на уретрата, бъбречното легенче и пикочния мехур (Pfohl-Leszkowicz et al., 2002). Опирайки се на натрупаните категорични доказателства за канцерогенния ефект на ОТА върху експериментални животни и същевременно неизясненото му напълно въздействие за човешкия организъм, през 1993 г. IARC включва ОТА в групата на възможните канцерогени за човека (Group 2B) (IARC, 1993).

Фузариумни микотоксини

Традиционно, проблемът свързан с присъствието на микотоксини продуцирани от представители на род *Fusarium* се свързва със зърнените култури отглеждани в районите с умерен климат (Placinta et al., 1999), но съществуват обширни данни за тяхното присъствие в зърнените храни и продукти в световен мащаб (Devreese, 2013). Токсигенните видове от род *Fusarium* имат способността да синтезират широк спектър от различни микотоксини, различаващи се по своята структура и физиологично действие (Rocha et al., 2005). Сред най-важните за животинското здраве и продуктивност са трихотецените, зеараленонът и фумонизините (D'Mello et al., 1997).

Трихотецени

Химичен състав и физико-химични свойства. Трихотецените представляват група включваща повече от 60 метаболитни продукта продуцирани от различни видове микроскопични гъбички – *Fusarium* spp., *Myrothecium* spp., *Phomopsis* spp., *Stahibotrys* spp., *Trichoderma* spp. и др (Ueno, 1983). Всички трихотецени съдържат 12,13-епоксидна група в молекулата, която е отговорна за тяхната токсичност, като наименованието им произлиза от името на един от първите изолирани метаболити от тази група – трихотецин (Bennet and Klich, 2003; Pestka, 2010). Въз основа на химичната си структура трихотецените се разделят на четири основни класа – А, В, С и D, като в първите два се включват тези с най-голямо практическо значение (Placinta et al., 1999). Към клас А се отнасят Т-2 токсин, диацетоксискирпенол (DAS), НТ-2 токсин, неосоланиол (NEO), докато към клас В спадат деоксиниваленол (DON, познат също като вомитоксин), ниваленол (NIV) и фузаренон-Х (Bamburg, 1983). Способността за синтез на тези трихотецени е характерна за определени видове от род *Fusarium*. Така например трихотецените от тип А се продуцират преобладаващо от *F. sporotrichioides* и *F. poae*, докато продукцията на тип В трихотецени се приписва главно на *F. culmorum* и *F. graminearum* (Miller & Trenholm, 1994).

Разпространение. DON, Т-2 и DAS са най-добре изучените трихотецени, които са също така и най-често срещани в естествени условия като контаминанти по зърнените култури и фуражите (Garies et al., 1993), като Т-2 и DAS са сред най-токсичните за животните и човека, причиняващи широк спектър от гастроинтестинални, дерматологични, хематологични и неврологични симптоми (Trenholm et al., 1989). Веднага след тях, по способността си да причинява остри интоксикации се нарежда NIV, докато DON е около десет пъти по-слабо токсичен от Т-2 и DAS (Surai & Dvorska, 2005).

Токсичност. Основното токсично действие на трихотецените е тяхната цитотоксичност, включваща три главни механизма – липидна пероксидация, апоптоза и потискане синтеза на ДНК, РНК и протеин (Surai and Dvorska, 2005). Благодарение на това, засягайки определени органи трихотецените манифестират своето присъствие чрез множество и най-разнообразни клинични признаци, като най-характерните включват: гадене,

повръщане, некротични лезии в устната кухина и езофагуса, хеморагична диария, както и обширни хеморагии в различни органи (Bennet & Klich, 2003).

Биологична активност. Опити *In vivo* проведени върху лабораторни животни демонстрират, че при орален прием или парентерално въвеждане на Т-2 токсин, той не се биоаккумулира и има малък период на полуразпад – по-малко от 30 минути за свине, говеда и кучета (Yagen and Bialer, 1993). Трихотецените се абсорбират бързо в гастроинтестиналния тракт и интензивно се метаболизират в черния дроб чрез частична де-епоксидация (Yoshizawa et al., 1973). Въпреки това епоксидите избегнали чернодробния метаболизъм са способни да предизвикат различни заболявания, които в зависимост от количеството на приетия микотоксин могат да протекат остро (акутно) или хронично (Bamburg, 1983).

При птиците NIV, Т-2 и DAS най-често причиняват орални лезии и ерозии в мускулестия стомах (Kubena et al., 1997); Други клинични признаци индуцирани след прием на чист Т-2 токсин са: астения, диария, безапетитие и намаляване на телесното тегло (Sokolovic et al., 2008); силно снижаване носливостта на родителските стада, качеството на яйцата и люпимостта им (Chi et al., 1978); неврологични признаци като ненормална позиция на крилата, хистероидни пристъпи и залитане (Witlock et al., 1977); атрофия на *Bursa Fabricii* (Hoeg et al., 1982); повишаване възприемчивостта към бактериални инфекции (Boonchuvit et al., 1975). Според Mezes et al. (1999) най-чувствителни към действието на Т-2 токсина са гъските, следвани от патиците и пилетата.

Счита се, че Т-2 е отговорен за предизвикването на отказ от прием на храна и анорексия при прасета, намаляване на телесното тегло, диария, хеморагии, кожни лезии и имunosупресия (Rasmussen et al., 2003).

Говеда, захранвани в продължение на 15 дни с включен в диетата Т-2 токсин (50 ppm) не са показали признаци на заболяване и патоморфологични промени по органите, служещи като мишени за токсичното действие на трихотецените, дължащо се на неутрализирането им от търбуховата микрофлора (Williams, 1989). При телета получаващи 0.32-0.46 mg/kg. Т-2 токсин *per os* се наблюдава начално развитие на язви в абомазума и търбуха, съпроводено с наличието на кръв във фекалиите. Телетата губят апетит, дехидратират се и снижават повече или по-малко телесното си тегло, в зависимост от дозата на микотоксина (Williams, 1989).

Присъствието на Т-2 и DAS в храната при хората се асоциира със заболяването Алиментарно Токсична Алевкия (АТА), предизвикало смъртта на хиляди хора в района на Оренбург (бивш Съветски съюз) след края на Втората световна война, които са консумирали хляб приготвен от презимувало на полето зърно, контаминирано с видовете *F. sporotrichioides* и *F. poae* (Peraica and Domijan, 2001). Началните симптоми на заболяването включвали гастрити, гастро-ентерити, коремни и езофагеални болки и диария. Понататъшната консумация водела до непрекъснати залитания и дезориентация с вертиго, неприятен вкус в устата, прогресивна левкопения, гранулоцитопения и лимфоцитоза, обширни хеморагии, атония и асфиксия (Berdall & Miller, 1994).

Фумонизини

Дълго преди да бъдат идентифицирани фумонизините, токсичното им действие при животните се е асоциирало с консумацията на царевица контаминирана с *F. verticillioides*. Първият описан случай на левкоенцефаломалация при конете (equine leucoencephalomalacia – ELEM), където се прави връзка между заболяването и консумацията на плесенясала царевица е през 1902 г. в САЩ. Sheldon изолира и идентифицира *F. verticillioides* като възможен причинител на токсикозата предизвикана от плесенясала царевица (Marasas, 2001). По късно през 70^{-те} години на миналия век, чрез използване на чисти култури *F. verticillioides* са били предизвикани характерните за ELEM симптоми, първо при магарета в Египет, а след това и при коне в Южна Африка (Kellerman et al., 1972; Marasas et al., 1976), както и белодробен едем при прасета и чернодробен рак при плъхове (Marasas et al., 2001). През 1988 г. е

изолиран и характеризирани етиологичния агент отговорен за микотоксикозите предизвикани вследствие консумацията на царевица контаминирана с *F. verticillioides* и е наречен фумонизин (Bezuidenhout *et al.*, 1988; Gelderblom *et al.*, 1988).

Химичен състав и физико-химични свойства. Фумонизините (polyhydroxyalkilamines) представляват група от поне 14 различни фузариумни микотоксина (Dragan *et al.*, 2001), продуцирани основно от *F. verticillioides* (= *F. moniliforme*), *F. proliferatum*, *F. nygamai*, както и *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* (Rheeder *et al.*, 2002). Изолираните досега фумонизини се разпределят в четири серии, обозначени с латинските букви А, В, С и Р. В серия В са включени най-активните фумонизини и в частност фумонизин В1 (FB1), който съставлява около 70% от общото количество на всички фумонизини (Tessari *et al.*, 2006).

Разпространение. Най-често се открива в царевицата и комбинирани фуражи, както и в царевичните продукти предназначени за човешка консумация (Logrieco *et al.*, 2002).

Токсичност. Основният механизъм на действие на фумонизините е свързан със способността им да инхибират синтеза на комплекса сфинголипиди чрез блокиране на ензима церамид синтаза, който взема важно участие в регулирането на клетъчния растеж, клетъчната диференциация, клетъчния пермеабилитет на ендотелните клетки и клетъчната смърт (апоптоза) (Tsunoda, 1998). Фумонизините са водоразтворими полярни съединения и като такива имат много ниска абсорбция от гастроинтестиналния тракт (около 1%), дори при моногастричните видове (Fink-Gremmels, 2005). Благодарение на хидрофилните си характеристики, фумонизините се екскретират бързо от животинския организъм и не се установява преминаване в животинската продукция (месо, мляко, яйца) (Prelusky *et al.*, 1996).

Биологична активност. Въпреки че основният механизъм на действие на фумонизините, изглежда е еднакъв за всички видове, съществуват значителни разлики в крайните токсични ефекти (Speijers, 2000). Основни органи мишени за действието на фумонизините при плъховете и мишките са черният дроб и бъбреците (Voss *et al.*, 1993). Подобно общо хепатотоксично и нефротоксично действие, макар и изразено в по-малка степен се наблюдава при всички изследвани животински видове (Howard *et al.*, 2001).

При конете, фумонизиновите интоксикации са манифестирани с левкоенцефаломалация (equine leukoencephalomalacia - ELEM). ELEM представлява остро протичащо неврологично разстройство с летален изход, засягащо конете и магаретата, включващо характерни клинични признаци като атаксия, парези, хиперсензитивност и двигателни разстройства, вследствие появата на масивни втечнявания на мозъчната тъкан, обхващащи една от двете или двете хемисфери (Shumacher *et al.*, 1995).

Характерно заболяване спадащо към фумонизиновите интоксикации е и белодробния едем при прасета (porcine pulmonary edema - PPE), който се свързва най-вече с кардиална дисфункция на лявата сърдечна камера, отколкото със специфично увреждане функцията на белодробния ендотел (Hashek *et al.*, 2001). Патогенезата на фумонизининдуцирания белодробен едем при прасетата, може да се причисли към видово специфичните заболявания, защото е документирано единствено при тях (Hashek *et al.*, 2001). В допълнение, след хронично излагане на ниски фумонизинови концентрации, свинете развиват чернодробна хиперплазия с повишени чернодробни ензими в серума и дегенерация на жлезните ацини в панкреаса (Gumprecht *et al.*, 1998).

Докато, едрите преживни животни реагират на фумонизините само с леки чернодробни симптоми, при дребните преживни, като например овцете, бъбреците са главният орган, който най-често се поразява от тях (Caloni *et al.*, 2000).

Интересът към фумонизините нараства значително след публикуването на епидемиологични данни, които насочват към възможна връзка между присъствието на *F. verticillioides* и фумонизини в царевица използвана за приготвянето на продукти, консумирани от отделни човешки общности и твърде високият процент на заболяемост от

рак на езофагуса, в някои части на Южна Африка, Китай, САЩ и Италия (IPCS, 2000). Доказаната канцерогенна активност на FB1 при гризачи (Gelderblom et al., 1991), както и свойството им да предизвикват апоптоза *in vitro* в човешки епителни клетки (Caloni et al., 2002) и *in vivo* в черния дроб и бъбреците на плъхове и мишки (Tolleson et al., 1996), води до включването на фумонизините в групата на възможните канцерогени за човека (Group 2B) (IARC, 1993).

Заклучение

Микотоксините представляват значителен риск за здравето и благосъстоянието на хората и животните и безопасността на храните. Въпреки усилията от проведените научни изследвания, които се опитват да очертаят множеството аспекти на замърсяване с микотоксини при храните и суровините, много въпроси остават без отговор. Чрез досега разработените стратегии, включително агрономически практики, трансгенетично размножаване при растения, биотехнологични подходи, фуражни добавки под формата на микотоксинсвързващи агенти и др., трудно се контролира експозицията на хората и животните, по отношение на микотоксините. Ситуацията е допълнително усложнена от хилядите вторични гъбни метаболити, които в по-голямата си част не са тествани за токсичност, едновременно присъствие на няколко микотоксина и неизяснените взаимодействия между тях. Въпреки това, от значение за производителите на суровини и храни е, че повишаването на осведомеността им и въвеждането на постоянен мониторинг по отношение на микотоксините би довело до производството на по-качествени и безопасни продукти.

Литература

1. **Беев, Г.** 2009. Микотоксикологична оценка на замърсяването на зърнени култури с микроскопични гъби от род *Fusarium* и техни микотоксини. Дисертация за присъждане на научна и образователна степен „Доктор”, шифър 01.06.12, Микробиология. Тракийски университет Стара Загора.
2. **Anfossi, L., C. Baggiani, C. Giovannoli and G. Giraudi.** 2011. Occurrence of Aflatoxin M1 in Dairy Products, Aflatoxins - Detection, Measurement and Control, Dr Irineo Torres-Pacheco (Ed.), ISBN:978-953-307-711-6, InTech.
3. **Bamburg, J. R.** 1983. Biological and Biochemical Action of Trichothecene Mycotoxins. Progress in Molecular and Subcellular Biology 8: 41-110.
4. **Beardall, J. M., and J. D. Miller.** 1994. Disease in humans with mycotoxins as possible causes, p. 487-539. In J. D. Miller and H. L. Trenholm (ed.), Mycotoxins in grains. Compounds other than aflatoxin. Eagan Press, St. Paul, Minn.
5. **Beev, G., S. Denev, and D. Pavlov.** 2011. Occurrence and distribution of *Fusarium* species in wheat grain. *Agricultural Science and Technology*, 3(2): 165-168.
6. **Bennet, J. W., M. Klich,** 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16(3): 497-516.
7. **Bezuidenhout, S. C., Gelderblom, W. C. A., Gorstallman, C. P., Horak, R. M., Marasas, W. F. O., Spiteller, G. & Vlegaar, R.** (1988). Structure Elucidation of the Fumonisin, Mycotoxins From *Fusarium-Moniliforme*. *J. Chem. Society-Chem. Commun.* 743-745.
8. **Bondy, G. S., J. J. Pestka.** 2000. Immunomodulation by fungal toxins. *J. Toxicol. Env. Health* 3: 109-143.
9. **Caloni, F., Spotti, M., Pompa, G., Zucco, F., Stamatii, A., and De Angelis, I.** 2002. Evaluation of fumonisin B(1) and its metabolites absorption and toxicity on intestinal cells line Caco-2. *Toxicol* 40: 1181-1188.

10. **Chi, M., T. S. Robinson, C. J. Mirocha, J. C. Behrens, and W. Shimoda.** 1978. Transmission of radioactivity into eggs from laying hens (*Gallus domesticus*) administered tritium labeled T-2 toxin. *Poul. Sci.* 57:1234-1238.
11. **Devreese, M., P. De Backer, S. Croubels.** 2013. Overview of the most important mycotoxins for the pig and poultry husbandry. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 82: 171-180.
12. **Diekman, M. A., and M. L. Green.** 1992. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *J. Anim. Sci.* 70:1615-1627.
13. **D'Mello, J.P.C., Macdonald A.M.C.,** 1997. Mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 69: 155-166.
14. **Dragan, Y.P, W.R. Bidlack, S.M. Cohen. T.L. Goldsworthy. G.C. Hard. P.C. and Howard, R.T. Riley and K.A. Voss.** 2001. Implications of apoptosis for toxicity, carcinogenicity and risk assessment: Fumonisin B1 as an example. *Toxicol. Sci.*, 61: 6–17.
15. **Fink-Gremmels, J.** 2005. Mycotoxicoses in Animal Health. In: S. Denev (Ed), Evaluating the impact of micotoxins in Europe. Alltech, Proceeding of the European Mycotoxin Seminar, February 22nd, Sofia, Bulgaria, pp. 25-47.
16. **Gelderblom, W. C. A., K. Jaskiewicz, W. F. O. Marasas, P. G. Thiel, R. M. Horak, R. Vleggaar, and N. P. J. Kriek.** 1988. Fumonisin- novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme* Appl. Environ. Microbiol. 54:1806–1811.
17. **Haschek, W.M., G. Motelin, D. K. Ness, K. S. Harlin, W. F. Hall, R. F. Vesonder, R. E. Peterson, V. R. Beasley,** 1992. Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. *Mycopathologia* 117:83–96.
18. **Hoerr, F. J., W. W. Carlton, B. Yangen, and A. Z. Joffe.** 1982. Mycotoxicosis produced in broiler chickens by multiple doses of either T-2 or diacetoxyscirpenol. *Avian Pathol.* 11:369-383.
19. **Howard, P.C., R. M. Eppley, M. E. Stack, A. Warbritton, K. A. Voss, R. J. Lorentzen, R. M. Kovach, T. J. Bucci ,** 2001. Fumonisin B1 carcinogenicity in a two year feeding study using F344 rats and B6C3F1 mice. *Environ. Health Perspect.* 109: 277-282.
20. **IARC.** 1993. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans vol. 56. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. International Agency for Research on Cancer, Lyon; France. 599 p.
21. **IARC.** 1993. Ochratoxin A. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans vol. 56. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. International Agency for Research on Cancer, Lyon; France. 489-521.
22. **IPCS (2000).** (International Program on Chemical Safety) *Environ. Health Criteria* 219-Fumonisin B1 WHO, Geneva, 1-150.
23. **Kellerman, T.S., W.F.O. Marasas, J.G. Pienaar, T.W. Naude.** 1972. A mycotoxicosis of Equidae, caused by *F. moniliforme* Sheldon. A preliminary communication. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 39: 205-208.
24. **Krogh, P.** 1987. Ochratoxin in foods. In P. Krogh (ed.), *Mycotoxins in food.* Academic Press, London, United Kingdom. p. 97–110
25. **Kubena, L. F., T. S. Edrington, R. B. Harvey, S. A. Buckley, T. D. Phillips, Rottinghaus, G. E, and H. H. Caspers.** 1997. Individual and combined effects of fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. *Poul. Sci.* 76:1239-1247.
26. **Logrieco, A., G. Mule, A. Moretti and A. Bottalico.** 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *Europ. J. Plant Pathol.* 108: 597–609.
27. **Marasas, W.F.O., T.S. Kellerman, J.G. Pienaar, T.W. Naude.** 1976. Leukoencephalomalacia: a mycotoxicosis of Equidae caused by *F. moniliforme* Sheldon. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 43: 113-122.

28. **Marasas, W. F. O., J. D. Miller, R. T. Riley, and A. Visconti.** 2001. Fumonisin-occurrence, toxicology, metabolism and risk assessment, p, 332–359. *In* B. A. Summerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess (ed.), *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St. Paul, Minn.
29. **Marin, D. E., I. Taranu, R. P. Bunaciu, F. Pascale, D. S. Tudor, N. Avram, M. Sarca, I. Cureu, R. D. Criste, V. Suta, and I. P. Oswald.** 2002. Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin. *J. Anim. Sci.* 80: 1250-1257.
30. **Mézes, M., M. Barta, and G. Nagy.** 1999. Comparative investigation on the effect of T-2 mycotoxin on lipid peroxidation and antioxidant status in different poultry species. *Res. Vet. Sci.* 66(1):19-23.
31. **Miller, J. D., and H. L. Trenholm.** 1994. *Mycotoxicosis in grains: compounds other than aflatoxins.* Eagan Press, St. Paul, MN.
32. **Oliveira, A. F. O., E. Kobashigawa, T. A. Reis, L. Mestieri, R. Albuquerque, and L. M. B. Correia.** 2000. Aflatoxin B1 residues in eggs of laying hens fed a diet containing different levels of mycotoxins. *Food Addit. Contam.* 17(6):459-462.
33. **Pfohl-Leszkiwicz A., T. Petkova-Bocharova, I.N.Chernozemsky, M. Castegnaro.** 2002. Balkan endemic nephropathy and the associated urinary tract tumours: review on etiological causes, potential role of mycotoxins. *Food Add. Contam.* 19 (3):282–302.
34. **Peraica, M., Domijan, A.M.** 2001. Contamination of food with mycotoxins and human health. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 52: 23-35.
35. **Pestka J. J.** 2010. Toxicological mechanisms and potential health effects of deoxynivalenol and nivalenol. *World Mycotoxin Journal* 3(4): 323-347.
36. **Pittet, A.** 1998. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an updated review. *Revue Med. Vet.* 149: 479-492.
37. **Placinta, C. M., J. P. F. D.Mello., and A. M. C. Macdonald.** 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *An. Feed Sci. Technol.* 78:21-37.
38. **Rasmussen, P. H., F. Ghorbani, and T. Berg.** 2003. Deoxynivalenol and other *Fusarium* toxins in wheat and rye flours on the Danish market. *Food Addit. Contam.* 20(4):396-404.
39. **Rheeder, J. P., W. F. Marasas, and H. F. Vismer.** 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:2102–2105.
40. **Rocha, O., K. Ansari, F.M. Doohan.** 2005. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. *Food Additives and Contaminants Part A* 22: 369-378.
41. **Sokolovic, M., V. Garaj-Vrhovac, B. Simpraga.** 2008. T-2 toxin: incidence and toxicity in poultry. *Arhiv Za Higijenu Rada I Toksikologiju* 59: 43-52.
42. **Stoev, S. and S. Denev,** 2013. Porcine/Chicken or Human Nephropathy as the Result of Joint Mycotoxins Interaction. *Toxins* 5: 1503-1530.
43. **Stoev, S. D., D. Gundasheva, I. Zarkov, T. Mircheva, D. Zapryanova, S. A. Denev, Y. Mitev, Y. J. Sneider.** 2012. Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a moldy diet containing ochratoxin A and fumonisin B1. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64(7-8): 733-741.
44. **Stoev, S. D., H. Daskalov, B. Radic, A. Domijan, M. Peraica,** 2002a. Spontaneous mycotoxic nephropathy in Bulgarian chickens with unclarified mycotoxin aetiology. *Veterinary Research.* 33, 1: 83-94.
45. **Stoev, S. D., B. Hald and P. Mantle.** 1998d. Porcine nephropathy in Bulgaria: a progressive syndrome of complex of uncertain (mycotoxin) aetiology. *The Veterinary Record.* 142: 190-194.

46. **Surai, P. and J. Dvorska.** 2005. Interaction between mycotoxins, immunity and antioxidant systems. In: S. Denev (Ed), Evaluating the impact of micotoxins in Europe. Alltech, Proceeding of the European Mycotoxin Seminar, February 22nd, Sofia, Bulgaria, pp. 50-75.
47. **Tolleson, W. H., Melchior, W. B., Jr., Morris, S. M., McGarrity, L. J., Domon, O. E., Muskhelishvili, L., James, S. J., and Howard, P. C.** 1996. Apoptotic and anti-proliferative effects of fumonisin B1 in human keratinocytes, fibroblasts, esophageal epithelial cells and hepatoma cells. *Carcinogenesis* 17:239–249.
48. **Trenholm, H. L., D. Friend, R. M. G. Hamilton, D. B. Prelusky, and B. C. Foster.** 1989. Lethal toxicity and nonspecific effects. In V. L. Beasley (ed.), Trichothecene mycotoxicosis: pathophysiologic effects, vol. I. CRC Press, Boca Raton, Fla. p. 107–142.
49. **Tsunoda, M., R.P. Sharma and R.T. Riley.** 1998. Early fumonisin B1 toxicity in relation to disrupted sphingolipid metabolism in male BALB/c mice. *J. Bioch. Mol. Toxicol.* 12:281-289.
50. **Ueno, Y.** (ed.). 1983. Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
51. **Voss KA, Chamberlain WJ, Bacon CW, Norred WPA.** 1993. A preliminary investigation on renal and hepatic toxicity in rats fed purified fumonisin B1. *Natural Toxins* 1:222–228
52. **Witlock, D. R., R. D. Wyatt and M. D. Ruff.** 1977. Morphological changes in the avian intestine induced by citrinin and lack of effect of aflatoxin and T-2 toxin as seen with scanning electron microscopy. *Toxicon* 15: 41-44.
53. **Wyatt, R. D.** 1991. Poultry. In *mycotoxins and animal foods*; Smith, J. E., R. S. Henderson., Eds., CRC Press: Boca Raton, FL. 553-606.
54. **Yagen, B., and M. Bialer.** 1993. Metabolism and pharmacokinetics of T-2 toxin and related trichothecenes. *Drug Metab. Rev.* 25:281-323.
55. **Yoshizawa, T., N. Morooka.** 1973. Deoxynivalenol and its monoacetate: New Mycotoxins from *Fusarium roseum* and moldy barley. *Agric. Biol. Chem.* 37: 2933-2934.