

DEVENIR DE L'OCRATOXINE A DANS L'ORGANISME ANIMAL

II. — DISTRIBUTION TISSULAIRE ET ÉLIMINATION CHEZ LE RAT

P. GALTIER

avec la collaboration technique de M. ALVINERIE

*Station de Pharmacologie-Toxicologie, I. N. R. A.,
180, chemin de Tournefeuille,
31300 Toulouse*

RÉSUMÉ

La distribution tissulaire et l'élimination de l'ochratoxine A et de l'ochratoxine α chez des rats recevant 10 mg/kg de toxine par voie orale ont été étudiées.

La mycotoxine diffuse dans tous les organes examinés. On retrouve l'ochratoxine α dans le cæcum et le gros intestin, ce qui démontre l'action hydrolysante de la flore microbienne intestinale. Les données quantitatives montrent que l'ochratoxine A est absorbée par l'estomac et qu'elle se distribue surtout dans le foie, les reins et le muscle.

L'élimination urinaire et fécale se réalise principalement sous forme d'ochratoxine α . Le pourcentage d'ochratoxine A non retrouvé peut provenir soit de compartiments non explorés, soit de la transformation en métabolites non identifiés, ou enfin de la dégradation complète de la toxine en CO₂.

INTRODUCTION

En vue de préciser les modalités de l'accumulation de l'ochratoxine A dans l'organisme des animaux traités, nous avons apprécié l'importance du transport sanguin de ce toxique chez le Rat et mesuré sa fixation aux protéines du plasma (GALTIER, 1974). Dans le même cadre, nous présentons ici les résultats concernant la distribution tissulaire et l'élimination après administration orale d'une dose unique de toxine. En effet, jusqu'ici, comme l'ont fait remarquer récemment MUNRO *et al.* (1973) les recherches relatives au devenir de l'ochratoxine A dans l'organisme sont fragmentaires ; elles sont limitées aux deux notes consacrées essentiellement à l'excrétion chez le Rat de NEL et PURCHASE (1968), puis de VAN WALBEEK *et al.* (1971).

Ne disposant pas de moyens d'investigation radioisotopique et désirant connaître en premier lieu le devenir de l'ochratoxine A elle-même, nous avons pratiqué des administrations de composé non radioactif. De ce fait, il a été nécessaire de donner à chaque animal une dose relativement importante de mycotoxine.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. 1. — Animaux

Nous avons utilisé des rats mâles adultes de souche *Wistar* provenant de l'élevage du laboratoire, d'un poids moyen de $256,8 \text{ g} \pm 8,7 \text{ g}$. Afin de limiter la coprophagie, les animaux sont installés en cage à métabolisme individuelle pendant tout l'essai.

I. 2. — Administration et prélèvements

Tous les animaux reçoivent, à 9 h du matin, 10 mg de toxine par kg de poids vif administrés par tubage œsophagien sous un volume de 0,75 ml pour un rat de 250 g ; ce qui correspond à 3,33 mg d'ochratoxine A par ml de solution isotonique de bicarbonate de sodium (14 g/l).

Pour l'étude de la distribution tissulaire, les rats sont sacrifiés 1,4, 8, 24, 48 et 96 heures après le traitement à raison de 6 rats par heure de prélèvement. Après saignée par décapitation, on prélève sur chaque animal le pancréas, le foie, l'estomac, le petit intestin, le cæcum, le gros intestin, les testicules, les reins, le cœur, le poumon, le thymus, le cerveau et le muscle *longissimus dorsis*. Après avoir séparé le contenu du contenant de l'estomac, on pèse tous les organes que l'on congèle à -18°C dans le cas où l'analyse n'est pas immédiate.

Pour étudier les modalités de l'élimination, huit rats sont traités ; on récolte quotidiennement urines et fèces pendant les 10 jours qui suivent l'administration.

I. 3. — Méthodes analytiques

I. 3.1. Exploration tissulaire.

Certains organes sont prélevés et analysés en entier : cœur, thymus, cerveau, pancréas, poumon, reins, testicules. Dans le cas des échantillons volumineux ; foie, cæcum, intestins, contenu stomacal et muscle, on n'analyse qu'une partie aliquote.

Dans chaque cas, la prise d'essai est broyée pendant une minute au Polytron ($15\ 000 \text{ tr} \cdot \text{mn}^{-1}$) avec 5 ml d'eau distillée acide (pH 2) et 10 ml d'éther, dans un tube Corex plongé dans la glace. Le broyat est ensuite centrifugé à $+4^{\circ}\text{C}$ pendant 10 mn à $10\ 000 \text{ tr} \cdot \text{mn}^{-1}$; il est alors possible de séparer la phase étherée contenant l'ochratoxine A et ses métabolites acides éventuels non ionisés. Après évaporation de l'extrait étheré et reprise par le chloroforme, on dépose 10 et 20 μl sur une plaque chromatographique de gel de silice (MERCK, réf. 5721) développée en cuve saturée contenant le mélange : toluène-acétate d'éthyle-acide formique (5 : 4 : 1, v/v/v). On estime visuellement les quantités d'ochratoxine A ou d'ochratoxine α par comparaison avec une gamme témoin ; dans ces conditions, les seuils de détection sont de 20 ng pour les deux dérivés. Puis, on calcule le pourcentage de la dose totale administrée qui est récupéré par organe ; dans le cas de l'ochratoxine α on obtient le taux d'ochratoxine A correspondant en multipliant la teneur trouvée par le rapport des deux poids moléculaires ($403 : 256 = 1,57$). Pour le muscle, on calcule la quantité de toxine contenue dans la masse musculaire totale du Rat estimée à 41,6 p. 100 du poids corporel (HAGUEMAN, 1960). L'identité de la mycotoxine ou de son métabolite est confirmée par développement des plaques avec un autre système éluant (chloroforme-acétone-acide formique : 80 : 20 : 1, v/v/v) et comparaison avec des étalons de référence ; celui d'ochratoxine α est préparé conformément aux directives de VAN DER MERWE *et al.* (1965).

Des essais préliminaires avec cette méthode nous ont permis d'enregistrer des pourcentages de récupération d'ochratoxine A allant de 82 à 105 p. 100 dans les organes contaminés artificiellement par des quantités de l'ordre de celles que l'on retrouve dans l'organisme.

I. 3.2. Exploration des excreta.

Les prises d'essais sont ici constituées par 5 ml d'urine ramenée à pH 2 ou par le 1/10 du broyat aqueux (pH 2) des fèces de 24 heures. L'analyse, identique à celle des organes, permet d'obtenir les pourcentages de la dose administrée éliminés par 24 heures.

II. — RÉSULTATS

II. I. — *Distribution tissulaire*II. I.1. *Aspects qualitatif.*

Dans tous les organes explorés, on retrouve de l'œhratoxine A ; toutefois on remarque en outre la présence d'œhratoxine α dans le cæcum et le gros intestin.

II. I.2. *Aspect quantitatif.*

Le tableau 1 indique la quantité moyenne de toxine récupérée au niveau de chaque organe, calculée en pourcentage de la dose totale administrée.

TABLEAU I

Distribution tissulaire de l'œhratoxine A après administration orale chez le Rat

Tissular distribution of œhratoxin A after oral administration to Rats

Organes	Pourcentage de la dose totale administrée, retrouvé après					
	1 heure	4 heures	8 heures	24 heures	48 heures	96 heures
Cerveau	T	T	T	T	T	T
Thymus	T	T	T	T	T	T
Cœur	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1
Poumon	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2
Estomac :						
contenu	45,3	41,8	30,2	23,6	4,6	0,8
contenant	2,8	1,6	1,2	1,0	0,3	0,3
Petit intestin	4,7	2,3	2,1	1,8	1,0	0,8
Cæcum	ND	3,0	2,3	1,1	0,4	0,2
Gros intestin	ND	0,9	1,3	1,0	0,4	0,2
Rate	T	0,1	T	T	0,1	T
Reins	0,1	0,1	0,3	0,3	0,5	0,3
Foie	0,5	1,2	1,4	1,4	1,9	0,9
Pancréas	T	ND	T	T	T	T
Testicules	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2
Muscle	1,1	2,0	2,0	1,7	2,0	0,6
Pourcentage total retrouvé	55,0	53,5	41,4	32,5	11,8	4,6

T : Traces (< 0,1 p. 100).

ND : Présence non détectée.

Le tableau 2 rapporte les quantités d'œhratoxine retrouvées dans le cæcum et le gros intestin après transformation en pourcentage de la dose administrée.

TABLEAU 2

Distribution de l'ochratoxine α après administration orale d'ochratoxine A chez le Rat
Distribution of ochratoxin α after oral administration of ochratoxin A to Rats

Organes	Pourcentage de la dose totale d'ochratoxine A administrée, retrouvé après					
	1 heure	4 heures	8 heures	24 heures	48 heures	96 heures
Petit intestin	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cæcum	ND	2,0	3,3	1,5	1,2	1,0
Gros intestin	ND	0,2	1,2	1,1	1,2	0,9
Pourcentage total retrouvé		2,2	4,5	2,6	2,4	1,9

ND : Présence non détectée.

II. 2. — Élimination urinaire et fécale

II. 2.1. Aspect qualitatif

Le tableau 3 mentionne les caractéristiques des taches fluorescentes séparées par chromatographie sur couche mince des extraits d'urines et de fèces.

TABLEAU 3

Métabolites fluorescents fécaux et urinaires ⁽¹⁾
Fecal and urinary fluorescent metabolites

No	Métabolite			Présence dans		Période d'observation (j)
	Identité	Fluorescence	Rf ⁽²⁾	urine	fèces	
1	Ochratoxine A	verte	0,57	+	+	0-10
2		jaune pâle	0,49	+		0-2
3		bleue	0,41	+		0-1
4	Ochratoxine α	bleu-violet	0,33	+	+	0-10
5		verte	0,30	+	+	0-1
6		bleue	0,20	+	+	0-1

⁽¹⁾ Ces métabolites sont absents de l'urine des mêmes rats avant l'administration du toxique.

⁽²⁾ Système éluant : toluène, acétate d'éthyle, acide formique (5 : 4 : 1, v/v/v).

II. 2.2. Aspect quantitatif.

Les pourcentages de dose administrée éliminés chaque jour pendant 10 jours sont illustrés par la figure 1, représentant les éliminations quotidiennes et cumulées d'ochratoxines A et α par les urines et les fèces.

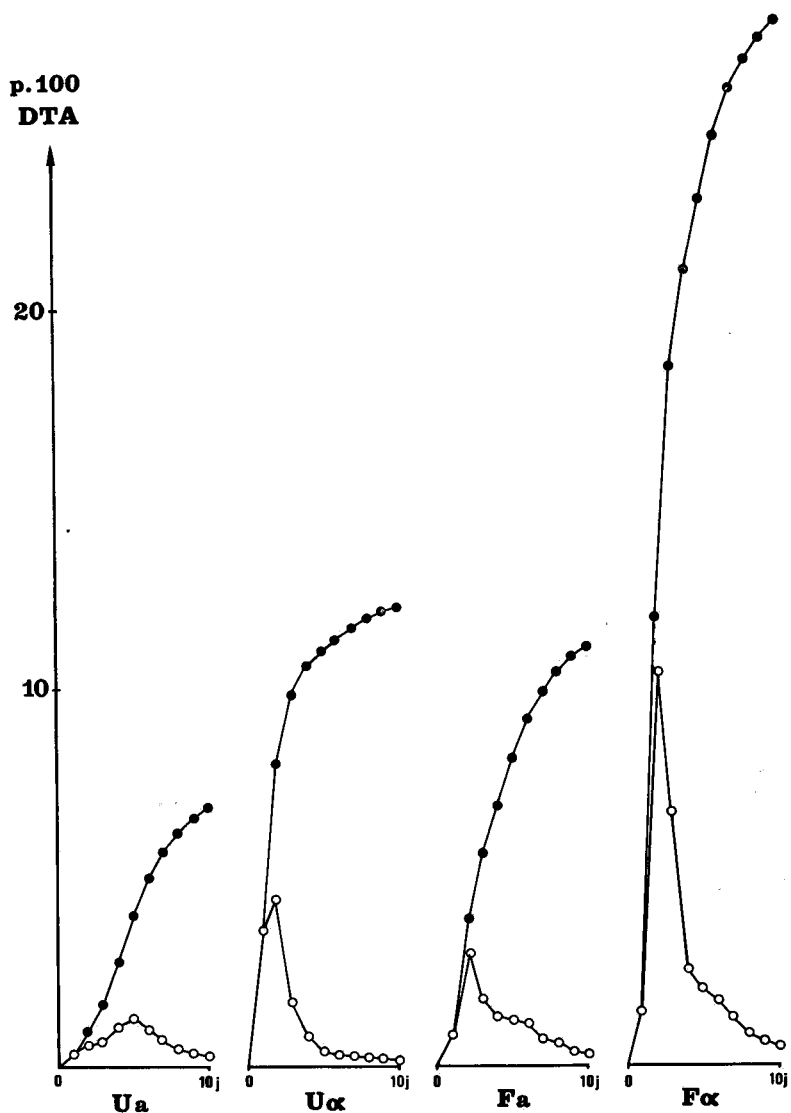


FIG. 1. — Élimination des ochratoxines A et α chez le Rat

P. 100 DTA = pourcentage de la dose totale administrée

Ua : élimination urinaire d'ochratoxine A

U α : élimination urinaire d'ochratoxine α

Fa : élimination fécale d'ochratoxine A

F α : élimination fécale d'ochratoxine α

●—● : élimination cumulée

○—○ : élimination quotidienne

Ochratoxins A and α elimination in Rat

P. 100 DTA = percentage of total administered dose

Ua : urinary elimination of ochratoxin A

U : urinary elimination of ochratoxin α

Fa : fecal elimination of ochratoxin A

F : fecal elimination of ochratoxin α

●—● : cumulate elimination

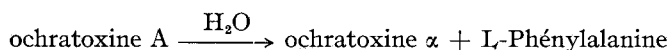
○—○ : daily elimination

III. — DISCUSSION

III. 1. — *Distribution tissulaire*III. 1.1. *Aspect qualitatif.*

Si la présence d'ochratoxine A à tous les niveaux tend à démontrer l'importante diffusibilité de cette mycotoxine, l'absence ou la présence de son métabolite, l'ochratoxine α , est plus riche en enseignements.

Tout d'abord, on peut s'interroger sur l'absence d'ochratoxine α dans le foie et le petit intestin du Rat. En ce qui concerne la métabolisation hépatique, ce résultat rejoindrait l'étude de YAMAZAKI *et al.* (1971), lesquels n'ont pu réaliser la transformation *in vitro* d'ochratoxine A en ochratoxine α à l'aide de broyats de foie activés par de la nicotinamide et du NADP. Par contre, il est plus surprenant de ne pas détecter le métabolite dans le petit intestin où siègent habituellement les réactions d'hydrolyse pancréatique ; en effet, PIROUT (1969) a montré l'action d'enzymes protéolytiques et tout particulièrement de la carboxypeptidase A d'origine pancréatique sur l'ochratoxine A selon la réaction :



Au vu de ces résultats, on peut penser que l'hydrolyse se produit mais demeure limitée, la teneur en produit de réaction restant inférieure au seuil de détection de notre méthode ou qu'encore le toxique entraîne le tarissement de la sécrétion pancréatique ou la disparition de la carboxypeptidase elle-même.

Le fait de rencontrer de l'ochratoxine α au niveau du cæcum et du gros intestin suggère une action hydrolysante de la flore microbienne intestinale. Celle-ci a pu être confirmée par la transformation *in vitro* d'ochratoxine A en ochratoxine α par un contenu cæcal de Rat (résultat non publié). Par ailleurs, les travaux de SCHELINE (1968) montrant l'extrême importance de la microflore intestinale sur le métabolisme des drogues et notamment sur les liaisons peptidiques viennent à l'appui de cette hypothèse de détoxification microbienne de l'ochratoxine A en ochratoxine α peu toxique (YAMAZAKI *et al.*, 1971 ; CHU *et al.*, 1972).

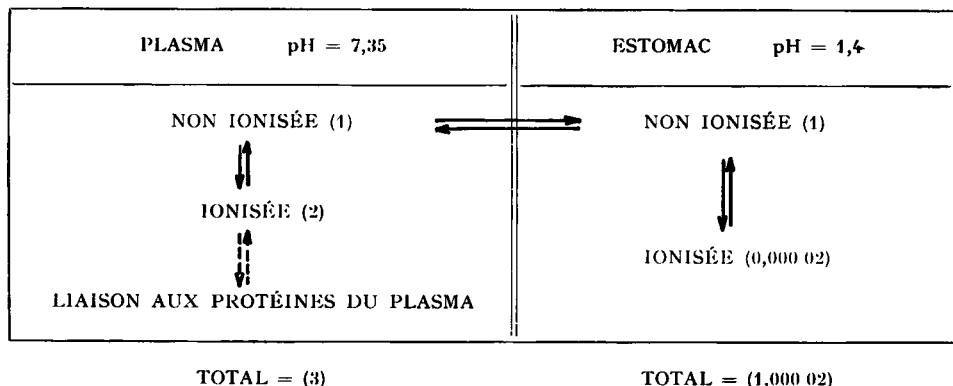
III. 1.2. *Aspect quantitatif.*

L'étude de la cinétique digestive souligne l'absorption essentiellement gastrique de l'ochratoxine A ; en effet, on ne retrouve jamais au niveau des parties postérieures du tube digestif les quantités massives introduites dans l'estomac. Si on considère le pKa global (7,05) de l'ochratoxine A mesuré par PIROUT (1968) et confirmé par CHU (1971), l'application des formules de JACOBS (SCHANKER, 1964) et de HENDERSON-HASSELBACH pour les acides faibles permet d'illustrer par la figure 2 la distribution théorique de l'ochratoxine A entre le contenu gastrique (pH = 1,4) et le plasma (pH = 7,35).

Ce schéma montre que l'ochratoxine A, presque totalement non ionisée au pH gastrique, peut diffuser passivement à travers la paroi stomacale et s'équilibrer

avec l'ochratoxine libre du plasma. Cependant, dans la mesure où l'ochratoxine A diffusée est susceptible de s'ioniser ($\text{pH} = 7,35$) et de se fixer aux protéines plasmatiques, la concentration en ochratoxine non ionisée et libre est faible et on a tout lieu de penser que cette diffusion à point de départ gastrique est rapide.

Par ailleurs, le comportement digestif de l'ochratoxine paraît normal ; en effet, les teneurs maximales sont relevées après 1 heure dans l'estomac et le petit intestin, après 4 et 8 heures dans le cæcum et le gros intestin. L'apparition de la teneur maximale en ochratoxine α est plus tardive, en raison du temps nécessaire à la réaction d'hydrolyse (8 à 48 h).



Les chiffres entre parenthèses représentent les proportions respectives des formes ionisées et non ionisées au niveau de chaque compartiment ; on suppose l'équilibre entre formes non ionisées réalisé

FIG. 2. — *Distribution théorique de l'ochratoxine A entre le suc gastrique et le plasma*
Theoretical distribution of ochratoxin A between gastric juice and plasma

D'après le tableau 1, le pourcentage de toxique retrouvé au niveau du foie, du muscle et des reins est loin d'être négligeable. Ce fait confirme l'observation de HALD et KROGH (1972) retrouvant de l'ochratoxine A dans des reins de porcs intoxiqués spontanément dans un élevage.

On ne retrouve que des traces du toxique au niveau du cerveau, sans qu'il soit possible de préciser s'il s'agit d'une localisation vasculaire ou d'un passage dans le liquide céphalo-rachidien, voire dans le cerveau lui-même. Cette question est sans doute à rapprocher de l'observation de MORÉ et GALTIER (1974) qui ont relevé des cas d'hydrocéphalie chez de jeunes rats issus de mères intoxiquées par l'ochratoxine A.

Au vu des résultats de cette étude, il demeure difficile de préciser les modalités de la répartition de la toxine entre les milieux extra et intra cellulaires. On peut cependant penser que ce phénomène est limité, en raison de l'importance du blocage du toxique sur l'albumine sérique (GALTIER, 1974), bien que l'équilibre entre « forme libre » et « forme diffusible » soit à l'origine de faits déjà observés tels que le passage transplacentaire de l'ochratoxine A chez la Brebis (MUNRO *et al.*, 1973), la présence de toxine chez les fœtus de Rate intoxiquée expérimentalement (MORÉ

et GALTIER, 1974) ou le passage de l'ochratoxine A dans le lait de la Lapine (résultats non publiés). Toutes ces observations militent en faveur du passage d'une fraction diffusible dans le liquide extracellulaire ou même dans la cellule.

III. 2. — *Élimination fécale et urinaire*

III. 2.1. *Aspect qualitatif.*

L'étude de l'élimination fécale et urinaire montre la présence dans ces deux excréta de la toxine inchangée et celle d'un de ses produits d'hydrolyse, l'ochratoxine α . La présence de ce métabolite dans les fèces s'explique par l'action préalable de la microflore intestinale. Par contre, l'existence d'ochratoxine α urinaire paraît plus surprenante dans la mesure où ce métabolite n'est retrouvé ni dans le plasma (GALTIER, 1974), ni dans le rein ; il se pourrait cependant que l'ochratoxine α ne soit présente dans le plasma sanguin qu'à des concentrations très faibles, non détectables par notre méthode de dosage et que le métabolite devienne visible dans l'urine à la suite du travail de concentration réalisé par le rein dans l'élaboration de l'urine.

L'identité des autres métabolites énumérés dans le tableau 3 reste à déterminer. Uniquement présentes dans l'urine, les fractions 2 et 3 pourraient être des conjugués de l'ochratoxine A, la présence d'une fonction hydroxyle autorisant cette hypothèse ; par contre, en raison de sa fluorescence verte, le métabolite n° 5 pourrait correspondre à la 4-hydroxyochratoxine A retrouvée par HUTCHINSON *et al.* (1971) dans l'urine de rats ayant reçu 40 mg/kg d'ochratoxine A par voie intra-péritonéale. A partir de cette mycotoxine, d'autres dérivés sont susceptibles de se former *in vivo*, notamment à la suite d'une déméthylation ou d'une ouverture de la lactone du cycle isocoumarinique ; dans le même ordre d'idées, l'hydrolyse d'une fonction lactone semble avoir été retenue pour expliquer la transformation d'aflatoxine G₁ en parasiticol (PATTERSON, 1973).

III. 2.2. *Aspect quantitatif.*

L'examen des données quantitatives montre que l'excrétion d'ochratoxine A se réalise principalement sous forme d'ochratoxine α dont le maximum se situe au deuxième jour après le traitement ; seule, l'ochratoxine A urinaire est éliminée de façon quasi constante. Cette particularité semble liée à la persistance dans le plasma de l'ochratoxine A dont la teneur ne décroît que lentement en fonction du temps (GALTIER, 1974).

III. 3. — *Bilan*

Le bilan de la distribution tissulaire et de l'élimination montre que 34 à 51 p. 100 de l'ochratoxine A administrée n'est pas retrouvée.

Il faut cependant souligner que tous les tissus n'ont pas été examinés, en particulier l'os, la peau, les poils et la graisse ont échappé à notre étude. Nous pensons explorer ces compartiments ultérieurement. Par ailleurs, l'ochratoxine du liquide extracellulaire paraît être négligeable et ne saurait en l'état actuel de nos connaissances représenter plus de 0,3 p. 100 de la dose administrée.

D'autre part, ignorant la nature des métabolites observés, nous n'avons pu quantifier ceux-ci, ni *a fortiori* leur attribuer un pourcentage de la dose administrée.

Enfin, pour des raisons évidentes, l'évaluation d'une éventuelle dégradation de l'ochratoxine A jusqu'au stade du CO₂ n'a pas été possible. Seule une étude avec toxine marquée au carbone-14 permettra peut-être de combler cette lacune. Si on se réfère à des travaux relatifs à la coumarine (VAN SUMERE et TEUCHY, 1971) ou à l'aflatoxine (WOGAN *et al.*, 1967), il n'est pas exclu que l'ochratoxine A ou l'un de ses constituants puisse être dégradé en gaz carbonique.

Reçu pour publication en mai 1974.

SUMMARY

THE FATE OF OCHRATOXIN A IN THE ANIMAL ORGANISM.

II. — DISTRIBUTION IN THE TISSUES AND EXCRETION IN THE RAT

The distribution in the tissues and the elimination of ochratoxin A and ochratoxin α in rats receiving 10 mg/kg of toxin by mouth were studied.

The mycotoxin is found in all the organs examined. Ochratoxin α is recovered in the caecum and the large intestine, demonstrating the hydrolysing action of the microbial flora of the intestine. The quantitative data shows that ochratoxin A is absorbed by the stomach and that it is distributed particularly to the liver, the kidneys and muscle.

The urinary and faecal excretion is mainly in the form of ochratoxin α . The percentage of ochratoxin A not recovered may result from either distribution to areas not examined or by transformation into metabolites not identified or possibly by complete degradation of the toxin by CO₂.

РЕЗЮМЕ

Развитие охратоксина А в организме животных. — II. Распределение в тканях и выделение у крысы.

Исследовались распределение в тканях и выделение охратоксина А и охратоксина α у крысы, получившей *per os* 10 мг/кг.

Микотоксин распространяется по всем рассмотренным органам. Охратоксин α обнаруживается в слепой кишке и в толстой кишке. Это служит доказательством гидролитического действия микробов кишки. Количественные данные показывают, что печень поглощает охратоксин А; он распространяется, главным образом, по печени, по почкам и по мышцам.

Мочой и калом выделяется, главным образом, охратоксин α . Процент ненайденного охратоксина А происходит :

- или от нерассмотренных органов,
- или от превращения в неидентифицированные метаболиты,
- или от целого превращения токсина в CO₂.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CHU F. S., 1971. Interaction of ochratoxin A with bovine serum albumin. *Arch. Biochem. Biophys.* **147**, 359-366.
- CHU F. S., NOH I., CHANG C. C., 1972. Structural requirements for ochratoxin intoxication. *Life Sci.*, **11** (10), 503-508.

- GALTIER P., 1974. Devenir de l'ochratoxine A dans l'organisme animal. I. Transport sanguin chez le Rat. *Ann. Rech. vétér.*, **5**, (3), 311-318.
- HAGEMANN E., SCHMIDT G., 1960. *Rattie und Mauss*, p. 5, Ed. W. de GRUYTER, Berlin.
- HALD B., KROGH P., 1972. *Ochratoxin residues in bacon pigs, I. U. P. A. C. Symposium, Control of Mycotoxins*, Kunglav, Sweden, Aug, 21-22.
- HUTCHINSON R. D., STEYN P. S., THOMPSON D. L., 1971. The isolation and structure of 4-hydroxyochratoxin A and 7-carboxy-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methylisocoumarin from *Penicillium viridicatum*. *Tetrahedron Letters.*, **43**, 4033-4036.
- MORE J., GALTIER P., 1974. Toxicité de l'ochratoxine A. I. Effet embryotoxique et tératogène chez le Rat. *Ann. Rech. vétér.*, **5**, 167-177.
- MUNRO I. C., SCOTT P. M., MOODIE C. A., WILLES R. F., 1973. Ochratoxin A occurrence and toxicity. *J. amer. veter. med. Ass.*, **163** (11), 1269-1274.
- NEL W., PURCHASE I. F. H., 1968. The fate of ochratoxin A in Rats. *J. S. afr. chem. Inst.*, **21**, 87-88.
- PATTERSON D. S. P., 1973. Metabolism as a factor in determining the toxic action of the aflatoxins in different animal species. *Food Cosmet. Toxicol.*, **11**, 287-294.
- PITOUT M. J., 1968. The effect of ochratoxin A on the glycogen storage in rat liver. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, **13**, 299-306.
- PITOUT M. J., 1969. The hydrolysis of ochratoxin A by some proteolytic enzymes. *Biochem. Pharmacol.*, **18**, 485-491.
- SCHANKER L. S., 1964. Physiological transports of drugs. *Adv. drug Res.*, **1**, 71-106.
- SHELINE R., 1968. Drug metabolism by intestinal microorganisms. *J. pharm. Sci.*, **57** (12), 2021-2037.
- VAN DER MERWE K. J., STEYN P. S., FOURIE L., 1965. Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxins A, B, C, Metabolites of *Aspergillus ochraceus* WILHELM. *J. chem. Soc.*, 7083-7088.
- VAN SUMERE C. F., TEUCHY H., 1971. The metabolism of (2-¹⁴C) coumarin and (2-¹⁴C)-7-hydroxycoumarin in the rat. *Arch. internation. Physiol. Biochim.*, **79**, 665-679.
- VAN WALBEEK W., MOODIE C. A., SCOTT P. M., HARWIG J., GRICE H. C., 1971. Toxicity and excretion of ochratoxin A in rats intubated with pure ochratoxin A or fed cultures of *Penicillium viridicatum*. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, **20**, 439-441.
- WOGAN G. N., EDWARDS G. S., SHANK R. C., 1967. Excretion and tissue distribution of radioactivity from aflatoxin B₁-¹⁴C in rats. *Cancer Res.*, **27** (10), 1729-1736.
- YAMAZAKI M., SUZUKI S., SAKAKIBARA Y., MIYAKI K., 1971. The toxicity of 5-chloro 8-hydroxy 3,4-dihydro 3-methyl isocoumarin 7-carboxylic acid, a hydrolyzate of ochratoxin A. *Jap. J. med. Sci. Biol.*, **24** (4), 245-250.