



Revisión

Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas

M. Á. Pavón Moreno, I. González Alonso, R. Martín de Santos y T. García Lacarra

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

Resumen

Alternaria es un género fúngico muy común, donde se incluyen numerosas especies saprofitas, endofíticas y patógenas ampliamente distribuidas en el suelo y la materia orgánica en descomposición. Incluye especies patógenas que pueden invadir los cultivos vegetales antes y después de la recolección y es responsable de considerables pérdidas económicas, debido a que reduce el rendimiento de las cosechas y produce alteraciones en los vegetales durante su almacenamiento. Las especies del género *Alternaria* sintetizan más de 70 metabolitos secundarios tóxicos para las plantas (fitotoxinas), algunos de los cuales afectan también a personas y animales, por lo que se consideran micotoxinas. La exposición a las toxinas de *Alternaria* spp. se ha relacionado con la aparición de efectos adversos para la salud en personas y animales y, en muchos casos, se ha demostrado que tienen capacidad genotóxica, mutagénica, carcinogénica y citotóxica. Las micotoxinas de *Alternaria* spp. se han aislado de frutas (manzana, pera, melón, albaricoque, uvas, uvas pasas, fresa, aceituna, cítricos e higos desecados), hortalizas (tomate, pimiento y zanahoria) y tubérculos (patata), así como de numerosos alimentos procesados elaborados con materias primas contaminadas (zumos, conservas, salsas, etc.). Además, determinadas especies de *Alternaria* están implicadas en infecciones y alergias humanas, hasta el punto de que *Alternaria* se considera uno de los principales géneros fúngicos causantes de alergias.

(Nutr Hosp. 2012;27:1772-1781)

DOI:10.3305/nh.2012.27.6.6017

Palabras clave: Micotoxinas. *Alternaria* spp. Toxicidad. Alimentos. Enfermedad humana.

Abreviaturas

ALT: Altenueno.
AOH: Alternariol.

Correspondencia:

Teresa García Lacarra.
Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos.
Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.
28040 Madrid. España.
E-mail: tgarcia@vet.ucm.es

Recibido: 17-V-2012.
1.ª Revisión: 22-VI-2012.
Aceptado: 17-VII-2012.

THE IMPORTANCE OF GENUS *ALTERNARIA* IN MYCOTOXINS PRODUCTION AND HUMAN DISEASES

Abstract

Alternaria is a cosmopolitan fungal genus that includes saprophytic, endophytic and pathogenic species, widely distributed in soil and organic matter in decomposition. Plant pathogenic species affect cereals, vegetables and fruit crops in the field and during storage. *Alternaria* spp. contamination is responsible for some of the world's most devastating plant diseases, causing serious reduction of crop yields and considerable economic losses. *Alternaria* species produce more than 70 secondary metabolites which are toxic to plants, and some of these phytotoxins have been chemically characterised and reported to act as mycotoxins to humans and animals. Exposure to *Alternaria* spp. toxins has been linked to a variety of adverse effects on human and animal health, including genotoxic, mutagenic, carcinogenic and cytotoxic effects. *Alternaria* spp. mycotoxins have been isolated from fruits (apple, pear, melon, apricot, grapes, raisins, strawberry, olive, citrus fruits and dried figs), vegetables (tomato, pepper and carrot) and tubers (potato), as well as from several processed foodstuffs manufactured with damaged raw materials (juices, preserves, sauces, etc.). Moreover, *Alternaria* spp. are frequently associated with allergic reactions in sensitized individuals.

(Nutr Hosp. 2012;27:1772-1781)

DOI:10.3305/nh.2012.27.6.6017

Key words: Mycotoxins. *Alternaria* spp. Toxicity. Food. Human disease.

AME: Alternariol monometil éter.

TeA: Ácido tenuazónico.

ATX: Alvertoxina.

SEE: Síndrome del Edificio Enfermo.

Introducción

Los mohos son microorganismos cuya presencia en los alimentos puede tener consecuencias diversas y en ocasiones son de gran utilidad en la industria alimentaria. Determinadas especies de géneros fúngicos como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor* o *Geotri-*

chum participan en la maduración de quesos, productos cárnicos crudos madurados y alimentos orientales a base de soja y cereales. Además, se emplean para la producción de metabolitos usados como aditivos en diferentes tipos de alimentos como zumos, licores o productos lácteos¹. Sin embargo, también tienen consecuencias negativas, ya que la contaminación fúngica es una de las principales causas de alteración de los alimentos y la presencia de determinadas especies de géneros como *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* o *Alternaria* constituye una amenaza para la salud de los consumidores debido a la producción de compuestos tóxicos para el ser humano (micotoxinas).

Las autoridades sanitarias europeas han establecido niveles máximos permitidos de determinadas micotoxinas como las aflatoxinas B₁, B₂, G₁, G₂ y M₁, ocratoxina A, patulina, deoxinivalenol, zearalenona y fumonisinas B₁ y B₂, y toxinas T-2 y HT-2 en los alimentos^{2,3,4,5}. Sin embargo, son cada vez más frecuentes los casos de productos hortofrutícolas y sus derivados en los que se demuestra la presencia de especies del género *Alternaria*, muchas de ellas productoras de micotoxinas como el altenueno (ALT), alternariol (AOH), alternariol monometil éter (AME), ácido tenuazónico (TeA) y altertoxinas (ATX). Este aumento en la incidencia de alimentos contaminados con *Alternaria* spp. y/o sus micotoxinas, causa especial preocupación por la repercusión que puede tener su presencia en la salud de los consumidores, debido a su elevado poder toxicológico^{6,7}. Además, determinadas especies de *Alternaria* también se encuentran relacionadas con la aparición de infecciones y alergias en personas^{8,9}.

Micotoxinas producidas por el género *Alternaria*

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de bajo peso molecular (Pm < 700 kDa) producidos por determinadas especies fúngicas al final de la fase exponencial de crecimiento y durante la fase estacionaria. La ingestión, inhalación o absorción cutánea de estos compuestos provoca efectos adversos en la salud de animales y personas. Las micotoxinas pueden contaminar los alimentos, los piensos o las materias primas utilizadas para su elaboración, originando un grupo de enfermedades o trastornos, denominados micotoxicosis^{1,10,11}.

Las especies del género *Alternaria* sintetizan más de 70 metabolitos secundarios tóxicos para las plantas (fitotoxinas), pero solo una pequeña parte de ellos se han caracterizado químicamente e identificado como compuestos tóxicos para personas y animales, por lo que se consideran micotoxinas (tabla I)^{7,12,13}. Atendiendo a sus efectos sobre las plantas, las toxinas de *Alternaria* spp. se agrupan en toxinas no específicas de hospedador y toxinas específicas de hospedador. Las toxinas no específicas de hospedador afectan a una amplia variedad de especies vegetales, aunque en muchos casos su modo de acción no se ha identificado. Sin embargo, si se ha determinado

Tabla I
Toxinas producidas por las principales especies toxigénicas del género *Alternaria*

Especie	Toxina ^a
<i>Alternaria alternata</i>	AOH, AME, ALT, Altenueno, ATX-I, ATX-II, ATX-III, Tentoxina, AAL toxinas, AS toxina, AF toxina, ACR toxina, ACTG toxina
<i>A. arborescens</i>	AOH, AME, ALT, ATX-I, TeA
<i>A. brassicae</i>	AOH, AME, TeA
<i>A. brassicicola</i>	AOH, AME, TeA, ATX-I
<i>A. citri</i>	AOH, AME, ALT, TeA
<i>A. cucumerina</i>	AOH, AME, Macrosporina
<i>A. dauci</i>	AOH, AME, Macrosporina, Zinniol
<i>A. gaisen</i>	AOH, AME, ALT, Altenueno, TeA, ATX-I
<i>A. infectoria</i>	Infectopironas, Novae-zelandinas
<i>A. longipes</i>	AME, TeA, ATX-I
<i>A. mali</i>	TeA, ATX-I, ATX-II, ATX-III, Tentoxina, AM-toxina
<i>A. porri</i>	AOH, AME, ALT, TeA, Altersolanol, Tentoxin, Macrosporina, Zinniol
<i>A. radicina</i>	ALT, TeA, ATX-I, Radicinina, Radicinol
<i>A. solani</i>	AOH, AME, Altersolanol, Macrosporina, Zinniol
<i>A. tenuissima</i>	AOH, AME, ALT, TeA, ATX-I, Tentoxina

^aAOH: Alternariol; AME: Alternariol monometil éter; ALT: Altenueno; TeA: Ácido tenuazónico; ATX: Altertoxina; TEN: Tentoxina.

la actividad fitotóxica de toxinas como el zinniol, el TeA y la tentoxina. El TeA inhibe la síntesis proteica, mientras que el zinniol afecta a la permeabilización de la membrana y la tentoxina inhibe la fosforilación debido a que se une a la cloroplasto ATP sintetasa¹⁴. Además, algunas de estas toxinas no específicas como el AOH, AME, ALT, TeA y ATX se han relacionado con la aparición de enfermedades en personas y animales¹³.

Las toxinas específicas de hospedador afectan a un menor número de especies vegetales. Por lo general, causan alteraciones severas en determinadas plantas donde se desarrolla la especie de *Alternaria* productora de estas toxinas. Aunque se han determinado los mecanismos de acción de algunas toxinas específicas de hospedador, como las AAL toxinas, ya que desempeñan un papel crucial en la patogenicidad de la especie que colonizan, todavía existen pocos estudios sobre su toxicidad en animales¹².

El estudio de la síntesis de micotoxinas se realiza mediante el cultivo de las especies productoras en condiciones y medios de cultivo óptimos. Sin embargo, para que se produzcan las micotoxinas, además de la presencia de la especie productora, influyen las condiciones ambientales y la composición del sustrato. En la tabla I se muestran las especies productoras de las principales toxinas de *Alternaria* spp. descritas. Toxinas como el AOH, AME, ALT, TeA, ATX, TEN o altenu-

sina pueden sintetizarlas diferentes especies del género^{15,16}. Por el contrario, otras toxinas como el alter-solanol, la macrosporina o el zinniol, solo las producen las especies del grupo de *A. porri*, al que pertenecen *A. porri*, *A. dauci*, *A. solani* y *A. cucumerina*^{17,18}, mientras que las especies englobadas en el grupo de *A. infectoria* son las únicas productoras de infectopironas y novae-zelandinas^{19,20}. Por último, existen toxinas que solo las sintetizan determinadas cepas patógenas. En ese grupo se incluyen las AAL toxinas (*A. alternata* f. sp. *lycopersici*), AS toxina (*A. alternata* patotipo del girasol), AF toxina (*A. alternata* f. sp. *fragariae*), ACR toxina (*A. alternata* patotipo del limón rugoso) y ACTG toxina (*A. alternata* patotipo de las mandarinas). La AK toxina y la AM toxina se han detectado en peras y manzanas contaminadas con cepas patógenas de *A. gaisen* y *A. mali*, respectivamente^{14,21,22}. Sin embargo, no todas las cepas pertenecientes a estos grupos producen siempre dichas toxinas, ya que la síntesis está determinada por las condiciones ambientales en que se desarrolla el moho.

Las especies de *Alternaria* pueden producir micotoxinas en intervalos de temperatura muy amplios, pero siempre con actividades de agua superiores a 0,90. Young et al.²³ determinaron que la máxima producción de TeA en semillas de algodón inoculadas con *A. tenuissima* tiene lugar a 20 °C y con un 37,5% de humedad del grano. Magan y Lacey²⁴ identificaron una producción máxima de AOH, AME y ALT en granos de trigo contaminados con *A. alternata* a 25 °C y 0,98 a_w, mientras que en pulpa de tomate contaminada con varias especies de *Alternaria*, las condiciones óptimas para la producción de AOH, AME y TeA identificadas por Pose et al.²⁵ fueron de 21 °C/0,954 a_w, 35 °C/0,954 a_w y 21 °C/0,982 a_w, respectivamente. Por último, Oviedo et al.²⁶, observaron máximos de producción de AOH y AME a 0,98 a_w, aunque la temperatura óptima dependía de la cepa de *A. alternata* que inoculaban en granos de soja irradiados.

Diversos estudios demuestran que la composición del sustrato en el que se desarrolla el moho influye en la producción de micotoxinas. En este sentido, aunque no existen datos sobre su influencia en la síntesis de micotoxinas de *Alternaria* spp., se ha descrito el efecto estimulante de determinados aminoácidos, ácidos grasos o metales como el zinc en la producción de aflatoxinas²⁷. También se ha observado el efecto inhibitorio de determinados compuestos fenólicos en la producción de varias micotoxinas^{28,29}.

Propiedades físicas y químicas de las micotoxinas de *Alternaria* spp.

Las toxinas de *Alternaria* spp. se clasifican en cinco grupos atendiendo a sus estructuras químicas:

- Dibenzó- α -pironas: AOH, AME y ALT.
- Perileno quinonas: ATX-I, -II, -III.

- Ácidos tetrámicos: TeA.
- AAL toxinas: AAL-TA1, AAL-TA2, AAL-TB1, AAL-TB2.
- Otras estructuras: TEN.

En la tabla II se muestran las propiedades bioquímicas de las principales toxinas de *Alternaria* spp. Estas micotoxinas se aislaron, caracterizaron e identificaron entre los años 1953 y 1986⁷. El estudio de las rutas de biosíntesis y el metabolismo del AOH, AME y ALT, demostró que se pueden conjugar con otras moléculas más polares como la glucosa, aminoácidos y sulfatos, presentes en los sustratos vegetales donde se producen. La formación de conjugados en los alimentos dificulta el desarrollo de métodos analíticos para su detección, debido a los cambios de polaridad que presentan respecto a las micotoxinas precursoras^{30,31,32}. En cuanto al metabolismo de las toxinas, la hidroxilación del AOH, AME y el ALT y su conjugación con el ácido glucurónico y sulfatos se ha demostrado en estudios *in vitro*. Sin embargo, no se dispone de datos suficientes sobre la absorción, la distribución y excreción de las toxinas de *Alternaria* spp. en personas y animales.

Toxicidad de las micotoxinas producidas por *Alternaria* spp.

La exposición a las toxinas de *Alternaria* spp. se ha relacionado con la aparición de una gran variedad de efectos adversos en la salud de personas y animales. Determinados cultivos de *Alternaria* spp. son tóxicos en ratas, embriones de pollo y cultivos celulares humanos, y también son teratogénicos y fetotóxicos en ratones^{33,34,35,36}. Además, los extractos de cultivos de *A. alternata* son mutagénicos en varios sistemas *in vitro* y cancerígenos en ratas alimentadas con piensos contaminados^{37,38,39,40}. Por otra parte, Liu et al.⁴¹ relacionaron el consumo de alimentos contaminados con *A. alternata* con una elevada incidencia de cáncer de esófago. Los efectos tóxicos que los cultivos de *Alternaria* spp. producen en los diferentes modelos *in vitro* e *in vivo* son muy variables, ya que dependen del tipo de micotoxinas sintetizadas (tabla III).

Dibenzó- α -pironas

AOH y AME son mutagénicos, genotóxicos, carcinogénicos y citotóxicos en cultivos celulares animales y bacterianos. Presentan una actividad mutagénica elevada tanto en cultivos de *Bacillus subtilis*⁴², como de *Escherichia coli*^{43,44}, y baja en cultivos de *Salmonella* Typhimurium^{40,45}. Los estudios de genotoxicidad demuestran que el AOH tiene mayor actividad que el AME^{38,46,47,48,49}. En cuanto al poder carcinogénico de estas micotoxinas, no existen estudios exhaustivos en animales. Sin embargo, en ratones alimentados con 50-100 mg de

Tabla II
Propiedades bioquímicas de las principales microtoxinas producidas por Alternaria spp.

Toxina	Nombre bioquímico	N.º CAS	Pm (Da)	Fórmula
Alternariol (AOH)	3,7,9-Trihidroxi-1-metil-6H-dibenzo[b,d]piran-6-ona	641-38-3	258	C ₁₄ H ₁₀ O ₅
Alternariol monometil éter (AME)	3,7-Dihidroxi-9-metoxi-1-metil-6H-dibenzo[b,d]piran-6-ona	23452-05-3	272	C ₁₅ H ₁₂ O ₅
Altenueno (ALT)	(2R,3R,4aR)-rel-2,3,4,4a-Tetrahidro-2,3,7-trihidroxi-9-metoxi-4a-metil-6H-dibenzo[b,d]piran-6-ona	29752-43-0	292	C ₁₅ H ₁₆ O ₆
Altertoxina I (ATX-I)	(1S,12aR,12bS)-1,2,11,12,12 ^a ,12b-Hexahidro-1,4,9,12a-tetrahidroxi-3,10-perilenodiona	56258-32-3	352	C ₂₀ H ₁₆ O ₆
Altertoxina II (ATX-II)	(7aR,8aR,8bS,8cR)-7a,8 ^a ,8b,8c,9,10-Hexahidro-1,6,8c-trihidroxi-perilo[1,2-b]oxireno-7,11-diona	56257-59-1	350	C ₂₀ H ₁₄ O ₆
Altertoxina III (ATX-III)	(1aR,1bS,5aR,6aR,6bS,10aR)-1a,1b,5a,6a,6b,10a-Hexahidro-4,9-dihidroxi-perilo[1,2-b:7,8-b']bisoxireno-5,10-diona	105579-74-6	348	C ₂₀ H ₁₂ O ₆
Ácido tenuazónico (TeA)	(5S)-3-Acetil-1,5-dihidro-4-hidroxi-5-[(1S)-1-etilpropil]-2H-pirrol-2-ona	610-88-8	197	C ₁₀ H ₁₅ O ₃ N
Tentoxina (TEN)	Ciclo[N-metil-L-alanil-L-leucil-(Z)-, -dihidro-Nmetilfenilalanilglicilo]	28540-82-1	414	C ₂₅ H ₃₀ O ₄ N ₄
AAL TA1 toxina	Ácido (2R)-1,2,3-Propanotricarboxílico, Éster 1-[(1S,3S,9R,10S,12S)-13-amino-9,10,12-trihidroxi-1-[(1R,2R)-1-hidroxi-2-metilbutil]-3-metiltridecilo]	79367-52-5	521	C ₂₅ H ₄₇ O ₁₀ N
AAL TA1 toxina	Ácido (2R)-1,2,3-Propanotricarboxílico, Éster 1-[(1R,2S,4S,10R,11S,13S)-14-amino-2,10,11,13-tetrahidroxi-4-metil-1-[(1R)-1-metilpropil]tetradecilo]	79367-51-4	521	C ₂₅ H ₄₇ O ₁₀ N
AAL TB1 toxina	Ácido (2R)-1,2,3-Propanotricarboxílico, Éster 1-[(1S,3S,10R,12S)-13-amino-10,12-dihidroxi-1-[(1R,2R)-1-hidroxi-2-metilbutil]-3-metiltridecilo]	176590-32-2	505	C ₂₅ H ₄₇ O ₉ N
AAL TB2 toxina	Ácido (2R)-1,2,3-Propanotricarboxílico, Éster 1-[(1R,2S,4S,11R,13S)-14-amino-2,11,13-trihidroxi-4-metil-1-[(1R)-1-metilpropil]tetradecilo]	176705-51-4	505	C ₂₅ H ₄₇ O ₉ N

Nº CAS: Chemical Abstracts Services Registry Number; Pm: Peso Molecular.

Tabla III
Principales efectos tóxicos provocados por las micotoxinas de Alternaria spp.

Micotoxina	Efectos tóxicos	Referencias
AOH	Actividad mutagénica en cultivos bacterianos	40, 42, 44, 45
	Actividad genotóxica en cultivos animales	38, 46, 47, 48, 49
	Actividad citotóxica en cultivos de camarón (<i>Artemia salina</i>)	51
AME	Actividad mutagénica en cultivos bacterianos	40, 42, 43, 44, 45
	Actividad genotóxica en cultivos animales	38, 47, 48
	Alteraciones precancerosas en mucosa esofágica de ratones	50
	Actividad citotóxica en cultivos de camarón (<i>Artemia salina</i>)	51
ALT	Actividad citotóxica en cultivos de camarón (<i>Artemia salina</i>)	51
TeA	Hemorragias internas en perros y aves	52
	Alteraciones precancerosas en mucosa esofágica de ratones	50
	Desorden hematológico en personas (Onyalai)	7, 53
ATX	Actividad mutagénica en el test de Ames	39, 40, 54, 55, 56, 57
	Actividad genotóxica en cultivos celulares de ratón (ATX-I y ATX-III)	58

AME por kg de peso durante 10 meses, se desarrollaron alteraciones precancerosas en la mucosa esofágica⁵⁰. Por otra parte, los estudios de toxicidad del ALT en larvas de camarón (*Artemia salina*) en salmuera, pusieron de manifiesto que las dosis letales medias de ALT (375 g/mL) son muy superiores a las del TeA (75 mg/mL) y AOH (200 mg/mL)⁵¹.

Ácido tenuazónico

La toxicidad del TeA se ha demostrado en plantas, embriones de pollo y en otras especies animales⁵². En perros, la ingesta de dosis diarias de 10 mg/kg de peso, provocó la aparición de hemorragias en diversos órganos. En las aves domésticas, una dosis de 10 mg/kg en

Tabla IV
Identidad y concentración de las micotoxinas de Alternaria spp. detectadas en diversos alimentos

Alimento	Micotoxinas detectadas ^a	Concentración máxima (µg/kg)	Referencias
Granos de cereales y derivados	AOH	2.320	Abd el-Aal ⁵⁹
	AME	7.451	Azcarate et al. ⁵²
	ALT	1.480	Abd el-Aal ⁵⁹
	TeA	8.814	Azcarate et al. ⁵²
	TEN	38	EFSA ¹³
Semillas oleaginosas	AOH	1.800	Bottalico y Logrieco ⁶
	AME	440	EFSA ¹³
	TeA	5.400	EFSA ¹³
	TEN	880	Kralova et al. ⁶³
	ALT	9	EFSA ¹³
	ATX-I	80	EFSA ¹³
Aceites de semillas	AOH	18	EFSA ¹³
	AME	85	EFSA ¹³
	TeA	390	EFSA ¹³
	TEN	67	EFSA ¹³
Legumbres	AOH	290	Ostry et al. ⁶⁶
	AME	1.153	Barros et al. ⁶⁵
Hortalizas y derivados	AOH	8.756	Terminiello et al. ⁷¹
	AME	1.734	Terminiello et al. ⁷¹
	ALT	2	Noser et al. ⁷⁶
	TeA	4.021	Terminiello et al. ⁷¹
	TEN	9,2	EFSA ¹³
Frutas y derivados	AOH,	151	EFSA ¹³
	AME,	42	EFSA ¹³
	TeA	8.700	EFSA ¹³
Bebidas alcohólicas	AOH,	7,59	Asam et al. ⁶⁷
	AME,	1,5	EFSA ¹³
	TeA	175	Siegel et al. ⁶²
Alimentos infantiles	AME	3,3	EFSA ¹³
	TeA	1	EFSA ¹³

^aLas concentraciones mínimas detectadas en todos los casos fueron de 0,01 µg/kg para el AOH y el AME, 1 µg/kg para el ALT, 2 µg/kg para el TeA y la TEN y 10 µg/kg para la ATX-I¹³, excepto en el caso del AME en legumbres que fue de 16 µg/kg⁶⁵.

el pienso disminuyó tanto la eficiencia alimenticia como la ganancia de peso e incrementó las hemorragias internas en las canales. Sin embargo, no se ha demostrado efecto mutagénico del TeA en cultivos bacterianos^{39,40}. Al igual que con el AME, los ratones que consumieron pienso contaminado con TeA durante 10 meses, desarrollaron alteraciones en la mucosa esofágica, pero en este caso, la dosis diaria fue de 25 mg/kg⁵⁰. Además, el consumo de sorgo contaminado con TeA, se ha relacionado con la aparición de un desorden hematológico en personas conocido como Onyalaí^{7,53}.

Alertoxinas

Las ATXs presentan actividad mutagénica en el test de Ames^{40,54,55,56}. La actividad mutagénica de las ATXs (ATX-I, II, III) en ratones es superior a la del AOH y AME, siendo la ATX-III la de mayor actividad^{39,57}. El

potencial mutagénico de la ATX-III es 10 veces inferior al de la aflatoxina B₁, que es la micotoxina con mayor actividad mutagénica en la especie humana^{55,56}. También se ha demostrado que la ATX-I y la ATX-III son genotóxicas en cultivos celulares de ratón⁵⁸.

Presencia de micotoxinas de *Alternaria* spp. en alimentos y piensos

Las toxinas de *Alternaria* spp. se aíslan con frecuencia de una gran variedad de productos vegetales frescos y procesados (tabla IV). La presencia de micotoxinas de *Alternaria* spp. en cereales es muy común, debido al almacenamiento de los granos en condiciones favorables para el crecimiento del moho. En este sentido, se ha detectado AOH, AME, ALT, TeA o TEN en granos de trigo, cebada, avena, centeno, arroz y maíz. El procesamiento de los granos de cereales no evita la presencia de micotoxinas, como lo demuestra el hecho de que las

muestras de cereales de desayuno, harina, pasta o cer-
veza analizadas por diversos investigadores, contenían
AOH, AME o TeA^{13,52,59,60,61,62}. También se ha detectado
la presencia de AME en papillas infantiles y TeA en
alimentos infantiles que contenían cereales en su com-
posición, lo cual causa especial preocupación, ya que
estos alimentos son la base fundamental de la alimenta-
ción en las primeras etapas de la vida¹³.

En semillas oleaginosas como la colza, girasol, sésamo
y linaza también se ha determinado la presencia de AOH
y AME. En las semillas de colza y linaza se ha detectado
además ALT y en las de girasol y sésamo TeA. La TEN
solo se ha aislado a partir de semillas de girasol y la ATX-
I de semillas de sésamo. Por otra parte, las mismas toxinas
que contaminaban las semillas se detectaron en las
muestras de aceite de semillas de girasol y sésamo^{13,63,64}.
Asimismo, se ha encontrado AOH y AME en legumbres
como las lentejas y la soja^{65,66}.

En numerosas frutas (manzana, pera, melón, albarico-
que, uvas, uvas pasas, fresa, aceituna, cítricos e higos
desechados), hortalizas (tomate, pimiento y zanahoria) y
tubérculos (patata) se ha puesto de manifiesto la presencia
de AOH, AME, ALT, TeA y TEN^{66,67,68,69,70,71}. El consumo
directo de frutas y hortalizas con putrefacción fúngica
visible es improbable. Sin embargo, no es infrecuente ais-
lar toxinas de *Alternaria* spp. a partir de alimentos proce-
sados como salsas de tomate, ketchup, tomates deseca-
dos, conservas, mermeladas, vino o zumos de frutas
(manzana, tomate, uva, naranja)^{70,72,73,74,75,76,77,78}. La presen-
cia de micotoxinas en alimentos procesados puede ser
consecuencia de la utilización de materias primas con
alteraciones fúngicas cuyos síntomas afectan solo a la
parte interna, como ocurre en la putrefacción de las
manzanas y los cítricos. Además, aunque se eliminen
las zonas visiblemente alteradas, las toxinas de *Alter-
naria* spp. se pueden transferir a los tejidos circundan-
tes⁷⁹. Por otra parte, las industrias transformadoras no
siempre disponen de métodos eficientes para detectar y
eliminar completamente las materias primas afectadas
con algún grado de alteración fúngica.

La presencia de micotoxinas de *Alternaria* spp. tam-
bién se ha investigado en piensos. En este sentido, se han
detectado cantidades elevadas de AOH, AME, ALT,
ATX-I, TeA, TEN y AAL toxinas, en granos de cereales
y semillas oleaginosas destinadas a la alimentación ani-
mal. Por lo general, las muestras que contenían mayores
cantidades de micotoxinas tenían contaminaciones visi-
bles de *Alternaria* spp., posiblemente debido a las condi-
ciones de almacenamiento de los granos y semillas en las
granjas, donde la elevada temperatura y humedad favore-
cen el crecimiento de determinadas especies de *Alterna-
ria* y la producción de micotoxinas^{61,65,80,81,82}.

Exposición humana a las micotoxinas de *Alternaria* spp.

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria ha
publicado recientemente los resultados de un estudio

nutricional realizado para evaluar la exposición diaria a
AOH, AME, TeA y TEN en los grupos de población
comprendidos entre los 18 y 65 años¹³. En este estudio se
determinó que los niveles diarios de ingesta eran de 1,9-
39 ng/kg de peso para el AOH, 0,8-4,7 ng/kg de peso para
el AME, 36-141 ng/kg de peso para el TeA y 0,01-7
ng/kg de peso para la TEN. Aunque la exposición a las
micotoxinas de *Alternaria* spp. no se ha estudiado en la
población infantil, se estima que su ingesta es dos o tres
veces mayor que en la población adulta. Las estimacio-
nes realizadas en este estudio se han establecido teniendo
en cuenta únicamente alimentos de origen vegetal,
puesto que no se ha demostrado la presencia de micotoxi-
nas de *Alternaria* spp. en alimentos de origen animal.

Control y prevención de micotoxinas en alimentos

La contaminación de los alimentos con micotoxinas
se produce de manera natural y su concentración puede
aumentar como resultado de las condiciones ambien-
tales o de operaciones inadecuadas de recolección, alma-
cenamiento y elaboración de los productos alimenta-
rios. Por ello, es necesario disponer de programas de
control que eviten la contaminación con mohos toxigé-
nicos. Asimismo, se deben aplicar medidas preventivas
que minimicen el desarrollo fúngico en los alimentos,
tales como el almacenamiento en condiciones idóneas
de temperatura, humedad relativa y atmósfera. En este
sentido, las autoridades oficiales de control de los ali-
mentos están estableciendo programas preventivos y
procedimientos para minimizar los riesgos asociados a
la contaminación de los alimentos con micotoxinas.
Dentro de estos programas se incluyen las buenas prác-
ticas agrícolas (GAP: “*Good Agricultural Practice*”) e
industriales (GMP: “*Good Manufacturing Practice*”) y
la aplicación del sistema de Análisis de Peligros y
Puntos de Control Crítico (APPCC).

El sistema APPCC identifica y evalúa, mediante un
enfoque estructurado y sistemático, los peligros que
hay que controlar para garantizar la inocuidad de los
alimentos desde la granja hasta la mesa. Para llevar a
cabo la aplicación efectiva del sistema APPCC con
relación a los peligros derivados de la presencia de
mohos toxigénicos en los alimentos, es necesario dis-
poner de técnicas rápidas para la detección de mohos
productores de micotoxinas tanto en materias primas
como en alimentos elaborados. Esto permitiría adoptar
las medidas necesarias para apartar de la cadena ali-
mentaria los productos que puedan suponer un riesgo
para la salud del consumidor, impidiendo de esta forma
la presencia de micotoxinas en los alimentos elabora-
dos. En este sentido es necesario contar con herramien-
tas capaces de detectar de una forma rápida y precoz la
presencia de *Alternaria* spp. en alimentos, debido espe-
cialmente a que no existe una normativa que regule los
niveles máximos permitidos de las micotoxinas de
Alternaria en alimentos.

Tabla V
Alérgenos producidos por *A. alternata* aprobados por el Comité de Nomenclatura de Alérgenos de la OMS/IUIS

Alérgeno	Tipo de proteína	Peso Molecular (kDa)	N.º de acceso (UniProt)
Alt a 1	Glicoproteína dimérica	29 (14,5/16)	P79085
Alt a 3	Proteína de choque térmico	70	P78983
Alt a 4	Disulfuro isomerasa	57	Q00002
Alt a 5	Proteína ribosomal P2	11	P42037
Alt a 6	Enolasa	45	Q9HDT3
Alt a 7	Proteína YCP4	22	P42058
Alt a 8	Manitol deshidrogenasa	29	P0C044
Alt a 10	Aldehído deshidrogenasa	53	P42041
Alt a 12	Proteína ácida ribosomal P1	11	P49148
Alt a 13	Glutatión S-transferasa	26	Q6R4B4

El género *Alternaria* como agente causal de enfermedades humanas

Aunque el género *Alternaria* incluye principalmente especies patógenas de plantas, algunas especies también se encuentran relacionadas con la aparición de infecciones humanas. *A. alternata* y *A. tenuissima* producen la alternariosis cutánea, que se manifiesta con lesiones únicas o múltiples en forma de placas pardorrojizas papulonodulares, pustulosas o ulcerocostrosas, localizadas en superficies corporales expuestas, siendo rara la diseminación sistémica. La alternariosis cutánea se considera una infección oportunista que aparece en personas inmunodeficientes, debido a que padecen síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH), síndrome de Cushing, algún proceso tumoral, o que han recibido trasplantes de órganos^{9,83,84}. Además, *A. alternata* y *A. infectoria* se han relacionado con la aparición de queratomycosis y endoftalmitis en personas que han sufrido un traumatismo o cirugía ocular^{85,86,87}.

La incidencia de *Alternaria* spp. en infecciones humanas no es muy elevada, ya que solo ocurre en casos de personas inmunodeficientes. Sin embargo, *Alternaria* es, junto con *Cladosporium*, uno de los principales géneros fúngicos causantes de alergias⁸. La incidencia de personas sensibilizadas frente a alérgenos fúngicos alcanza hasta el 30% de los pacientes analizados, aunque depende en gran medida de las condiciones geográficas y climáticas. *A. alternata* es la principal especie productora de alérgenos del género, causando reacciones cutáneas positivas en el 70% de los pacientes alérgicos a antígenos fúngicos⁸⁸. La fracción alérgica producida por *A. alternata* es muy heterogénea. El Comité de Nomenclatura de Alérgenos de la OMS/IUIS ha secuenciado y aprobado diez alérgenos de esta especie (tabla V)^{89,90,91,92}. El principal alérgeno es el Alt a 1, al que reconocen los anticuerpos IgE de más del 90% de los pacientes alérgicos a *A. alternata*. La respuesta alérgica es mayor frente a las esporas fúngicas que frente a los restos micelares u otras

células fúngicas. En el caso de *Alternaria* spp., la respuesta alérgica se presenta clínicamente como reacciones asmáticas de tipo inmediato mediadas por IgE⁹¹.

La abundancia relativa de conidios de *A. alternata* en el aire y su presencia en las casas con humedades convierte a este microorganismo en una fuente alérgica importante. La exposición a esporas fúngicas se diferencia de la exposición al polen en que las cantidades de esporas fúngicas por metro cúbico son mayores que las de granos de polen. Además, la exposición es más duradera, puesto que puede durar meses, mientras que la exposición a pólenes suele durar semanas. Esta exposición intensa y prolongada a *A. alternata* se asemeja a la exposición a restos epidérmicos de animales o a los ácaros del polvo y contribuye a la cronicidad y severidad del asma en las personas sensibilizadas frente a *Alternaria* spp.⁹³. Por otro lado, la presencia de esporas de *Alternaria* spp. en el interior de los edificios se ha identificado como uno de los factores causantes del Síndrome del Edificio Enfermo (SEE). Se denomina así al conjunto de síntomas diversos que presentan los ocupantes de un edificio, y cuyas causas radican en el propio edificio^{94,95}. La sintomatología relacionada con el SEE es muy variada, pudiendo llegar a ser compleja, ya que suele ser el resultado de la combinación de distintos efectos. Los síntomas más significativos incluyen:

- Irritaciones de ojos, nariz y garganta.
- Sequedad de la piel.
- Síntomas generales: dolor de cabeza, fatiga mental, y pérdida de capacidad de memoria a corto plazo.

Conclusiones

Muchas especies del género *Alternaria* producen micotoxinas, aunque solo se ha demostrado la producción natural en alimentos y piensos del TeA, AOH, AME, ALT, TEN, ATX-I y toxinas AAL. En estudios

realizados *in vitro*, se ha demostrado la capacidad genotóxica, mutagénica, carcinogénica y citotóxica del AOH, AME, ATX o TeA. Por el contrario, no existen datos relevantes sobre la genotoxicidad y carcinogenicidad en estudios *in vivo*, aunque si se han demostrado alteraciones precancerosas en la mucosa esofágica de ratones. Actualmente, la UE no tiene establecidos límites máximos para ninguna de las micotoxinas de *Alternaria* spp. aisladas en alimentos. Sin embargo, teniendo en cuenta los datos sobre toxicidad y la creciente presencia de estas toxinas en alimentos, determinados organismos de la UE como el Instituto Federal de Evaluación de Riesgos de Alemania⁹⁶, el Comité de Científicos Alimentarios de la República Checa⁹⁷ y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria¹³, consideran necesario realizar nuevos estudios sobre la toxicidad de las micotoxinas producidas por *Alternaria* spp. y su presencia en alimentos, con el fin de disponer de datos objetivos que permitan evaluar la situación actual con vistas a establecer límites máximos permitidos. Por último conviene señalar que, además de su importancia como productor de micotoxinas, el género *Alternaria* es uno de los principales mohos causantes de alergias y se encuentra implicado en la aparición de infecciones en personas inmunodeficientes.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (proyecto AGL2006-07659) y por la Comunidad de Madrid (proyecto Vigilancia Sanitaria 2009/AGR-1489).

Referencias

1. Soriano JM. Micotoxinas en alimentos. Díaz de Santos, Madrid; 2007.
2. Comisión Europea. Reglamento (CE) n° 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea* 2007; L364: 5.
3. Comisión Europea. Reglamento (CE) n° 1126/2007 de la Comisión de 28 de septiembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a las toxinas de *Fusarium* en el maíz y los productos del maíz. *Diario Oficial de la Unión Europea* 2007; L255: 14-17.
4. Comisión Europea. Reglamento (CE) n° 105/2010 de la Comisión de 5 de febrero de 2010, que modifica el Reglamento (CE) n° 1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a la ocratoxina A. *Diario Oficial de la Unión Europea* 2010; L35: 7-8.
5. Comisión Europea. Reglamento (CE) n° 165/2010 de la Comisión de 26 de febrero de 2010, que modifica, en lo que respecta a las aflatoxinas, el Reglamento (CE) n° 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea* 2010; L50: 8-12.
6. Bottalico A, Logrieco A. Toxigenic *Alternaria* species of economic importance. En: Sinha KK, Bhatnagar D (eds). Myco-

- toxins in agriculture and food safety. Marcel Dekker Inc, New York, USA, 1998; 65-108.
7. Ostry V. *Alternaria* mycotoxins: An overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin J* 2008; 1: 175-188.
 8. D'Amato G, Chatzigeorgiou G, Corsico R, Gioulekas D, Jaeger L, Jaeger S et al. Evaluation of the prevalence of prick skin test positively to *Alternaria* and *Cladosporium* in patients with suspected respiratory allergy. *Allergy* 1997; 52: 711-716.
 9. Mateu-Puchades A, Marquina-Vila A, Ferrando-Roca F, Neus M. Cutaneous alternariosis in renal transplant recipient. *J Am Acad Dermatol* 2010; 62: AB86.
 10. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 497-516.
 11. Frisvad JC, Thrane U, Samson RA. *Mycotoxin producers*. En: Dijksterhuis J, Samson RA (eds). *Food mycology: a multifaceted approach to fungi and food*. CRC Press; Boca Raton, USA; 2007.
 12. Barkai-Golan R. *Alternaria* mycotoxins. En: Barkai-Golan R, Nachman P (eds). *Mycotoxins in fruits and vegetables*. Academic Press, San Diego, CA, USA, 2008; 185-203.
 13. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. *EFSA J* 2011; 9 (10): 2407.
 14. Thomma B. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Mol Plant Pathol* 2003; 4: 225-236.
 15. Andersen B, Kroger E, Roberts RG. Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisen* and *A. longipes*. *Mycol Res* 2001; 105: 291-299.
 16. Andersen B, Kroger E, Roberts RG. Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria*, and *A. tenuissima* species-groups. *Mycol Res* 2002; 106: 170-182.
 17. Andersen B, Dongo A, Pryor BM. Secondary metabolite profiling of *Alternaria dauci*, *A. porri*, *A. solani*, and *A. tomatophila*. *Mycol Res* 2008; 112: 241-250.
 18. Phuwapraisirisan P, Rangsan J, Siripong P, Tip-pyang S. New antitumor fungal metabolites from *Alternaria porri*. *Nat Prod Res* 2009; 23: 1063-1071.
 19. Andersen B, Sorensen JL, Nielsen KF, van den Ende BG, de Hoog S. A polyphasic approach to the taxonomy of the *Alternaria infectoria* species-group. *Fungal Genet Biol* 2009; 46: 642-656.
 20. Christensen KB, van Klink JW, Weavers RT, Larsen TO, Andersen B, Phipps RK. Novel chemotaxonomic markers for the *Alternaria infectoria* species-group. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 9431-9435.
 21. Montemurro N, Visconti A. *Alternaria* metabolites –Chemical and biological data. En: Chełkowski J, Visconti A (eds.). *Alternaria: biology, plant diseases and metabolites*. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, 1992; 449-557.
 22. Xu L, Du L. Direct detection and quantification of *Alternaria alternata lycopersici* toxins using high-performance liquid chromatography-evaporative light-scattering detection. *J Microbiol Methods* 2006; 64: 398-405.
 23. Young AB, Davis ND, Diener UL. The effect of temperature and moisture on tenuazonic acid production by *Alternaria tenuissima*. *Phytopathology* 1980; 70: 607-609.
 24. Magan N, Lacey J. Effect of water activity and temperature on mycotoxin production by *Alternaria alternata* in culture and wheat grain. *Appl Environ Microbiol* 1984; 47: 1113-1117.
 25. Pose G, Patriarca A, Kyanko V, Pardo A, Fernández V. Water activity and temperature effects on mycotoxin production by *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. *Int J Food Microbiol* 2010; 142: 348-353.
 26. Oviedo MS, Ramirez ML, Barros GG, Chulze SN. Influence of water activity and temperature on growth and mycotoxin production by *Alternaria alternata* on irradiated soya beans. *Int J Food Microbiol* 2011; 149: 127-132.
 27. Venkatasubramanian TA. Biosynthesis of aflatoxin and its control. En: Rodricks JV, Hesseltine CW, Mehlman MA (eds). *Mycotoxins in human and animal health*. Pathotex, Park Forest South, Illinois, USA; 1997; 83-98.

28. Dambolena JS, Zygodlo JA, Rubinstein HR. Antifumonis activity of natural phenolic compounds. A structure-property-activity relationship study. *Int J Food Microbiol* 2011; 145: 140-146.
29. Mahoney N, Molyneux RJ, Kim JH, Campbell BC, Waiss AC, Hagerman AE. Aflatoxigenesis induced in *Aspergillus flavus* by oxidative stress and reduction by phenolic antioxidants from tree nuts. *World Mycotoxin J* 2010; 3: 49-57.
30. Altemöller M, Podlech J, Fenske D. Total synthesis of altenuene and isoaltenuene. *European J Org Chem* 2006; 7: 1678-1684.
31. Berthiller F, Dall'Asta C, Schuhmacher R, Lemmens M, Adam G, Krska R. Masked mycotoxins: determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 3421-3425.
32. Koch K, Podlech J, Pfeiffer E, Metzler M. Total synthesis of alternariol. *J Org Chem* 2005; 70: 3275-3276.
33. Griffin GF, Chu FS. Toxicity of the *Alternaria* metabolites alternariol, alternariol monomethyl ether, altenuene and tenuazonic acid in the chicken embryo assay. *Appl Environ Microbiol* 1983; 46: 1420-1422.
34. Harvan DJ, Pero RW. The structure and toxicity of the *Alternaria* metabolites. En: Rodricks JV (ed). *Advances in chemistry series 149: Mycotoxins and other fungal related food problems*. American Chemical Society, Washington, D.C., USA, 1976; 344-355.
35. Pero RW, Posner H, Blois M, Harvan D, Spalding JW. Toxicity of metabolites produced by the "*Alternaria*". *Environ Health Perspect* 1973; 4: 87-94.
36. Sauer DB, Seitz LM, Burroughs R, Mohr HE, West JL, Milleret RJ, Anthony HD. Toxicity of *Alternaria* metabolites found in weathered sorghum grain at harvest. *J Agric Food Chem* 1978; 26: 1380-1383.
37. Combina M, Dalcerio A, Varsavsky E, Torres A, Etcheverry M, Rodriguez M, Gonzalez H. Effect of heat treatments on stability of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid in sunflower flour. *Mycotoxin Res* 1999; 15: 33-38.
38. Liu GT, Qian YZ, Zhang P, Dong ZM, Shi ZY, Zhen YZ et al. Relationships between *Alternaria alternata* and oesophageal cancer. En: O'Neill IK, Chen J, Bartsch H (eds). *Relevance to human cancer of N-nitroso compounds, tobacco smoke and mycotoxins*. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, 1991; 258-262.
39. Schrader TJ, Cherry W, Soper K, Langlois I, Vijay HM. Examination of *Alternaria alternata* mutagenicity and effects of nitrosylation using the Ames *Salmonella* test. *Teratog Carcinog Mutagen* 2001; 21: 261-274.
40. Scott PM, Stoltz DR. Mutagens produced by *Alternaria alternata*. *Mutat Res* 1980; 78: 33-40.
41. Liu G, Qian Y, Zhang P, Dong W, Qi Y, Guo H. Etiological role of *Alternaria alternata* in human oesophageal cancer. *Chin Med J* 1992; 105: 394-400.
42. Kada T, Sadaie Y, Sakamoto Y. *Bacillus subtilis* repair test. En: Kilbey BJ, Legator M, Nichols W, Ramel C (eds). *Handbook of mutagenicity test procedures*, 2nd ed. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, 1984; 13-31.
43. An Y, Zhao T, Miao J, Liu G, Zheng Y, Xu Y, Van Etten RL. Isolation, identification, and mutagenicity of alternariol monomethyl ether. *J Agric Food Chem* 1989; 37: 1341-1343.
44. Zhen YZ, Xu YM, Liu GT, Miao J, Xing YD, Zheng QL, et al. Mutagenicity of *Alternaria alternata* and *Penicillium cyclopium* isolated from grains in an area of high incidence of oesophageal cancer - Linxian China. En: O'Neill IK, Chen J, Bartsch H (eds). *Relevance to human cancer of N-nitroso compounds, tobacco smoke and mycotoxins*. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, 1991; 253-257.
45. Davis VM, Stack ME. Evaluation of alternariol and alternariol methyl ether for mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60: 3901-3902.
46. Lehmann L, Wagner J, Metzler M. Estrogenic and clastogenic potential of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells. *Food Chem Toxicol* 2006; 44, 398-408.
47. Marko D. Mechanisms of the genotoxic effect of *Alternaria* toxins. En: Gesellschaft für Mykotoxin Forschung. *Proceedings of the 29th mycotoxin workshop*. Stuttgart-Fellbach, Germany, 2007; 48.
48. Pfeiffer E, Eschbach S, Metzler M. *Alternaria* toxins: DNA strand-breaking activity in mammalian cells *in vitro*. *Mycotoxin Res* 2007; 23: 152-157.
49. Xu DS, King TQ, Ma JQ. The inhibitory effect of extracts from *Fructus lycii* and *Rhizoma polygonati* on *in vitro* DNA breakage by Alternariol. *Biomed Environ Sci* 1996; 9: 67-70.
50. Yekeler H, Bitmis K, Ozcelik N, Doymaz MZ, Calt M. Analysis of toxic effects of *Alternaria* toxins on oesophagus of mice by light and electron microscopy. *Toxicol Pathol* 2001; 29: 492-497.
51. Panigrahi S, Dallin S. Toxicity of the *Alternaria* spp metabolites, tenuazonic acid, alternariol, altertoxin-I, and alternariol monomethyl ether to brine shrimp - (*Artemia salina* L) larvae. *J Sci Food Agric* 1994; 66: 493-496.
52. Azcarate MP, Patriarca A, Terminiello L, Fernández V. *Alternaria* toxins in wheat during the 2004 to 2005 Argentinean harvest. *J Food Prot* 2008; 71: 1262-1265.
53. Logrieco A, Bottalico A, Mulé M, Moretti A, Perrone G. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *Eur J Plant Pathol* 2003; 109: 645-667.
54. Schrader TJ, Cherry W, Soper K, Langlois I. Further examination of the effects of nitrosylation on *Alternaria alternata* mycotoxin mutagenicity *in vitro*. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2006; 606: 61-71.
55. Stack ME, Mazzola EP, Page SW, Pohland AE, Highet RJ, Tempesta MS, Chorley DG. Mutagenic perylenequinones metabolites of *Alternaria alternata*: altertoxins I, II and III. *J Nat Prod* 1986; 49: 866-871.
56. Stack ME, Prival MJ. Mutagenicity of the *Alternaria* metabolites altertoxins I, II, and III. *Appl Environ Microbiol* 1986; 4: 718-722.
57. Chelkowski J, Visconti A. *Alternaria*. Biology, plant diseases and metabolites. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, 1992.
58. Osborne LC, Jones VI, Peeler JT, Larkin EP. Transformation of C3H/10T½ cells and induction of EBV-early antigen in Raji cells by altertoxins I and III. *Toxicol In Vitro* 1988; 2: 97-102.
59. Abd El-Aal SS. Effects of gamma radiation, temperature and water activity on the production of *Alternaria* mycotoxins. *Egypt J Microbiol* 1997; 32: 379-396.
60. Aresta A, Cioffi N, Palmisano F, Zamboni CG. Simultaneous determination of ochratoxin A and cyclopiazonic, mycophenolic, and tenuazonic acids in cornflakes by solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 5232-5237.
61. Asam S, Konitzer K, Rychlik M. Precise determination of the *Alternaria* mycotoxins alternariol and alternariol monomethyl ether in cereal, fruit and vegetable products using stable isotope dilution assays. *Mycotoxin Res* 2010; 27: 23-28.
62. Siegel D, Merkel S, Koch M, Nehls I. Quantification of the *Alternaria* mycotoxin tenuazonic acid in beer. *Food Chem* 2010; 120: 902-906.
63. Kralova J, Hajšlová J, Poustka J, Hochman M, Bjelková M, Odstrilová L. Occurrence of *Alternaria* toxins in fibre flax, linseed, and peas grown in organic and conventional farms: monitoring pilot study. *Czech J Food Sci* 2006; 24: 288-296.
64. Skarkova J, Ostry V, Prochazkova I. Planar chromatographic determination of *Alternaria* toxins in selected foodstuffs. *Proceedings of the International Symposium on Planar Separations, Planar Chromatography, Milestones in Instrumental TLC, Siofok, Hungary, 2005*.
65. Barros GG, Oviedo MS, Ramirez ML, Chulze SN. Safety aspects in soybean food and feed chains: fungal and mycotoxins contamination. En: Tzi-Bun N (ed). *Soybean: Biochemistry, Chemistry and Physiology*. InTech, Croatia, 2011; 7-20.
66. Ostry V, Skarkova J, Ruprich J. Occurrence of *Alternaria* mycotoxins and *Alternaria* spp. En: lentils and human health. 26. Abstract of the Mycotoxin-Workshop, 2004.

67. Asam S, Konitzer K, Schieberle P, Rychlik M. Stable isotope dilution assays of alternariol and alternariol monomethyl ether in beverages. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 5152-5160.
68. da Motta S, Soares LMV. Survey of Brazilian tomato products for alternariol, alternariol monomethyl ether, tenuazonic acid and cyclopiazonic acid. *Food Addit Contam* 2001; 18: 630-634.
69. Logrieco A, Bottalico A, Solfrizzo M, Mule G. Incidence of *Alternaria* species in grains from Mediterranean countries and their ability to produce mycotoxins. *Mycologia* 1990; 82: 501-505.
70. Pavón MA, Luna A, de la Cruz S, González I, Martín R, García T. PCR-based assay for the detection of *Alternaria* species and correlation with HPLC determination of altenuene, alternariol and alternariol monomethyl ether production in tomato products. *Food Control* 2012; 25: 45-52.
71. Terminiello L, Patriarca A, Pose G, Fernández V. Occurrence of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid in Argentinean tomato puree. *Mycotoxin Res* 2006; 22: 236-240.
72. Ackermann Y, Curtui V, Dietrich R, Gross M, Latif H, Märtlbauer E, Usleber, E. Widespread occurrence of low levels of alternariol in apple and tomato products, as determined by comparative immunochemical assessment using monoclonal and polyclonal antibodies. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 6360-6368.
73. Delgado T, Gómez-Cordovés C. Natural occurrence of alternariol and alternariol methyl ether in Spanish apple juice concentrates. *J Chromatogr A* 1998; 815: 93-97.
74. Logrieco A, Moretti A, Solfrizzo M. *Alternaria* toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks. *World Mycotoxin J* 2009; 2: 129-140.
75. Magnani RF, De Souza GD, Rodrigues-Filho E. Analysis of alternariol and alternariol monomethyl ether on flavedo and albedo tissues of tangerines (*Citrus reticulata*) with symptoms of *Alternaria* brown spot. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 4980-4986.
76. Noser J, Schneider P, Rother M, Schmutz H. Determination of six *Alternaria* toxins with UPLC-MS/MS and their occurrence in tomatoes and tomato products from the Swiss market. *Mycotoxin Res* 2011; 27: 265-271.
77. Scott PM, Lawrence GA, Lau BPY. Analysis of wines, grape juices and cranberry juices for *Alternaria* toxins. *Mycotoxin Res* 2006; 22: 142-147.
78. Solfrizzo M, de Girolamo A, Vitti C, Visconti A, van den Bulk R. Liquid chromatographic determination of *Alternaria* toxins in carrot. *J AOAC Int* 2004; 87: 101-106.
79. Robiglio AL, López SE. Mycotoxin Production by *Alternaria alternata* strains isolated from Red Delicious apples in Argentina. *Int J Food Microbiol* 1995; 24: 413-417.
80. Häggblom P, Stepinska A, Solyakov A. *Alternaria* mycotoxins in Swedish feed grain. En: Gesellschaft für Mycotoxin Forschung. Proceedings of the 29th mycotoxin workshop, Stuttgart-Fellbach, Germany, 2007; 35.
81. Mansfield MA, Archibald DD, Jones AD, Kuldau GA. Relationship of sphinganine analog mycotoxin contamination in maize silage of seasonal weather conditions and to agronomic and ensiling practices. *Phytopathology* 2007; 97: 504-511.
82. Nawaz S, Scudamore KA, Rainbird SC. Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: I. Determination of *Alternaria* mycotoxins in oilseed rape meal and sunflower seed meal. *Food Addit Contam* 1997; 14: 249-262.
83. Romano C, Valenti L, Miracco C, Alessandrini C, Paccagnini E, Faggi E, Difonzo EM. Two cases of cutaneous phaeohyphomycosis by *Alternaria alternata* and *Alternaria tenuissima*. *Mycopathologia* 1997; 137: 65-74.
84. Vieira R, Veloso J, Afonso A, Rodrigues A. Cutaneous alternariosis in a liver transplant recipient. *Rev Iberoam Micol* 2006; 23: 107-109.
85. Ferrer C, Montero J, Alio JL, Abad JL, Ruiz-Moreno JM, Colom F. Rapid Molecular Diagnosis of Posttraumatic Keratitis and Endophthalmitis Caused by *Alternaria infectoria*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3358-3360.
86. Ferrer C, Munoz G, Alio JL, Abad JL, Colom F. Polymerase chain reaction diagnosis in fungal keratitis caused by *Alternaria alternata*. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 398-399.
87. Pastor FJ, Guarro J. *Alternaria* infections: laboratory diagnosis and relevant clinical features. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 734-746.
88. Asturias JA, Ibarrola I, Ferrer A, Andreu C, López-Pascual E, Quirarte J et al. Diagnosis of *Alternaria alternata* sensitization with natural and recombinant Alt a 1 allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1210-1217.
89. Achatz G, Oberkofler H, Lechenauer E, Simon B, Unger A, Kandler D et al. Molecular characterization of *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum* allergens. *Adv Exp Med Biol* 1996; 409: 157-161.
90. Breitenbach M, Simon-Nobbe B. The allergens of *Cladosporium herbarum* and *Alternaria alternata*. *Chem Immunol* 2002; 81: 48-72.
91. de Vouge MW, Thaker AJ, Zhang L, Muradia G, Rode, Vijay HM. Molecular cloning of Ig-E binding fragments of *Alternaria alternata* allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 116: 261-268.
92. Vijay HM, Kurupp VP. Fungal allergens. En: Lokey RF, Bukantz SC (eds). Allergens and Allergen Immunotherapy, 3rd ed. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 2003; 223-250.
93. Sánchez H, Bush RK. A review of *Alternaria alternata* sensitivity. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 56-59.
94. Roussel S, Reboux G, Bellanger A, Sornin S, Grenouillet F, Dalphin J et al. Characteristics of dwellings contaminated by moulds. *J Environ Monit* 2008; 10: 724-729.
95. Takigawa T, Wang B, Sakano N, Wang D, Ogino K, Kishi R. A longitudinal study of environmental risk factors for subjective symptoms associated with sick building syndrome in new dwellings. *Sci Total Environ* 2009; 407: 5223-5228.
96. Instituto Federal de Evaluación de Riesgos de Alemania (BfR). *Alternaria-Toxine in Lebensmitteln* 2003; 2.
97. Comité de Científicos Alimentarios de la República Checa (CSCF) 2008. Disponible en: <http://www.chpr.szu.cz>.