



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Maestría en Salud y Producción Animal  
Sustentable

**PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN ALIMENTOS PARA  
CONSUMO ANIMAL EN MÉXICO. PERÍODO 2011-2015**

**Presenta**

M.V.Z. José Lozano Bárcenas

**Dirigido por**

Dra. Araceli Aguilera Barreyro

**Asesores**

Dra. Tercia Cesária Reis de Souza

Dr. Konigsmar Escobar García

Dra. Ma. Guadalupe Bernal Santos

Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores

**Diciembre 2016**



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Maestría en Salud y Producción Animal  
Sustentable



**PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN ALIMENTOS PARA  
CONSUMO ANIMAL EN MÉXICO. PERÍODO 2011-2015**

**TESIS**

**Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable.**

**Presenta**

M.V.Z. José Lozano Bárcenas

**Dirigido por**

Dra. Araceli Aguilera Barreyro

**Asesores**

Dra. Tercia Cesária Reis de Souza

Dr. Konigsmar Escobar García

Dra. Ma. Guadalupe Bernal Santos

Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores

**Campus Juriquilla**

**Santiago de Querétaro, Qro., México**

**Diciembre 2016**



Universidad Autónoma de Querétaro  
 Facultad de Ciencias Naturales  
 Maestría en Salud y Producción Animal  
 Sustentable

Tesis

**PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN ALIMENTOS PARA  
 CONSUMO ANIMAL EN MÉXICO. PERÍODO 2011-2015**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
 Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable

**Presenta:**

M.V.Z. José Lozano Bárcenas

**Dirigido por:**

Dra. Araceli Aguilera Barreyro

**Nombre del Sinodal**

Dra. Araceli Aguilera Barreyro

Presidente

**Nombre del Sinodal**

Dr. Konigsmar Escobar García

Vocal

**Nombre del Sinodal**

Dra. Tercia Cesária Reis de Souza

Vocal

**Nombre del Sinodal**

Dra. Ma. Guadalupe Bernal Santos

Vocal

**Nombre de Sinodal**

Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores

Vocal

Dra. Margarita Teresa de Jesús  
 García Gasca

Directora de la Facultad de Ciencias  
 Naturales

**Firma**

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
 Directora de investigación y Posgrado

Facultad de Ciencias Naturales

Querétaro, Qro.

Diciembre, 2016

## RESUMEN

Desde el Siglo VII A.C. se han observado los efectos que tiene la colonización de los hongos en los cultivos, ya que existen algunos que tienen la capacidad de biosintetizar metabolitos secundarios denominados "micotoxinas" (mico- hongo y la toxina), capaces de producir un cuadro clínico conocido como micotoxicosis y se han convertido en uno de los problemas actuales más importantes y de extensa difusión en la producción agropecuaria mundial. El auténtico problema reside en el efecto inmunosupresor, que impide el aprovechamiento de los nutrientes originando patologías como cáncer, alteraciones mutagénicas y teratogénicas, problemas inmunotóxicos y efectos estrogénicos. En el presente estudio se determinó la presencia de micotoxinas (aflatoxinas totales, ocratoxina A, fumonisina total, y zearalenona) en 357 muestras de alimentos destinados para consumo animal en el Centro de Análisis de Micotoxinas (CAM) de la Universidad Autónoma de Querétaro, durante el período de enero 2011 a diciembre 2015. Se analizaron un total de 1,127 determinaciones, de las cuales 324 pertenecieron a aflatoxinas totales, 275 a fumonisina total, 253 a ocratoxina A y 275 a zearalenona. Las muestras provinieron de 11 diferentes estados de la República Mexicana (Aguascalientes, Chiapas, Coahuila, Puebla, Guanajuato, Jalisco, Morelos, Querétaro, Nuevo León, Sonora y Veracruz). El número de recepciones de muestras de alimento para análisis de micotoxinas en el Centro de Análisis de Micotoxinas, ha venido a la baja de 2011 a 2015, recibiendo más alimentos terminados (80%) que materias primas (20%), principalmente para bovinos en lactancia, seguido de cerdos en crecimiento, lactancia y gestación; y por último para aves para finalización y luego para crecimiento, preponderantemente del estado de Querétaro, además de Sinaloa y Jalisco. La mayor presencia de micotoxinas en alimentos contaminados para consumo animal fue de fumonisinas totales (19.3%), seguida de aflatoxinas (9.25%) y zearalenona (8.4%), y por último de ocratoxina A (1.6%), mayormente en alimentos terminados (10.4%) que en materias primas (6.8%). Sin embargo, la presencia y concentración de las diferentes micotoxinas en los alimentos fue a la baja en 2015 con respecto a 2011. Las micotoxinas con mayor presencia en bovinos fueron la aflatoxina y la fumonisina totales, en aves la fumonisina total, y en cerdos zearalenona.

La mayor presencia de aflatoxinas totales fue en Aguascalientes y Coahuila, la de ocratoxina A en Sonora, la de fumonisina total y zearalenona en Coahuila, Aguascalientes y Sonora. Los resultados determinaron la presencia de altas concentraciones que están por encima de los límites permisibles para consumo animal y representan un riesgo para la salud animal y humana.

**Palabra clave:** Micotoxinas, seguridad alimentaria, alimento de origen animal, aflatoxinas, fumonisinas, zearalenona, ocratoxina A

## SUMMARY

Since VII Century B.C., have been observed, the effects has the colonization of fungi in crops, there are some fungi that has the ability of bio synthesise secondary metabolism called "mycotoxins" (mico- fungi and toxin), with the possibility of to produce a clinic picture called mycotoxicosis and have become one of the most important current problems of wide diffusion in the worldwide agricultural sector production. The authentic problem, resides in the immunosuppression effect that prevents the use of the nutrients, originating pathologies like cancer, mutagenic alterations and teratogenic, immunotoxic problems and estrogenic effects. In the present study it was determined the presence of Micotoxins (total aflatoxins, ochratoxin A, Total fumonisin and zearalenone) in 357 food samples destined for animal consumption in the "Centro de Análisis de Micotoxinas" (CAM) of the Universidad Autónoma de Querétaro, during the period January 2011-December 2015. Were made a total of 1,127 micotoxin determinations, which 324 belonged to total aflatoxin, 275 to total fumonisin, 253 to ochratoxin A and 275 to zearalenona, from 357 samples received, between January 2011 until December 2015. The samples came from 11 different states of Mexican Republic (Aguascalientes, Chiapas, Coahuila, Puebla, Guanajuato, Jalisco, Morelos, Querétaro, Nuevo León, Sonora y Veracruz). The food samples reception number from micotoxin analysis in the "Centro de Análisis de Micotoxinas", has been too low, since 2011 to 2015, receiving more finished feed (80%) than raw material (20%), mainly for nursing cattle, followed by pigs in growth, nursing and gestation; and finally ending poultry, and then by growth, preponderantly in Querétaro state, in addition Sinaloa and Jalisco. The higher contaminated feed micotoxin presence destined for animal consumption was total fumonisin (19.3%), followed by total aflatoxins (9.25%) and zearalenone (8.4%), and finally ochratoxin A (1.6%), mainly in finished feed (10.4%) than raw material (6.8%). However, the presence and concentration of the different micotoxins in feed, has been too low, in 2015 in relation to 2011. The higher presence of micotoxins in cattle, were the total aflatoxins and total fumonisin, in poultry the total fumonisin and pigs zearalenone. The higher presence of micotoxins total aflatoxins was in Aguascalientes and Coahuila, ochratoxin A in Sonora, total fumonisin and

zearalenone in Coahuila, Aguascalientes and Sonora. The results proved the presence of feed that has concentrations over the limit permissible for their consumption and represent a risk for animal and human health.

Keywords: Micotoxins, food safety, feeding animal origin, aflatoxins, fumonisin, zearalenone, ochratoxin A

## **DEDICATORIAS**

### **A Dios**

Por su presencia y por permitirme seguir adelante, por darme paciencia en los momentos de mayor necesidad.

### **A mis padres**

Ejemplos inagotables de entrega, perseverancia y sacrificio, por el apoyo brindado cada día. Por su interés y sus ganas de siempre seguir adelante.

### **A mis familiares**

A Alejandra y Esmeralda por su participación directa e indirecta en el desarrollo de esta tesis, por ser parte fundamental de mi vida y estar presentes siempre en mis éxitos y sobre todo en los momentos de dificultad.

### **A mis maestros**

A la Dra. Araceli Aguilera Barreyro por su gran apoyo y su infinita paciencia, por ser un ejemplo como profesionista, asesora y como persona, por sus consejos y sus ganas de siempre lograr un cambio positivo en los demás.

Al Dr. Jorge Germinal Cantó porque sin su apoyo esto no hubiese podido ser posible, por su ejemplo, por su paciencia, por su dedicación y su confianza siempre. Gracias.

Y a todos aquellos grandes maestros que han participado en mi formación en el transcurso de la elaboración de esta tesis. A mis maestros y grandes amigos el Dr. Konigsmar Escobar García, la Dra. Ma. Guadalupe Bernal Santos, a la Dra. Tercia Cesárea Reis de Souza y al Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores.

### **A mis amigos**

Que nos apoyamos mutuamente y acompañamos en este viaje de principio a fin. A Nereida Torres, Denisseth Valera, Angélica Rodríguez, María del Rocío, Mauricio Arrendondo, Suyén Alcocer, Arturo Estrada, Andrés Nolasco e Isaac Escalante, por mencionar algunos.

Y a mi amigo biólogo, Edain Domínguez.



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco infinitamente el apoyo otorgado por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a la Universidad Autónoma de Querétaro, al Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad, así como a investigadores, académicos y personal administrativo de la misma.

Gracias infinitas a la Química en alimentos Aurora Jáuregui Mejía y a la Histotecnóloga y técnica analista Leticia Castillo Heredia, por sus enseñanzas y paciencia en el fortalecimiento de mis conocimientos teórico-práctico en el laboratorio.

## INDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>i</b>
<b>DEDICATORIAS</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>vi</b>
<b>INDICE</b>	<b>vii</b>
<b>INDICE DE CUADROS</b>	<b>ix</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	<b>X</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>II. REVISIÓN DE LA LITERATURA</b>	<b>4</b>
<b>2.1 FACTORES QUE FAVORECEN LA PRODUCCIÓN DE MICOTOXINAS</b>	<b>6</b>
<b>2.2 MICOTOXICOSIS</b>	<b>7</b>
<b>2.3 AFLATOXINAS</b>	<b>9</b>
<b>2.4 OCRATOXINAS</b>	<b>13</b>
<b>2.5 FUMONISINAS Y ZEARELENONAS</b>	<b>15</b>
<b>2.6 EFECTO DE LAS MICOTOXINAS A NIVEL CELULAR</b>	<b>17</b>
<b>2.7 SITUACIÓN MUNDIAL DE CONTAMINACIÓN POR MICOTOXINAS</b>	<b>19</b>
<b>2.8 SITUACIÓN DE LAS MICOTOXINAS EN MÉXICO</b>	<b>26</b>
<b>2.9 MICOTOXINAS Y SALUD PÚBLICA</b>	<b>28</b>
<b>2.10 PREVENCIÓN, CONTROL Y TRATAMIENTO DE MICOTOXINAS</b>	<b>29</b>
<b>2.11 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS</b>	<b>32</b>
<b>2.12 LIMITES PERMISIBLES PARA MATERIAS PRIMAS Y ALIMENTOS TERMINADOS.</b>	<b>36</b>
<b>III. OBJETIVOS</b>	<b>38</b>
<b>3.1 OBJETIVO GENERAL</b>	<b>38</b>
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>38</b>
<b>IV. METODOLOGÍA</b>	<b>39</b>
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>42</b>
<b>5.1 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE ALIMENTO PARA CONSUMO ANIMAL RECIBIDAS Y ANALIZADAS EN EL CENTRO DE ANÁLISIS DE MICOTOXINAS DE 2011 A 2015</b>	<b>42</b>
5.1.1 Análisis de micotoxinas en el total de las muestras de alimento recibidas en el CAM de 2011 a 2015	42
5.1.2 Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por tipo de alimento (materia prima y alimento terminado) de 2011 a 2015	42
5.1.3 Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por especie de 2011 a 2015	44

5.1.4	Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por etapa productiva de 2011 a 2015	45
5.1.5	Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por estado de la república mexicana de 2011 a 2015	48
5.1.6	Número de muestras de alimento recibidas y determinadas por micotoxina en el CAM de 2011 a 2015	49
<b>5.2</b>	<b>PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN MUESTRAS CONTAMINADAS O POSITIVAS RECIBIDAS EN EL CENTRO DE ANÁLISIS DE MICOTOXINAS DE 2011 A 2015</b>	<b>51</b>
5.2.1	Presencia por tipo de micotoxinas en muestras contaminadas o positivas recibidas en el CAM	51
5.2.2	Presencia por tipo de micotoxinas y por año en muestras contaminadas o positivas recibidas en el CAM (período 2011 a 2015)	57
5.2.3	Presencia de micotoxinas por tipo de alimento (alimentos terminados y materias primas) recibidos en el CAM de 2011 a 2015	60
5.2.4	Presencia de micotoxinas en alimentos por especie recibidas en el CAM de 2011 a 2015.	61
5.2.5	Presencia de micotoxinas en alimentos por estado de la república mexicana recibidas en CAM (período 2011 a 2015)	65
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>69</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>70</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>71</b>

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Micotoxinas de importancia mundial (Miller, 1995) .....	6
2. Concentraciones máximas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) tolerables de micotoxinas en materias primas y en alimentos terminados, en diferentes especies animales y etapas productivas.....	37
3. Presencia de micotoxinas en alimentos, por año y tipo de micotoxina (aflatoxinas totales, fumonisina, ocratoxina A y zearalenona) .....	58
4. Presencia de micotoxinas por tipo de alimento (materia prima y alimento terminado) (período de 2011 a 2015).....	61
5. Presencia de micotoxinas en alimento destinado a diferentes especies (período 2011-2015) .....	62
6. Presencia de micotoxinas por zona geográfica de México (período 2011 a 2015).....	66

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Estructura química de las aflotoxinas B (AFB <sub>1</sub> y AFB <sub>2</sub> ) y aflatoxinas G (AFG <sub>1</sub> y AFG <sub>2</sub> ) (Hussein y Brasel, 2001) .....	10
2. Estructura química de aflotoxinas M (AFM <sub>1</sub> y AFM <sub>2</sub> ) (Hussein y Brasel, 2001).....	10
3. Estructura química de ocratoxina A (Hussein y Brasel, 2001) .....	14
4. Estructura química de los tricotecenos toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS), y deoxinivalenol (DON) (Hussein y Brasel, 2001) .....	16
5. Estructura química de Zearalenona (ZEN) (Hussein y Brasel, 2001).....	17
6. Columnas de inmunoafinidad de VICAM: Aflatest™ (aflatoxinas totales: AFB <sub>1</sub> , AFB <sub>2</sub> , AFG <sub>1</sub> , AFG <sub>2</sub> y AFM <sub>1</sub> ), FumoniTest™ (fumonisina total: B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> y B <sub>3</sub> ), OchraTest™ (ocratoxina A) y ZearalaTest™ (zearalelona). .....	40
7. Número de muestras recibidas totales y por tipo de alimento (alimentos terminados y materias primas) por año en el CAM (período 2011-2015).....	43
8. Comportamiento del número de muestras recibidas por especie (aves, bovinos y cerdos) por año en el CAM (período 2011-2015).....	44
9. Número de muestras totales recibidas en el CAM por etapa productiva para bovinos (período 2011 a 2015) .....	45
10. Número de muestras totales recibidas en el CAM por etapa productiva de aves (período 2011 a 2015) .....	47
11. Número de muestras totales recibidas en el CAM por etapa productiva para cerdos (período 2011 a 2015).....	48
12. Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por estado de la República Mexicana (período 2011 a 2015) .....	49
13. Número de muestras recibidas y determinadas por micotoxina (aflatoxinas totales, fumonisinas totales, ocratoxina A y zearalenona) por año en el CAM (período 2011-2015).....	50
14. Porcentaje de positivos por tipo de micotoxina y por zona geográfica de México.....	67

## INTRODUCCIÓN

El reino de los hongos presenta una infinidad de componentes, en él encontramos más de un millón de especies con las que estamos en contacto directo cada día. Además de carecer de clorofila y ser ésta una característica que los distingue, es también una condición de suma importancia en su actividad biológica. Estos pequeños organismos se clasifican en: levaduras y hongos filamentosos (Gimeno y Martins, 2003; Denli y Pérez, 2010).

Desde el siglo VII A.C. se han observado los efectos que tiene la colonización de los hongos en los cultivos. Para poder desarrollarse y subsistir los hongos necesitan oxígeno y nutrientes que obtienen a partir de las materias primas, existiendo algunos que tienen la capacidad de biosintetizar metabolitos secundarios denominados “micotoxinas” (micohongo y la toxina), con la creciente posibilidad de producir un cuadro clínico conocido como micotoxicosis, que puede afectar tanto a los animales como a humanos. Dichos metabolitos son generados en condiciones de estrés, y son utilizados para sobrevivir en condiciones adversas, por lo que es importante saber que no son necesarios para su crecimiento, son simplemente un producto del metabolismo primario (Duarte y Jiménez, 2006).

Se desconoce la función que las toxinas tienen, sin embargo, se cree que juegan un rol de gran importancia en la competencia con otros microorganismos que comparten el mismo entorno (Soriano *et al.*, 2007).

Las micotoxicosis han sido reconocidas como uno de los problemas más importantes y de extensa difusión en la producción agropecuaria mundial. Es fundamental conocer que no son proteínas o antígenos, son compuestos químicos de bajo peso molecular que no pierden su toxicidad por tratamiento térmico, ni por la acción de los complejos enzimáticos del sistema gastrointestinal. Se debe determinar su acción tóxica para tener en cuenta los mecanismos contaminantes y su capacidad para originar efectos adversos para la producción (Hernández *et al.*, 2009; Bryden, 2012).

Se ha relacionado a las micotoxinas con un gran número de alteraciones patológicas, sin embargo no son la contaminación de la ración ni los episodios agudos de la enfermedad el principal inconveniente, ya que, inclusive niveles mínimos de contaminación pueden promover alteraciones

metabólicas y manifestarse en baja productividad de los animales afectados. El auténtico problema reside en la inmunosupresión, que elimina el aprovechamiento de los nutrientes y reduce cuantiosamente la palatabilidad. Como consecuencia del consumo frecuente, se originan patologías como cáncer, alteraciones mutagénicas y teratogénicas, problemas inmunotóxicos y efectos estrogénicos. El impacto productivo considera el precio de eliminación del alimento contaminado, la reducción en el rendimiento, el incremento económico de atención veterinaria y el conglomerado de esfuerzos técnicos para reducir los efectos negativos (Perusia y Rodríguez, 2001).

Este conflicto representa un gran riesgo para la salud humana, en consecuencia al consumo frecuente de los productos y subproductos que tienen origen de animales que consumen alimento contaminado (Denli y Pérez, 2010).

En México, las condiciones de clima tropical y subtropical, favorecen las infecciones por hongos toxígenos. Desgraciadamente la información y normatividad con respecto al tema es mínima, sólo se cuenta con la normatividad en cuanto a las aflatoxinas en cereales (Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias) y se excluyen a otras micotoxinas (Padrón *et al.*, 2013).

Debe de continuarse con el diagnóstico y la evaluación oportuna de los daños por hongos y plagas, identificar las asociaciones que existen entre los diferentes tipos de micotoxinas y generar paquetes tecnológicos que permitan paulatinamente reducir o inhibir por completo a los hongos (Resnik *et al.*, 1995; Padrón *et al.*, 2013).

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

Los hongos pertenecen al reino protista, un reino intermedio entre animales y plantas, se alimentan por medio de absorción y se consideran en un dominio diferente llamado “Fungi” (Gimeno y Martins, 2003).

El cuerpo de un hongo filamentoso tiene dos porciones, una reproductiva y otra vegetativa. La parte vegetativa, es haploide y generalmente no presenta coloración, está compuesta por filamentos llamados hifas, un conjunto de éstas conforma un micelio. Los hongos pueden ser unicelulares o pluricelulares, aunque frecuentemente en la misma especie se observan ambas fases (Soriano *et al.*, 2007).

La reproducción de los hongos se inicia por medio de esporas que se dispersan en el medio y en condiciones favorables germinan su primer hifa. La velocidad de crecimiento es impresionante, hongos tropicales tienen la capacidad de crecer hasta 5 mm por minuto, su reproducción puede ser sexual y asexual, en este último caso las esporas son precedidas por la meiosis celular (meiosporas) y son más resistentes a condiciones adversas (Gimeno y Martins, 2003; Denli y Pérez, 2010).

Para poder desarrollarse los hongos necesitan tener las condiciones favorables, de no ser así el hongo entrará en un proceso de estrés y producirá metabolitos secundarios denominados “micotoxinas”, que se asocian a la contaminación del alimento y enfermedades tanto en animales y humanos (Kabak *et al.*, 2006).

Las micotoxinas están presentes en alimentos comúnmente consumidos por el ser humano y el animal, principalmente: cereales, cacahuates, maíz, trigo, cebada, sorgo y arroz. Dañan órganos y sistemas vitales, y producen lesiones como hepatitis, hemorragias, nefritis y necrosis de mucosas digestivas (De Lourdes *et al.*, 2001; Bhatnagar *et al.*, 2008).

Son resistentes a los cambios térmicos y a la acción de las enzimas del tracto digestivo. Sin embargo, se ha demostrado que alrededor de 1000 especies microbianas, incluidas actinomicetos y algas, son capaces de degradar a las aflatoxinas (Bolet y Socarrás, 2005).

Las micotoxinas pueden ser simples moniliformes (cuya disposición es similar a las cuentas de un collar) hasta complicados compuestos de bajo peso molecular (Solé *et al.*, 1992; Mejía-Teniente *et al.*, 2011).



Las micotoxinas son bastante diversas (Cuadro 1), se han identificado más de 500 diferentes tipos y más de 150 tipos diferentes de mohos que son capaces de producirlas cuando no se desarrollan en condiciones favorables (Miller, 1995).

Las aflatoxinas B<sub>1</sub> y M<sub>1</sub> son las más conocidas e importantes del género. M<sub>1</sub> es un metabolito hidratado de B<sub>1</sub> y se ha logrado detectar su presencia en leche y en orina de animales. Aflatoxina B<sub>1</sub> forma la aflatoxina M<sub>1</sub> y de B<sub>2</sub> se forma M<sub>2</sub>, la letra M indica Milk (Leche en inglés) haciendo referencia a su vía de eliminación. Es una micotoxina altamente cancerígena (De Lourdes *et al.*, 2001; Mejía-Teniente *et al.*, 2011).

La ocratoxina A (OTA) es nefrotóxica y es producida por *Aspergillus* y *Penicillium*. *Fumonisin* B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> son altamente hepatotóxicas. *Deoxinivalenol* (DON), tiene fuertes efectos citotóxicos e inmunotóxicos. *Zearalenona* (ZEA) se une a los receptores de estrógenos y altera permanentemente órganos reproductores. Los *tricotecenos* (TT1 y TT2), inhiben la síntesis de proteína y son altamente hemotóxicos (De Lourdes *et al.*, 2001; Mejía-Teniente *et al.*, 2011).

La Organización de Agricultura y la Alimentación para las Naciones Unidas (FAO), considera que aproximadamente el 25% del suministro mundial de granos está contaminado con toxinas, Las pérdidas se estiman en millones de dólares al año, con un aproximado de 1000 toneladas. Los más afectados son los productores agrícolas y pecuarios (FAO, 2011).

Los efectos generados por cada tipo de micotoxina, serán diferentes debido a que sus estructuras químicas también lo son. La especie, raza, sexo, edad, factores ambientales, manejo, condiciones nutricionales y otras sustancias químicas, son factores que influyen en la presentación de enfermedades relacionadas con micotoxinas, estos metabolitos secundarios infectan tejidos vegetales vivos, con gran poder de invasión, diseminación y deterioro de productos almacenados (Gimeno y Martins, 2003).

**Cuadro 1.** Micotoxinas de importancia mundial (Miller, 1995)

<b>Moho</b>	<b>Micotoxinas</b>
<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i>	18 Aflatoxinas; las más frecuente en alimentos son B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> , M <sub>1</sub> , M <sub>2</sub>
<i>Fusarium graminearum</i>	Desoxinivalenol Zearalenona
<i>Fusarium moniliforme</i> ( <i>F. verticillioides</i> )	Fumonisina B <sub>1</sub>
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ocratoxina A
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ocratoxina A

La contaminación representa grandes mermas de orden sanitario, económico y comercial. Representan el alargamiento en el número de días de salida del producto a mercado, rechazo de la canal por riesgos para consumo, pérdidas reproductivas, mayores costos de atención veterinaria, disminución de la ganancia de peso, etc (Hernández *et al.*, 2009).

En el año 2004, fue aprobado por la Comisión Europea un proyecto de apoyo denominado Proyecto MycoGlobe (Integración de micotoxinas e investigación de los hongos para la seguridad alimentaria en el sistema global). El objetivo ha sido estimular y hacer más fácil la cooperación entre los países en la Unión Europea y países que tienen acuerdo bilateral de cooperación científica y tecnológica (Bhatnagar *et al.*, 2008).

## **2.1 FACTORES QUE FAVORECEN LA PRODUCCIÓN DE MICOTOXINAS**

El crecimiento fúngico y la formación de las toxinas depende de una serie de factores desencadenantes, mala aplicación de prácticas agronómicas, condiciones deficientes de la cosecha, condiciones fluctuantes de humedad y temperatura, mal manejo y mal seguimiento de las normas sanitarias de almacenamiento, ausencia de oxígeno, tiempo de crecimiento, constitución del sustrato, mala selección de la semilla, inadecuada rotación de los cultivos, lesiones en la integridad del grano causadas por insectos y daño mecánico o térmico (Mallmann *et al.*, 2007).

Es en el almacenaje del alimento en donde se presenta el mayor grado de contaminación del alimento. En el proceso de elaboración de los

ensilados, la presencia de oxígeno es mínima, lo que genera estrés e impidiendo el desarrollo adecuado del hongo, este efecto favorece la producción de las micotoxinas (De Lourdes *et al.*, 2001; Mejía-Teniente *et al.*, 2011).

## **2.2 MICOTOXICOSIS**

Se define como micotoxicosis a las enfermedades que afectan a humanos y animales producidas por el consumo de micotoxinas. Son capaces de producir distintas enfermedades asociadas a ellas, por ejemplo el ergotismo que se presentó alrededor de 1711 y se extendió a fines del siglo XIX y principios del XX. Otro claro ejemplo nos sitúa en Australia y Nueva Zelanda en donde se encuentra el eczema facial de los ovinos (Bolet y Socarrás, 2005).

La presentación de las micotoxicosis puede ser aguda o crónica y se ha vuelto una preocupación constante en la producción animal, ya que los animales de mayor desempeño son también los más susceptibles, porque las condiciones del clima son cada vez más adecuadas para que los hongos las produzcan (Bolet y Socarrás, 2005; Hernández *et al.*, 2009).

En el mayor número de los casos el Médico Veterinario interviene con rapidez, sin embargo no se identifica con facilidad la causa de la enfermedad. Los tratamientos con antibióticos son comúnmente utilizados, pero no tienen efecto alguno ante esta situación. Estos trastornos no son transmisibles entre animales. Los brotes de micotoxicosis en pastos son estacionales y están asociados con características climáticas especiales. Las enfermedades están relacionadas por lo general con un alimento en particular (Perusa y Rodríguez, 2001; Gimeno, 2014).

El diagnóstico de las micotoxicosis es bastante difícil. La signología que ha sido observada y asociada a este problema, es detectada con posterioridad, provocando graves alteraciones en salud humana y animal. Se recomienda que la alimentación siempre sea elaborada a base de ingredientes de calidad, libre de contaminantes y utilizando los secuestrantes de toxinas más efectivos. No se puede eliminar por completo la presencia de estos metabolitos pero si podemos controlarla (Gimeno y Martins, 2003; Bryden *et al.*, 2009).

Puede existir un agravante de las lesiones patológicas asociadas a las micotoxinas en la vinculación de varios tipos de ellas, principalmente en la combinación de cereales (Huff *et al.*, 1998; Speijers *et al.*, 2004)

Las aflatoxinas, Grupo DON (deoxinivalenol), Grupo T-2 y Fumonisin, causan severos daños en la integridad intestinal, como enteritis, posteriormente mala digestión y absorción, disminución en la longitud de vellosidades intestinales y finalmente diarreas. Si al anterior grupo agregamos ocratoxinas, éstos podrían también estar relacionados con la alta mortalidad, escasa inmunidad por mediación celular y la baja productividad de anticuerpos (Hernández *et al.*, 2009).

Aflatoxina, Fumonisina y Ocratoxina, tienen predilección por las células hepáticas, son denominadas hepatotóxicas y producen lesiones tales como degeneración grasa, hemorragia y necrosis hepática. En algunos casos existen tamaños anormales de los hepatocitos y su núcleo (Requena *et al.*, 2005).

En general podemos decir que en micotoxicosis agudas se observa ictericia, anemia hemolítica y elevación de los niveles plasmáticos de las enzimas hepáticas, acompañado de fotosensibilización secundaria. En micotoxicosis crónicas, se aprecia hipoproteinemia, hipoprotrombinemia, fibrosis hepática y cirrosis. Puede generarse fotosensibilización secundaria (Perusia y Rodríguez, 2001; Gimeno y Martins, 2003).

Pestka (2007), dice que lo más probable es que los rumiantes sean más resistentes al efecto del DON que los monogástricos, como consecuencia de los microorganismos ruminales que poseen capacidades de transformación a moléculas menos tóxicas como deoxinivalenol. Dicha información es aún escasa y contradictoria para afirmarlo con seguridad.

Las micotoxinas tienen efectos adversos en el ganado lechero y los bovinos en general, el sabor de los alimentos cambia y se vuelve menos palatable, por lo que el animal reduce su consumo. Por su parte, las micotoxinas poseen una actividad antimicrobiana muy marcada, lo que reduce la fermentación ruminal, daño hepático, incremento de infecciones respiratorias, aumenta la incidencia de casos de mastitis y laminitis, y teniendo efectos estrogénicos adversos que deterioran la fertilidad (Castañeda y Abril., 2015).

Los cerdos presentan alta sensibilidad a las micotoxinas y la presentación de alguna enfermedad asociada a ellas, depende de la concentración en el alimento, la edad del animal y la fase de producción del animal (Hernández *et al.*, 2009).

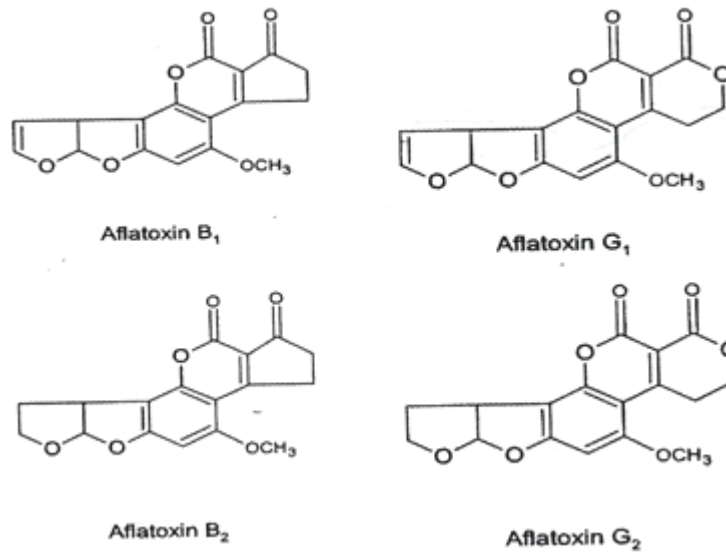
### 2.3 AFLATOXINAS

En el principio de la década de 1960, ocurrieron en Gran Bretaña una progresión de eventos que llevaron al descubrimiento de las aflatoxinas. Miles de pavos, patos y otros animales domésticos, presentaron una muerte repentina a consecuencia de una enfermedad (conocida como "Enfermedad X de los pavos") que se vinculó a la presencia de toxinas en harina de maní importada de Sudamérica. Las toxinas fueron aisladas cuando la presentación del tumor de hígado en los animales de crianza ingleses y estadounidenses alcanzó niveles extraordinarios (Austwick, 1978; Berthiller *et al.*, 2014).

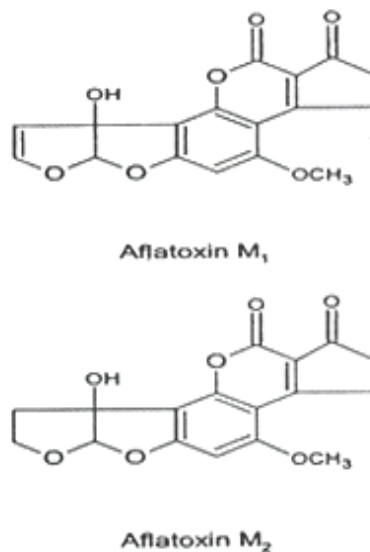
Se logró aislar una sustancia producto del crecimiento de un hongo que al ser suministrada a animales sanos produjo sintomatología compatible con la desconocida enfermedad "X", demostrándose que dicha sustancia había sido producida por una cepa de *Aspergillus flavus* de donde derivó su nombre: Aflatoxina (Figura 1 y 2). Sin embargo, también puede ser producida por *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium puberalis* y *Aspergillus oryzae* (Bolet y Socarrás, 2005; Requena *et al.*, 2005).

La estructura básica de las aflatoxinas consiste en un anillo dihidro-difurano o tetrahidro-difurano. Las aflatoxinas se sintetizan por la ruta metabólica de los policétidos mediante reacciones de condensación, oxidación, reducción, alquilación y halogenación (Hussein y Brasel, 2001).

Las aflatoxinas se forman por la condensación de acetil Coenzima-A y la manolil-Coenzima A, produciendo Acetil-S Coenzima A, molécula iniciadora de la AFB<sub>1</sub>, dentro de la ruta biosintética, la formación de la versicolorina A es particularmente relevante, ya que es la primer molécula en la vía de la AFB<sub>1</sub> (Hussein y Brasel, 2001).



**Figura 1.** Estructura química de las aflotoxinas B (AFB<sub>1</sub> y AFB<sub>2</sub>) y aflatoxinas G (AFG<sub>1</sub> y AFG<sub>2</sub>) (Hussein y Brasel, 2001)



**Figura 2.** Estructura química de aflotoxinas M (AFM<sub>1</sub> y AFM<sub>2</sub>) (Hussein y Brasel, 2001)

Las aflatoxinas son inodoras, insípidas e incoloras. Químicamente, estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo procedimientos de cocción normales. Es difícil eliminarlas una vez que se producen. Son potentes carcinógenos asociados a la etiología del cáncer de hígado en algunos países tropicales. La más tóxica de las aflatoxinas es la AFB,

denominada comúnmente B<sub>1</sub>. Se considera que es una de las sustancias con mayor poder mutágeno y cancerígeno, además de tóxica para la reproducción con actividad inmunodepresora (Solé *et al.*, 1992; Berthiller *et al.*, 2014).

Las aflatoxinas más importantes que se conocen son las B (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFB<sub>2a</sub>), y G (AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, AFG<sub>2a</sub>), denominadas así por la fluorescencia azul y verde respectivamente, M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub> aisladas de la leche, del cultivo de *A. flavus* y de los cacahuates enmohecidos, M<sub>1</sub>, ha sido clasificada por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2002), dentro del grupo 1, dadas sus características para producir cáncer en humanos, su distribución en la leche no es homogénea y se ha demostrado su alta afinidad por la proteínas, principalmente a la caseína (Solé *et al.*, 1992; Galvano *et al.*, 1996).

*Aspergillus flavus* puede proliferar a temperaturas de 10 a 43°C. Es imposible determinar una temperatura óptima para la producción de toxinas, se ha observado que es entre 20 y 30°C donde se producen el mayor número. Sin embargo, es considerablemente mayor a temperaturas significativamente más altas o significativamente más bajas (Cano *et al.*, 2010).

Las aflatoxinas se consideran altamente tóxicas y causan extensos daños en el hígado. Son inmunosupresoras e inhiben la síntesis de proteínas. Su impacto sobre la productividad y el bienestar animal es inminente. En los bovinos que consumen alimento contaminado existe oxidación de las aflatoxinas B, a través del metabolismo, a partir de esto, se forma la aflatoxina M<sub>1</sub>, y ésta afecta principalmente a la población infantil, influyendo significativamente en la disminución de su ritmo de crecimiento (Hernández *et al.*, 2009; Cano *et al.*, 2010).

Se ha demostrado que la presencia de M<sub>1</sub> en la leche materna de humanos y animales, ocurre de 12 a 24 horas posteriores a la ingestión de la toxina y su máximo nivel de excreción se prolonga hasta el cuarto o quinto día siguiente. La presencia de M<sub>1</sub>, en leche representa del 1 al 2% de la cantidad consumida de B<sub>1</sub> (EFSA, 2004; ELIKA, 2013).

La humedad contribuye al desarrollo de los hongos, particularmente el género *Aspergillus* requiere de una humedad relativa entre el 70 y 90%, y un

contenido de 15 a 20% de agua en la semilla para desarrollarse. Se demostró que los factores ambientales influyen en su aparición, siendo las zonas tropicales los lugares más idóneos para su formación. También pueden desarrollarse en zonas con clima más templado. Sin embargo, se ha comprobado la acción aislada de bacterias y hongos como *Corynebacterium rubrum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* y *Mucor ambigus* en la modificación de la estructura de la aflatoxina B<sub>1</sub> (Bolet y Socarrás, 2005).

La aflatoxina B<sub>2</sub> forma la aflatoxina M<sub>2</sub>. La letra M indica Milk (leche en inglés), indicando la vía de eliminación de estas micotoxinas (Polovinski-Horvatović *et al.*, 2009).

Las aflatoxinas son designadas como B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>. B<sub>1</sub> es la más tóxica y la de mayor hepatotoxicidad, es absorbida por el tracto gastrointestinal dentro del sistema portal sanguíneo, de allí es llevada al hígado en donde se fija al ADN, tanto nuclear como mitocondrial y se vuelve un modelo hepatocarcinógeno para mecanismos de inicio de tumoración en el hígado. Dicho proceso genera residuos que se movilizan sistemáticamente a huesos, tejidos comestibles y en huevo en el caso de las aves. Aflatoxicosis crónica origina neoplasias en varias especies, por lo general en hígado, en vesícula biliar, páncreas, aparato urinario y hueso. La AFB<sub>1</sub> también es un tóxico para la reproducción con actividad inmunodepresora (Tapia *et al.*, 2012; Berthiller *et al.*, 2014).

Aflatoxina es una toxina de distribución mundial, principalmente en climas templados, subtropicales y tropicales, pueden producirse antes y después de la cosecha, en numerosos ingredientes y ensilados (Mejía-Teniente *et al.*, 2011).

Las aflatoxinas en forma cristalina son bastante estables al calor, pero en la presencia de una temperatura elevada y humedad, se destruyen (Bolet y Socarrás, 2005).

Los niveles más altos de aflatoxinas se han encontrado en las semillas de algodón, maíz, cacahuate y nueces. Son innumerables los estudios que reportan al cacahuate como el mejor sustrato para su desarrollo. También podemos encontrarlas en menor presentación en trigo, arroz, centeno o cebada. (Mejía-Teniente *et al.*, 2011; De Araujo *et al.*, 2015).



Gimeno y Martins (2003), recomiendan seguir una secuencia en la recopilación de la información sobre la concentración de micotoxinas, para determinar los niveles de toxicidad por área, etapa productiva, especie, edad, peso vivo, año etc, y así poder tomar las decisiones más acertadas, disminuir la futura contaminación del alimento y el impacto en salud pública y animal. Las especies más afectadas por micotoxicosis a nivel mundial son las aves, cerdos, perros, conejos, ovinos, equinos y ganado bovino.

La luz solar juega un rol fundamental en la eliminación de aflatoxinas, se ha demostrado que una botella transparente con aceite de maní (cacahuate) expuesta al sol, puede quedar descontaminada en una hora. Este procedimiento puede seguirse de manera análoga en otros líquidos, sin embargo cuanto mayor sea el color oscuro de la sustancia, será más difícil de descontaminar (Bolet y Socarrás, 2005).

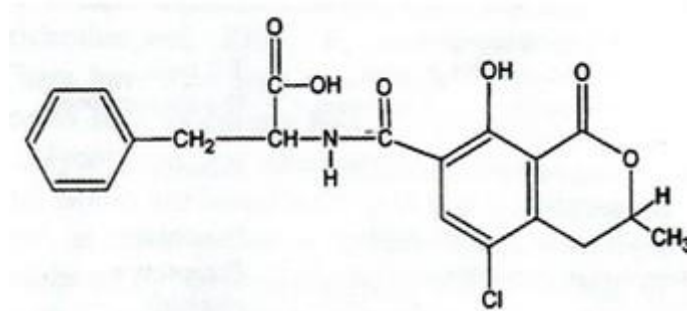
## **2.4 OCRATOXINAS**

Las ocratoxinas son metabolitos secundarios nefrotóxicos, producidos principalmente por cepas de *Penicillium* y *Aspergillus*, producen ácido oxálico y otros agentes nefrotóxicos que pueden generar daños tubulares y ocasionar signos y lesiones características de nefrosis tóxica tubular. Además, se han diagnosticado cambios en médula ósea, eritrocitos y endotelio vascular. Las lesiones más características son hemorragias difusas, hematomas, debilitamiento, anemia, leucopenia y aumento de la susceptibilidad a las infecciones (César, 2000; Perusia y Rodríguez, 2001).

El primer reporte que se tiene de ellas, fue de ocratoxina A procedente de una muestra de maíz en los Estados Unidos de América (Bolet y Socarrás, 2005).

Se encontró en análisis realizados en el Laboratorio de Toxicología de la Universidad Nacional de Colombia niveles de casi 200 µg/kg de Ocratoxina A (OTA) en muestras de café verde tipo pasilla y niveles de hasta casi 20 µg/kg en muestras de café soluble (instantáneo). Incluso se ha determinado su presencia en cereales, especias, riñón de cerdo, vinos y distintos alimentos de origen animal (Prado, 2000; Bellí *et al.*, 2005; Lepe, 2007).

Las ocratoxinas son 7 amidas isocumarinas de  $\beta$ -fenilalanina. Se designan como A, B, C, y D, siendo la más peligrosa del tipo A (Figura 3) (Bolet y Socarrás, 2005).



**Figura 3.** Estructura química de ocratoxina A (Hussein y Brasel, 2001)

La ocratoxina A junto con otras micotoxinas nefrotóxicas fue implicada en una nefropatía endémica que afectó a miles de personas a mediados de la década de 1920 en Europa del Este, conocida como enfermedad de los Balcanes. En las aves se caracteriza por la producción de esclerosis renal y periportal, enteritis, supresión de la hematopoyesis de la médula ósea (Requena *et al.*, 2005).

En cánidos, la ocratoxina A causa anorexia, pérdida de peso, vómito, conjuntivitis y necrosis renal, entre otras afecciones. En rumiantes es rápidamente degradada en el rumen, pasando de ocratoxina A a ocratoxina alfa, por lo tanto, las consecuencias negativas no son importantes, a menos que sean consumidas por prerumiantes. La detección en Europa de la presencia de Ocratoxina A en productos de cerdo vendidos en establecimientos minoristas y en sangre de cerdo ha demostrado que esta toxina puede pasar de los alimentos a los productos de origen animal (Requena *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2006).

La ocratoxina A es inmunosupresora y afecta riñón e hígado. Se ubican entre las micotoxinas más tóxicas para las aves. Es la más común y tóxica, y es relativamente estable. Se desarrolla con rapidez en los alimentos para aves en condiciones de alta humedad y temperatura (Requena *et al.*, 2005).

## 2.5 FUMONISINAS Y ZEARALENONAS

*Fusarium* es un género de moho aerobio que forma parte de la flora de campo. Este moho vegeta entre 6 y 40° C con un óptimo entre 18 y 30° C. Crece a 6 y 40° C con un óptimo de 18 y 30° C (Carrillo, 2003; Ortiz *et al.*, 2006).

*Fusarium* produce toxinas las cuales pueden llegar a provocar gangrena seca de las extremidades, punta de las orejas y de la cola, irritación directa con efectos dermonecroticos con ulceración y necrosis oral. Las hemorragias gastroentéricas son signos característicos (César, 2000; Perusia y Rodríguez, 2001).

Dentro de las alteraciones reproductivas y endocrinas, se han reportado casos de hiperestrogenismo, principalmente en porcinos, descenso de la fertilidad y libido, mortalidad embrionaria, lechones mortinatos, abortos, menor número de lechones nacidos vivos, vulvovaginitis, hipertrofia vulvar partos prematuros y prolapsos (César, 2000; Perusia y Rodríguez, 2001).

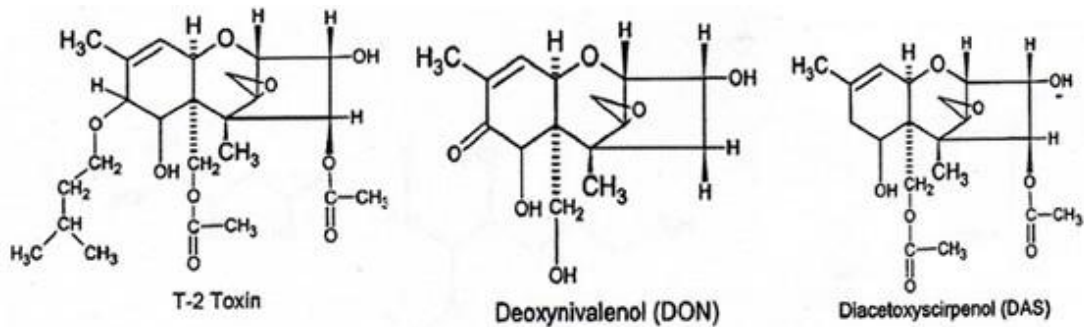
Los hongos *Penicillium* y *Claviceps* a través de sus toxinas producen efectos agudos en el Sistema Nervioso Central (Perusia y Rodríguez, 2001; Arellano, 2003).

Las micotoxinas de *Fusarium* son de distribución mundial y se pueden clasificar en:

1. Tricotecenos estrogénicos, o micoestrógenos, siendo las más importantes la Zearalenona (ZEN) y el Zearalenol.
2. Tricotecenos no estrogénicos incluyendo a: Vomitoxina o Deoxinivalenol (DON), fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>), toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS), monoacetoxiscirpenol (MAS), triacetoxiscirpenol (TAS) y escirpentriol (STO) (Figura 4) (Carrillo, 2003).

La zearalenona es una micotoxina natural estrogénica, particularmente importante en hembras porcinas jóvenes en las cuales ocasiona una micotoxicosis conocida como "vulvovaginitis porcina". En hembras porcinas adultas puede causar desaparición de calores y pseudo-preñez en hembras no gestantes, así como disminución en el número de lechones por camada

en el caso de hembras preñadas (adicionalmente los lechones nacen débiles y con problemas locomotores). Al igual que otras micotoxinas es resistente a altas temperaturas (Ortiz *et al.*, 2006).



**Figura 4.** Estructura química de los tricotecenos toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS), y deoxinivalenol (DON) (Hussein y Brasel, 2001)

En humanos no se han reportado efectos adversos debidos a la zearalenona, pero no se deben descartar, ya que todas las hembras de mamíferos estudiadas hasta el momento han demostrado ser susceptibles (ratas, ratonas, conejas). Adicionalmente, estudios *in vitro* de unión de zearalenona a receptores para estrógenos en citosol indican que los humanos tienen una sensibilidad a la zearalenona similar a la de los cerdos (Requena *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2006).

El consumo de maíz contaminado con *Fusarium* se asocia a efectos estrogénicos en ganado y aves de corral tal como prolapso de cloaca en pavos y deterioro de la fertilidad en vacas e hiperestrogenicidad en cerdas. El último desorden ha sido llamado “el Síndrome de grano fatal”. La contaminación exacta por micotoxinas estrogénicas en alimentos para humanos no es bien conocida pero se estima en 3 µg/persona/día en USA (Chichizola, 2003).

Las fumonisinas que son producidas por *Fusarium moniliforme*, son de 6 tipos, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> (Figura 5). Sin embargo, las que suelen encontrarse con más frecuencia y su importancia toxicológica es mayor, son la fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) y la B<sub>2</sub>. La FB<sub>1</sub> y FB<sub>2</sub>. Son contaminantes naturales, en cereales, preferentemente en maíz y sus subproductos. En los porcinos dan lugar a edema pulmonar como condición letal subaguda. Se han reportado casos de necrosis pancreática y daño hepático, observados

después de un lapso promedio de 4 días postcontaminación (Lesson *et al.*, 1995).



**Figura 5.** Estructura química de Zearalenona (ZEN) (Hussein y Brasel, 2001).

Se desintoxica mediante métodos naturales, físicos y químicos. Los más utilizados son los que no crean problemas de residuos, no destruyen ni las vitaminas y las proteínas, no producen reacciones parciales, no crean metabolitos tóxicos y su costo no es elevado, su efectividad se designará mediante la aplicación y evaluación del método más efectivo para cada situación y unidad de producción animal (Bolet y Socarrás, 2005).

El método físico explica que cuando existe la presencia de micotoxinas, se deben observar granos descoloridos o ajenos a su color natural. Otro método que tiene aplicación práctica es la inmersión de los granos en agua y posterior separación de los granos sobrenadantes (Bolet y Socarrás, 2005).

## **2.6 EFECTO DE LAS MICOTOXINAS A NIVEL CELULAR**

Son muy complejos y variables los procesos que las micotoxinas realizan a nivel celular, pueden ser agudos o crónicos y afectar infinidad de órganos en las distintas especies. Es importante realizar el diagnóstico meticuloso debido a que los efectos tóxicos con bajas concentraciones de toxinas pueden tardar varias semanas o meses en presentarse (Bolet y Socarrás, 2005).

La presencia de *aflatoxina* en el alimento, se comporta como un inmunosupresor, inhibe la fagocitosis y suprime el mensaje para la síntesis de proteínas, mediante alteraciones en la ARN polimerasa en su fase de translación y alteración del patrón del ADN. La *aflatoxina* B<sub>1</sub> se relaciona

estadísticamente en diferentes países con el desarrollo del carcinoma hepatocelular, su absorción se lleva a cabo en el intestino delgado, posteriormente pasa a la sangre en donde los glóbulos rojos y proteínas del plasma la transportan hasta el hígado, su mecanismo de acción tóxico involucra la formación de ligandos entre uno de sus metabolitos y el ADN de los hepatocitos, producido en el hígado luego de la ingestión de la toxina, causando alteraciones en su replicación, inhibiendo la síntesis de ADN y ARN, la mitosis y la producción de alteraciones cromosómicas (Duarte y Jiménez, 2006).

Las aflatoxinas son mutagénicas, poseen gran afinidad con las proteínas y ácidos nucleicos y se unen a ellos mediante enlaces covalentes, los que ocasionan disrupción en la transcripción y traducción y generan la formación de un aducto llamado aflatoxina B<sub>1</sub>-guanina y peroxidación de lípidos (Vega, 2011).

El carcinoma hepatocelular es una de las causas de muerte más comunes por cáncer en especial en las regiones de Asia y África, organizándose estudios epidemiológicos que buscan correlacionar la presentación del carcinoma con el consumo de *aflatoxinas* y la interacción de estas enfermedades con otras enfermedades hepáticas (Duarte-Vogel y Villamil-Jiménez, 2006).

La *aflatoxina* al ser absorbida es transportada por los glóbulos rojos y las proteínas plasmáticas hasta el hígado vía portal, donde es metabolizada por las enzimas oxidasas que las biotransforman en metabolitos, algunos altamente reactivos que tienen la capacidad de unirse covalentemente con centros nucleofílicos de macromoléculas celulares como el ADN, ARN, y proteínas (Bolet y Socarrás., 2005).

En toxinas como la T-2, las alteraciones en el ADN y ARN afectan la síntesis de proteínas. Esto sucede a través de la unión de la toxina con peptidil transferasa, parte integral de 60S del ribosoma. Los tricotecenos perjudican a varios órganos específicos, causan daños característicos de gran variabilidad, la inmunosupresión, la neurotoxicidad y la disminución de la absorción de los nutrientes, son consecuencias de ello (Duarte y Jiménez, 2006).

Las micotoxinas estimulan la oxidación de los lípidos en el tejido, principalmente por acción de *Ocratoxina A*, *Toxina T-2*, *Aflatoxinas*, *Fumonisin*as, *DON*, *Zearalenona*, entre otras (Duarte y Jiménez, 2006).

Ocratoxina A usa como mecanismo primario de toxicidad la inhibición de la síntesis de proteínas, a través de la inhibición competitiva de la fenilalanina tARNP<sub>he</sub> sintetasa, detiene la elongación del péptido. Tiene alta afinidad por las proteínas plasmáticas, lo que determina su alta persistencia en el organismo. Además, está relacionada con nefropatías endémicas de los Balcanes y la nefropatía porcina (Bolet y Socarrás, 2005).

La inhalación de material contaminado tiene como consecuencia su transporte al tejido superficial alveolar donde en el caso de los tricotecenos, puede interferir en la normalidad de la respuesta inmune e interferir en la eliminación normal de partículas por acción de los macrófagos. Puede producirse, además, un incremento de las infecciones por bacterias oportunistas (Solé *et al.*, 1999).

La presencia de cáncer esofágico en humanos, leucoencefalomalacia en equinos y edema pulmonar en porcinos, se asocia con consumo de fumonisinas. Su mecanismo de acción implica la inhibición de la enzima ceramida sintetasa, generando un acumulo de las bases esfingiodes y una disminución de los esfingolipidos complejos (Duarte y Jiménez, 2006).

Zearalenona, una micotoxina de distribución mundial, tiene la capacidad para unirse a los receptores del 17-Beta estradiol, y competir con los estrógenos por receptores citosólicos de las células de los órganos blanco. Se une a éstos comportándose como disruptor endocrino. Actúa ligando a los receptores estrogénicos en varios tejidos, como útero, glándula mamaria, hígado e hipotálamo. Su presencia en humanos se ha relacionado con pubertad precoz en niñas y aumento del tamaño de los órganos reproductores en niños (Duarte y Jiménez, 2006).

## **2.7 SITUACIÓN MUNDIAL DE CONTAMINACIÓN POR MICOTOXINAS**

Actualmente las micotoxinas se han posicionado como uno de los problemas de mayor controversia a nivel mundial, a pesar de que se han intentado establecer algunos programas para su control, las estadísticas demuestran que la contaminación no ha disminuido, por el contrario se

siguen observando porcentajes que superan de manera significativa los límites permitidos en el consumo de alimentos (Van Egmond *et al.*, 2007).

Los datos generados por el Sistema Mundial de Vigilancia FAO/OMS/PNUMA -Programa de Vigilancia y Evaluación de la Contaminación de los Alimentos por micotoxinas, indican que las micotoxinas son un problema muy difundido en los suministros alimentarios en casi todos los países. Las investigaciones sobre la presencia de aflatoxinas en productos muy expuestos, como el maíz y el cacahuate, siguen constituyendo una parte importante de los programas de supervisión en diversas zonas del mundo. En diversos países se están utilizando muchos de los datos sobre la contaminación por aflatoxinas de estos productos para estimar los niveles de exposición (Akesson *et al.*, 2012).

En el decenio posterior a su descubrimiento, las fumonisinas producidas por *Fusarium moniliforme* han sido objeto de una atención considerable, debido a sus diversos efectos toxicológicos, entre ellos neurotoxicidad, toxicidad pulmonar y cáncer de hígado, sobre diferentes especies animales, sin embargo en México, aún no son objeto de especial atención (Bhat y Vasanthi, 1999).

En la India se observaron niveles de fumonisina más altos en maíz y sorgo dañados por las lluvias que en los productos comerciales. El consumo de cereales dañados por las lluvias y contaminados por fumonisinas dio origen a un brote en regiones del sur de la India (Bhat y Vasanthi, 1999; Abdulkadar, 2004).

Los niveles en el maíz de exportación de Argentina, China y Sudáfrica tuvieron como media de <3000 µg/kg de fumonisina B<sub>1</sub>. Los niveles de fumonisinas en las exportaciones de los Estados Unidos a Sudáfrica y Japón fueron considerablemente superiores, observándose en los lotes enviados a Sudáfrica medias de hasta 2350 µg de fumonisina B<sub>1</sub> y en algunas muestras niveles de 7600 µg. Niveles tan altos de fumonisinas en el maíz de exportación tienen amplias repercusiones económicas, especialmente si los países importadores optan por regular los niveles de las fumonisinas presentes en el maíz que llega a sus mercados (Akesson *et al.*, 2012).

En las regiones más frías se ha notificado la presencia de toxinas *Fusarium* en cereales, en particular maíz, trigo y cebada. Entre éstos, se han



comunicado casos de tricotecenos, zearalenona y, recientemente, fumonisinas, en diversas regiones de Europa, América y Asia. Encuestas realizadas en regiones de Europa y Asia sudoriental revelaron que, entre los tricotecenos, el desoxinivalanol es la toxina que se encuentra con mayor frecuencia. Entre los cereales, se observó que la cebada presenta incidencia alta de micotoxinas, especialmente en Corea. La zearalenona era la toxina asociada con mayor frecuencia al trigo. Un estudio sobre la presencia de la toxina moniliformina en muestras de cereales procedentes de todo el mundo reveló niveles altos en maíz de Gambia y Sudáfrica y en cereales de Polonia dañados por mohos (Torres, 2013).

Pereyra y Dill (2010), examinaron granos provenientes de cinco cultivos de trigo y cinco de cebada, de distintas localidades en Uruguay, con el fin de determinar la presencia de especies de *Fusarium graminearum*. Fue comprobada la presencia común de *F. avenaceum*, *F. culmorum* y *F. poae* en granos de trigo, mientras que *F. equiseti*, *F. acuminatum* y *F. trincictum* fueron aisladas en granos de cebada.

El maíz parece ser un substrato común para la presencia natural de gran cantidad de micotoxinas. Estudios sobre multimicotoxinas han revelado la presencia de fumonisinas junto con aflatoxina, ocratoxina, tricotecenos y zearalenona, en el maíz antes de la cosecha. Se observó la presencia de fumonisinas en un envío de maíz de Sudáfrica exportado a Taiwán. También se observó la presencia de aflatoxina junto con ocratoxina, zearalenona, tricotecenos, esterigmatocistina y citrinina en maíz, mijo perla, higos secos y especias (Akesson *et al.*, 2012).

Siguen aumentando los casos registrados de presencia natural de ocratoxina en cereales y sus productos, frijoles, cebada, malta, alimentos terminados destinados al consumo animal, salchichas y riñones de cerdo. La ocratoxina A sigue suscitando gran preocupación, especialmente en Europa oriental, donde su ingestión está asociada con enfermedades renales crónicas como la nefropatía endémica de los Balcanes (FAO, 2009).

En lo que concierne al comercio, la contaminación por ocratoxina A ha sido motivo de preocupación en relación con su presencia en el café. Las exportaciones de café de los países productores se han visto perjudicadas por la presencia de ocratoxina A. Los niveles de ocratoxina A notificados en

café verdes, tostados y solubles de diferentes países varían considerablemente, lo que evidencia el problema de la distribución heterogénea de la contaminación en los granos de café, así como la sensibilidad de los diversos métodos de análisis empleados. Se ha señalado la presencia insólita de ocratoxina A en higos, albaricoques, ciruelas, coco y pescado desecado mohoso en Egipto y Sierra Leona (Bhat y Vasanthi, 1999; Pradro et al., 2000).

Un resumen de datos recogidos en todo el mundo desde 1980 sobre la presencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche humana y animal, el queso y otros productos lácteos indicó que los niveles de contaminación no parecían constituir un grave peligro para la salud; sin embargo, fue la pauta que definiría las primeras estrategias para diseñar los futuros programas de vigilancia que hoy día siguen siendo la estrategia fundamental para proteger a los consumidores (Lubulwa *et al.*, 1994).

En España algunos de los productos más consumidos son, el queso, la leche y el yogurt. Se han realizado investigaciones en las cuales se obtienen muestras representativas de estos productos en tiendas y supermercados, en el 2010 un grupo de investigadores en Cataluña, España, se dio a la tarea de analizar 72 muestras representativas de leche, queso y yogurt. Los resultados fueron sorprendentes ya que se encontró una elevada presencia de Aflatoxina M<sub>1</sub> en 68 de las 72 muestras analizadas de leche, dos muestras de yogurt contaminadas y afortunadamente no hubo presencia en quesos. Todo esto como consecuencia de la inadecuada elaboración a partir de leche contaminada, expertos e investigadores afirman que detener la presencia de contaminantes en los alimentos, es un trabajo de todos y que es un problema alarmante para la salud pública (Cano *et al.*, 2010).

Según estimaciones de la FAO, la presencia de las micotoxinas en los cereales para consumo humano y animal en Asia es considerable. El volumen en toneladas métricas de los cereales alimenticios afectados por micotoxinas se ha estimado en las cantidades siguientes: cacahuete, 1,849; maíz, 16,042; anacardos y nueces, 769; copra, 3,723; trigo y cebada, 123; arroz, 12,010; sorgo y mijo, 378; y soya 2,296 (FAO. 2009).

El costo directo de las aflatoxinas en Tailandia, Indonesia y Filipinas debido a los efectos de *Aspergillus flavus* y de la contaminación por aflatoxinas del maíz y el cacahuate se ha cifrado en más de 470 millones de dólares australianos al año. El maíz fue el producto más importante, con un costo del 66% del importe total. El 48% por del costo estimado correspondió a Indonesia, que fue el país más afectado. Las pérdidas derivadas del deterioro ascendieron al 24% (108 millones de dólares australianos) al año (Bhat y Vasanthi, 1999; Palacios *et al.*, 2014).

En países de Asia (Tailandia, Indonesia y Filipinas), concluyendo que alrededor del 66% de las pérdidas totales son en consecuencia a la contaminación del maíz (Lubulwa *et al.*, 1994).

La exposición de animales de granja a micotoxinas por conducto de los alimentos, ha dado lugar en otras ocasiones a brotes locales. Los animales de granja más afectados por las micotoxinas son las aves de corral, el ganado porcino, las vacas lecheras y los caballos (Torres, 2013).

La mayor parte de los problemas en animales en granjas de Colombia son asociados a aflatoxinas, fumonisinas y zearalenona, y en menor proporción por ocratoxina. Pueden registrarse pérdidas en la producción aún con bajos niveles de exposición de los alimentos a las micotoxinas. Una combinación de micotoxinas puede ocasionar pérdidas mayores en la producción que cada una de esas micotoxinas por separado (Serrano, 2015).

Se han asociado a ellas pérdidas económicas a título de reducción de la productividad, como por ejemplo, descenso de la producción de huevos, efectos reproductivos, y vulnerabilidad a infecciones que ocasionan un aumento de la morbilidad y por último de la mortalidad, incluso pueden producirse pérdidas a causa de los residuos de micotoxinas en la leche, los huevos, la carne, etc. (Serrano, 2015).

Un estudio sobre un brote de aflatoxicosis en la India que afectó a 11,465 gallinas ponedoras y 5 000 pollitas en una granja avícola reveló que una exposición de las aves durante 18 días a alimentos contaminados que contenían 600 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub>, aportada principalmente por tortas de cacahuate, había ocasionado unas pérdidas del 10% aproximadamente de la inversión inicial. La principal causa de las pérdidas fue el descenso de la

producción de huevos, seguida de la mortalidad de aves y del aumento de los gastos en fuentes de proteínas. El resto correspondió a gastos médicos y de otro tipo (Akesson *et al.*, 2012).

En la India se produjo un brote de micotoxicosis que afectó a 9,700 gallinas ponedoras y ocasionó una mortalidad del 10% y una reducción del 20% de la producción de huevos, debido a la contaminación de alimentos destinados al consumo animal contaminados con fumonisinas. Los análisis indicaron niveles de fumonisinas superiores a 8,500 µg/kg y de aflatoxina B<sub>1</sub> superiores a 100 µg/kg. Dos epizootias frecuentemente asociadas con fumonisinas son la leucoencefalomalacia equina y el edema pulmonar de los porcinos. Niveles de fumonisina B<sub>1</sub> de < 1 a 160 µg/g se han asociado con brotes de leucoencefalomalacia equina y de < 1 a 330 µg/g con brotes de edema pulmonar de los porcinos, respectivamente (Torres, 2013).

En Italia, se declaró un brote de micotoxicosis por zearalenona en ganado porcino, La concentración de zearalenona en el alimento varió entre 3 y 23.4 µg/g. En Nueva Zelanda, la zearalenona y los tricotecenos presentes en los pastos se han asociado con problemas reproductivos en ovinos y vacunos (Van Egmond *et al.*, 2007).

En Australia occidental se detectó una nueva micotoxicosis mortal, a la que se dio el nombre de ceguera del suelo negro, en bovinos alimentados con gramíneas (*Astrelba spp*) infectadas por corallo-citostroma, de los cuales más de 500 bovinos murieron como resultado de este brote (Akesson *et al.*, 2012).

En Sudáfrica, se han llevado a cabo estimaciones relativas a las micotoxicosis del ganado. Son miles las muertes anuales debidas a envenenamiento por plantas o micotoxinas (Van Egmond *et al.*, 2007).

En Argentina, se han publicado importantes estudios sobre la contaminación de los productos por micotoxinas, los cuales han ocasionado importantes problemas económicos y comerciales en casi todas las fases de comercialización desde el productor hasta el consumidor. Se han encontrado hongos de la especie *Fusarium* en cultivos de soja (especies de hongos de *Fusarium equiseti* presentaron mayor presencia en vainas y semillas). Estudios y estadísticas disponibles afirman que el almacenaje de los cultivos antecesores, representa una importante fuente de contaminación para los

alimentos nuevos, debido a que la mayoría de los productores siguen afiliados a teorías conservacionistas de los alimentos, en las que se dejan abundantes desechos de los cultivos anteriores en campo y almacenes. Las pérdidas por contaminación se estiman en millones de dólares (Chiotta, 2015).

Las pérdidas anuales en las industrias forrajeras y ganaderas en Estados Unidos de Norte América y Canadá por motivo de la contaminación con micotoxinas se estiman en aproximadamente millones de dólares EE.UU por año (Akeson *et al.*, 2012).

Mundialmente se ha hablado sobre la presencia de micotoxinas en el sorgo, principalmente en doce países: Australia, Brasil, Colombia, Etiopía, La India, Japón, Nigeria, Sudáfrica, Sudán, Túnez, Uganda y en los Estados Unidos de América, detectándose al menos nueve tipos diferentes de micotoxinas (FAO/OMS, 2011).

En muchos países el sorgo no es sólo utilizado en la alimentación de los animales, además se usa en la elaboración de productos como galletas, pan, bebidas, entre otros. Se estima que en algunos años el número de productos elaborados a base de sorgo y el riesgo por consumir un producto contaminado aumenten (FAO/OMS, 2011).

La necesidad actual de tener más y mejores manuales específicos de control es muy importante. La evaluación cuantitativa de las micotoxinas es bastante difícil y las organizaciones mundiales encargadas de regularlas insisten en que la mejor manera de hacer frente a esto es basarse en la aplicación de los métodos de análisis aprobados, ya que son los que nos generan datos reales y válidos (Van Egmond *et al.*, 2007).

Hasta el final de la década de 1990, el problema fue considerado de índole nacional, sin embargo, organizaciones internacionales como FAO (Food and Agriculture Organization) y EFSA (European Food Safety Authority), entre otras, se han ido sumando en la lucha por detener la contaminación del alimento y generar nuevos y mejores métodos para la rápida identificación de las micotoxinas (Bhatnagar *et al.*, 2008).

Sin embargo, las organizaciones internacionales han tenido que enfrentarse a situaciones difíciles, como la falta de información toxicológica y de exposición de las micotoxinas, el desconocimiento de la distribución de

las concentraciones en las mercancías y en la mayoría de los productos, la poca disponibilidad de métodos de análisis, falta de legislación en la mayoría de las ciudades y países, y la interferencia con los tratados de libre comercio (Cano *et al.*, 2010).

A partir de la primera década del siglo XXI, los rigurosos límites reglamentarios impuestos por algunos países importadores han afectado a las exportaciones de productos agrícolas. Esto con motivo de garantizar la calidad e inocuidad de los productos. La FAO ha implementado estas medidas para garantizar la higiene y seguridad alimentaria. Son productores y exportadores de cacahuete, nueces, semilla de algodón, cereales, fruta, trigo, maíz, etc., los que se han visto más afectados, ya que se les exige que sus productos cumplan con la legislación reglamentaria correspondiente, relacionadas a las actividades en las que su producto se desarrolla, desde la producción, transformación y distribución (Luque, 2015).

En el Proyecto MycoGlobe (Integración de micotoxinas e investigación de los hongos para la seguridad alimentaria en el sistema global), se recomienda intensificar las campañas de sensibilización dirigidas a las partes interesadas, sobre todo a aquellas partes que están relacionadas con la formulación de políticas en materia de seguridad de los alimentos, donde se dé a conocer los riesgos que las micotoxinas tienen hacia la salud pública y las estrategias que existen para su mitigación (Bhatnagar *et al.*, 2008).

## **2.8 SITUACIÓN DE LAS MICOTOXINAS EN MÉXICO**

En México, desafortunadamente, se cuenta con muy poca información y control necesarios en cuanto a micotoxinas en alimentos. La normatividad con respecto al tema es mínima, sólo se cuenta con la de aflatoxinas en cereales (Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias) y se excluyen a otras micotoxinas (Padrón *et al.*, 2013).

Se han considerado varias medidas para intentar reducir la contaminación, por ejemplo el implemento de cultivo de maíz híbrido, control de la población de insectos, uso de productos naturales y modificación de los procesos de nixtamalización y extracción (García y Heredia, 2006).

El maíz es el cultivo más importante de México de acuerdo con la superficie cultivada anualmente y su consumo per cápita es de 160 g en forma de tortillas principalmente. Dentro de los factores que afectan a la integridad de los granos los hongos juegan un rol de gran importancia, principalmente el género *Aspergillus*, especies *A. flavus* y *A. parasiticus*, son las más importantes porque producen aflatoxinas (Padrón *et al.*, 2013).

En México, las condiciones de climas tropicales y subtropicales, principalmente en el noroeste del país favorecen las infecciones por hongos tóxicos, por ello debe de continuarse el diagnóstico y la evaluación oportuna de los daños por hongos y plagas, identificar las asociaciones que existen entre los diferentes tipos de micotoxinas y generar paquetes tecnológicos que permitan paulatinamente reducir o inhibir por completo a los hongos (Resnik *et al.*, 1995; Padrón *et al.*, 2013).

Otro nicho de oportunidad se basa en el desarrollo de investigación básica y aplicada de micotoxinas en México, pues es escaso el estudio a nivel genético-molecular en cepas mexicanas de hongos. Escasamente se sabe del análisis a nivel genético, de la estructura genética de poblaciones, distribución de morfotipos, interacciones morfotipos-genotipos de maíz, etc. No se han llevado a cabo estudios consistentes relativos a la genómica funcional de los componentes y de su interacción, bajo condiciones ambientales particulares como estrés por sequía y/o altas temperaturas, lo que se agrupa en el mecanismo denominado 'quorum-sensing' y el 'complejo Velvet' y sus implicaciones en las rutas del metabolismo secundario (Mejía-Teniente *et al.*, 2011).

A pesar de que México es el país que da origen a una gran diversidad del maíz, no se han analizado cepas de maíz que sean más resistentes a las aflatoxinas. El maíz es un alimento de importancia mundial y es necesario su monitoreo en cuanto a la calidad sanitaria, desde el uso de semillas sanas, hasta la salud del cultivo en cada una de las etapas de su producción (Padrón *et al.*, 2013).

## 2.9 MICOTOXINAS Y SALUD PÚBLICA

Las micotoxinas son consideradas un riesgo para la salud pública a través de los diferentes mecanismos de acción patogénicos que tienen las toxinas (Fokunang *et al.*, 2006).

Este impacto es de manera indirecta, a través de huevo, leche, carne y otros tejidos comestibles. Dentro de los principales factores que aumentan o disminuyen el riesgo en el ser humano y animal de ser afectado por micotoxicosis se encuentran la biodisponibilidad, toxicidad, sinergismo fúngico, cantidad y concentración de la micotoxina, el peso del individuo, estado fisiológico y nutricional del individuo, salud y edad (Campabadal, 1993; Gimeno, 2014).

Son múltiples las lesiones observadas que se han encontrado en casos de micotoxicosis agudas y crónicas, además de los efectos carcinogénicos, teratogénicos y mutagénicos, podemos encontrar otras alteraciones en el orden de crecimiento y desarrollo de niños, efectos adversos en la reproducción, disminución de la actividad de algunas hormonas que compiten con los receptores de estradiol en el útero (caso de aflatoxina M<sub>1</sub>), alteraciones de la glucólisis y gluconeogénesis e incluso puede llegar a ocurrir una muerte súbita por intoxicación en casos muy severos (Vásquez, 2006; Malla y Saula, 2016).

También se ha estudiado la exposición de los granjeros y otros trabajadores agrícolas a las aflatoxinas mediante su determinación en ambiente. Se tomaron muestras durante el proceso de varias operaciones agrícolas con maíz contaminado: recolección, traslado con cintas transportadoras, almacenamiento, etc. Se recogieron muestras de polvo, sobre filtros de fibra de vidrio, con un muestreador Andersen de alto volumen. Los resultados obtenidos demostraron la existencia de un potencial peligro de inhalación de las aflatoxinas contenidas en el polvo. Dada su elevada toxicidad y carcinogenicidad, sobradamente demostrada en estudios con animales, se sugirieron medidas de protección a los trabajadores expuestos (Solé *et al.*, 1992; Campabadal, 1993).

Aunque las propiedades alergénicas de los hongos son ampliamente conocidas, el primer trabajo sobre trastornos de salud de este tipo por inhalación de toxinas fúngicas (tricotecenos) en un lugar de trabajo no



industrial, no aparece hasta 1988 en un hospital de Quebec. El personal expuesto presentaba síntomas de gran fatiga que después de los análisis pertinentes se atribuyó a la presencia de tricotecenos en esporas de *Stachybotrys atra* y *Trichoderma viride*. A estos síntomas se les denominó "síndrome de fatiga crónica". Este síndrome se estudió entre los empleados de una escuela superior y ha sido la causa también de enfermedades en trabajadores de oficina, con efectos de naturaleza alérgica (Solé *et al.*, 1992; Campabadal, 1993).

En lo que se refiere a las dosis mínimas con efectos tóxicos, estas varían según las micotoxinas, la especie animal y la vía de administración. Algunos tricotecenos (producidos por *Fusarium*, *Acremonium*, *Myrotheciurn*, *Stachybotrys*, y *Trichoderma*) presentan LD<sub>50</sub> por ingestión inferiores a 1 mg/Kg. La exposición vía inhalatoria en ratones, ratas, cerdos y cobayas de la toxina T-2 (el tricoteceno producido por *Fusarium*) presenta una toxicidad de 2 a más de 20 veces mayor en comparación con la administración por vía intravenosa. Incluso se han descrito los efectos crónicos (cáncer) relacionados por exposición a aflatoxinas por vía digestiva a dosis del orden de 2 µg/Kg, considerándose que en caso de inhalación, los efectos tóxicos se verían claramente aumentados (Solé *et al.*, 1992).

En el caso específico de aflatoxina M<sub>1</sub>, se desconoce cómo es el proceso de detoxificación en humanos, pero se sabe que, el índice de cáncer de hígado en roedores, es originado por un mecanismo similar al de la AFB<sub>1</sub>, es oxidada por las oxigenasas de la función mixta del CYP450 del hígado, oxidación que origina el reactivo 8,9-epóxido que ataca los residuos de guanina de la doble hélice de ADN (Soriano, 2007).

## **2.10 PREVENCIÓN, CONTROL Y TRATAMIENTO DE MICOTOXINAS**

El Comité Mixto Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO) / Organización Mundial de la Salud (OMS) de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) quienes han analizado las micotoxinas por diversos años, estiman que la presencia de hongos y micotoxinas pueden reducirse mediante la aplicación de diversas medidas preventivas, tanto antes como después de la cosecha, como por ejemplo, medidas adecuadas

contra plagas y enfermedades, y buenas prácticas de cosecha, secado y almacenamiento (Requena *et al.*, 2005).

Una manera para enfrentar los riesgos asociados con la contaminación por micotoxinas consiste en utilizar un sistema integrado de prevención y control. Se ha demostrado la utilidad de los programas de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC), dirigidos a los riesgos asociados con posible contaminación de los productos alimenticios y sustancias químicas tóxicas (Requena *et al.*, 2005; Tapia *et al.*, 2012).

El sistema de APPCC identifica, evalúa y controla los riesgos importantes para la inocuidad de los alimentos. Se trata de un enfoque estructurado y sistemático para controlar la inocuidad de los alimentos, dando seguimiento al sistema del producto en su totalidad, desde su producción en campo hasta su consumo en mesa. Se requiere un oportuno conocimiento de la relación entre causa y efecto, con objeto de actuar de forma más dinámica y proteger la calidad del producto. El sistema de APPCC se basa en solidez de sistemas de gestión de calidad, Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), Buenas Prácticas de Higiene (BPH), buenas prácticas agrícolas (BPA) y Buenas Prácticas de Almacenamiento (BPAL) (FAO, 2009).

A pesar de que durante siglos se han conocido los efectos perjudiciales de las micotoxinas, sólo en las últimas tres décadas se ha tomado conciencia de la repercusión exacta que este problema tiene para la salud y la economía (Hernández *et al.*, 2009, Tapia *et al.*, 2010).

La promoción del entendimiento de los productos anti fúngicos es muy importante. Existen tratamientos físicos, biológicos y químicos, estos decrecen la presencia de micotoxinas o las transforman en metabolitos de menor toxicidad (Roig, 2013).

Uno de estos productos es el cloruro de benzalconio (Dilución 1:20), es bactericida, fungicida y virucida (Roig, 2013).

El ácido paracético, es un desinfectante rápido de acción directa no espumante, es un producto puro altamente oxidante, al utilizarlo debemos evitar el contacto con ojos y piel. También se utilizan sustancias con un principio activo de polihexametilen biguadina o poliaminopropil biguadina, que son muy eficaces frente a las bacterias vegetativas y frente a hongos, es

de baja toxicidad y no es corrosivo para metales, plásticos, gomas, maderas etc (Hernández *et al.*, 2009, Tapia *et al.*, 2010).

Todos los productos deben de ser usados bajo estrictas medidas de seguridad y siguiendo un protocolo establecido para cada área. Se recomienda emplear en todas las áreas que se demuestre, mediante muestreo y determinación de la concentración de contaminación, sea potencialmente necesario ser aplicado, se recomienda principalmente en el sector de transformación, manejo y almacenaje de los alimentos. Se aplica usando guantes profesionales de nitrilo y descartables de uso médico, guantes de algodón, bata de manga larga, cubre bocas y cofia (Hernández *et al.*, 2009, Tapia *et al.*, 2010).

En avicultura, como en otras cadenas agroalimentarias, se han propuesto diversas estrategias para lograr contrarrestar los efectos de estos indeseados metabolitos. Entre estas destacan el uso de inhibidores de hongos, incremento de los niveles de proteínas, vitaminas y energía de las dietas; la selección genética, los tratamientos físicos, químicos y biológicos de las materias primas, los cuales en condiciones experimentales han mostrado resultados prometedores, sin embargo, su aplicación a nivel de granjas de explotación comercial todavía necesita ser validada (Requena *et al.*, 2005).

Se recomienda la utilización de sustancias descontaminantes naturales o sintéticas conocidas como secuestrantes, las cuales son capaces de inhibir dichos metabolitos, contrarrestando de este modo la toxicidad de los mismos. Entre estas se encuentran algunas arcillas, y zeolitas de origen volcánico, bentonitas, carbón activado, aluminosilicatos y productos de la pared celular de levaduras (Requena *et al.*, 2005, Tapia *et al.*, 2010).

Para controlar *Aspergillus flavus* y sus toxinas en el maíz se han requerido diversos métodos químicos, sin embargo, estas estrategias son costosas y su uso es regulado por el impacto que estas sustancias tienen en el medio ambiente. Las bacterias del género *Bacillus* muestran acción anti fúngica contra *Aspergillus flavus* (Denli y Pérez, 2010).

Los compuestos Butil-hidroxianisol, Butil-Hidroxi-Tolueno y Propil-Parabeno, controlan el crecimiento y la síntesis de *Aspergillus flavus* y

*Aspergillus parasiticus*, sin embargo, tienen repercusiones muy negativas en el maíz por su alta fitotoxicidad (Padrón *et al.*, 2013).

Extractos de plantas como *Boswellia*, han demostrado tener una efectividad en la eliminación de *Aspergillus flavus* de hasta el 100%. Otro método muy utilizado es la compra de bolsas de ensilado fabricadas con poliestireno y filtro de rayos ultravioleta, una opción adecuada de almacenamiento mucho más costeable (Padrón *et al.*, 2013).

## **2.11 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS**

Aunque el diagnóstico definitivo se basa en el hallazgo de las micotoxinas en el alimento, en leche, contenido intestinal o sus residuos o metabolitos en tejidos, sangre y orina, es importante recordar que el análisis de micotoxinas está sujeto a una serie de fuentes de variación que complican la situación. Cabe mencionar que con frecuencia el cuadro clínico se complica con otras enfermedades oportunistas, ya que las micotoxinas al ser inmunosupresoras hacen más susceptible al animal a infecciones. Por lo que normalmente el diagnóstico es más presuntivo, basado en las características de la intoxicación, en la experiencia y en descartar otro tipo de enfermedad (Mallmann *et al.*, 2007; Medina *et al.*, 2013).

Los métodos para el análisis de las micotoxinas han ido evolucionando en busca de una mayor precisión en la identificación de estas sustancias en alimentos, tejidos y fluidos orgánicos. En los primeros años que siguieron al descubrimiento de las aflatoxinas el hombre tuvo interés en los métodos rápidos que le permitiera inspeccionar en corto tiempo un gran volumen de granos. Fue así como se publicó el uso de la lámpara de luz ultra violeta (LUV) para detectar la fluorescencia (Arellano, 2003; Medina *et al.*, 2013).

Luego surge la utilización de anticuerpos monoclonales para la detección rápida de aflatoxinas, en lotes sospechosos que posteriormente podrán ser sometidos al análisis cuantitativo. La cromatografía en capa delgada (TLC) se toma como una herramienta valiosa en el análisis semi cuantitativo o cuantitativo, adoptándose como método oficial establecido por la Association of Analytical Chemist hasta llegar hoy en día a métodos más

sofisticados como la Cromatografía de Alta Precisión (HPLC) y la Reacción en Cadena de Polimerasas (PCR) (Arellano, 2003).

La determinación de micotoxinas no es algo simple, dado que ellas se encuentran distribuidas de manera heterogénea en el insumo. Sin embargo, de manera simple, el análisis puede dividirse en cuatro etapas cruciales:

Etapa I: toma de la muestra en el lote

Etapa II: molienda de la muestra

Etapa III: toma de la submuestra,

Etapa IV: extracción y cuantificación de la micotoxina

El primer factor que llega a tener influencia directa en el resultado es el muestreo. Van Egmond *et al.*, (2007) hablan sobre las dificultades que se presentan en el momento de realizar un muestreo de manera correcta.

El tema del muestreo, en el caso de micotoxinas, es un problema bastante fuerte y representa la mayor fuente de error en los resultados. En este aspecto existe consenso respecto a que un mal procedimiento de muestreo lleva a resultados que difieren de un laboratorio a otro. Por lo tanto, se recomienda seguir un procedimiento de muestreo establecido y que el tamaño de muestra para el análisis en granos no sea inferior a 5 kg. El envío de la muestra al laboratorio debe hacerse en bolsa de papel Kraft para el caso de granos y alimentos (Arellano, 2003; Van Egmond *et al.*, 2007).

La distribución de la contaminación de las micotoxinas de acuerdo a los productos debe ser un factor muy importante y estar presente en los criterios de muestro y de análisis, en algunos casos puede ser bastante heterogénea, hablando de cierto tipo de granos, sin embargo, los niveles de micotoxinas pueden ser bajos en algunos productos, y muy altos en otros, y esto puede afectar la interpretación de los resultados (Van Egmond *et al.*, 2007).

Una vez que la muestra llega al laboratorio, pasa por un proceso de preparación que consiste en molienda y cuarteo para obtener una submuestra pequeña pero representativa que es analizada. Para esto se lleva a cabo un proceso de extracción mediante el uso de solventes orgánicos o mezclas de ellos con agua. La eficiencia de la extracción de las micotoxinas va a depender del tipo de solvente utilizado. Posterior a esto, en algunos métodos se realiza un proceso de limpieza o purificación para

eliminar las impurezas que pueden interferir con la cuantificación (Mallmann *et al.*, 2007).

Para la cuantificación existen diferentes métodos de análisis que pueden ser utilizados pero la selección siempre se debe basar en que el método a utilizar sea confiable, aplicable y práctico. La confiabilidad se refiere a su exactitud en la determinación y a su variabilidad o precisión y es el parámetro más importante a considerar desde el punto de vista analítico. Además es necesario que el método se aplique a una variedad amplia de muestras y que sea práctico con respecto al costo, tiempo de análisis y capacitación para su realización (Mallmann *et al.*, 2007).

Desde el punto de vista técnico la determinación fluorométrica consiste en la utilización de las columnas de inmunoafinidad, que están compuestas de un gel que contiene anticuerpos específicos para cada micotoxina. El proceso comienza con el molido y homogenización de la muestra, pasando por el filtrado de la misma, la extracción de la micotoxina por medio de solventes y su posterior paso a través de dichas columnas, ésta se enjuaga y posteriormente se agrega un líquido revelador (bromo en agua) que reaccionará con la estructura química de la toxina produciendo fluorescencia específica para cada una de estas. De acuerdo al grado de fluorescencia será la cantidad de micotoxina existente en el extracto (Cepeda, 1970; Mallmann *et al.*, 2007).

El método de cromatografía de líquidos (HPLC) es un método exacto y preciso que ha sido aceptado como método oficial y como método de referencia para algunas micotoxinas. Otros métodos de referencia son la Cromatografía de Gases (GC) y la Cromatografía de Capa Fina (TLC), que se utiliza para el análisis de Tricotecenos. Sin embargo, estos métodos no son ampliamente utilizados, pues requieren de instrumentación de elevado costo y de una alta capacitación del usuario (Arellano, 2003).

Por consiguiente, en los últimos años se han desarrollado métodos inmunoquímicos para facilitar el análisis. La ventaja de estos métodos es que son rápidos, simples y de bajos requerimientos instrumentales. Por consiguiente, en el caso de un gran número de análisis a realizar, los métodos inmunoquímicos representan una buena alternativa. Sin embargo, su mayor desventaja es que ocasionan falsos positivos que conllevan a una

interpretación problemática de los resultados. Por lo tanto, los valores positivos obtenidos con estos métodos conviene que sean confirmados mediante un método de referencia (Cepeda, 1970; Mallmann *et al.*, 2007).

Los métodos inmunoquímicos comerciales se pueden dividir básicamente en métodos que utilizan columna de inmunoafinidad y métodos ELISA. Aunque el método de columna de inmunoafinidad fue originalmente desarrollado para la cuantificación mediante fluorometría, en la actualidad las columnas han sido utilizadas para la purificación y concentración de las micotoxinas para su detección posterior mediante HPLC, GC y TLC. Los métodos ELISA son generalmente utilizados como monitoreo rápido. Otro aspecto importante es que el método analítico utilizado por el laboratorio haya sido desarrollado y validado para el tipo de insumo analizado (Arellano, 2003).

Es importante que el método seleccionado por un laboratorio sea validado en sus instalaciones y para esto se pueden comparar los resultados contra los de un método de referencia. Así la confiabilidad del método analítico se asegura. La validación del método debe incluir entre otros parámetros la exactitud y la precisión. La exactitud de un método se define como el nivel de concordancia entre el valor verdadero o aceptado y el valor observado o medido por el método en cuestión. Con frecuencia la exactitud se reporta como recobre o como "BIAS". El recobre no es otra cosa que el valor en porcentaje de la división del valor medido entre el valor verdadero. "BIAS" es la diferencia entre el valor medido y el valor verdadero. La exactitud nos indica que tan lejos está el valor medido del valor verdadero y está relacionada con el error sistemático de la medición. Por otra parte la precisión de un método puede ser definida como el grado de concordancia entre una serie de mediciones repetidas de una muestra homogénea y normalmente se expresa con la desviación estándar relativa o coeficiente de variación. La precisión está relacionada con el error aleatorio de la medición (Arellano, 2003).

## **2.12 LIMITES PERMISIBLES PARA MATERIAS PRIMAS Y ALIMENTOS TERMINADOS.**

Expertos e investigadores en el tema nos afirman que el número de micotoxinas y combinaciones entre ellas, han ido incrementando con el paso de los años y así mismo han incrementado el número de países que han establecido una normativa de regulación en los límites permitidos de toxinas en alimentos y productos (Van Egmond *et al.*, 2007).

Se han elaborado cuadros que establecen los niveles permisibles de concentración para cada tipo de micotoxina de acuerdo a las discusiones a nivel mundial sobre la problemática y el papel que representa en la contaminación del alimento. Los límites permisibles establecidos para cada especie animal y para el hombre son francamente diferentes. Cada país tiene diferentes lineamientos y normatividad establecida (Mallmann *et al.*, 2007).

Constantemente se crean nuevos y mejores reglamentos para aflatoxinas presentes en productos lácteos y raciones destinadas para el consumo animal. Estos límites permanecen en estado latente de modificación, ya que la información proporcionada no puede ser siempre 100% confiable. Otra limitante son los países que manejan límites tolerables para un alimento en general. Son en su mayoría países que tienen escasa inversión en investigación de los problemas fitosanitarios o de salud pública relacionado con el consumo de alimentos de origen animal y basan sus conclusiones en observaciones y comparaciones con países vecinos que manejan la problemática.

Es de esperarse que en un futuro el número de nuevos y mejores reglamentos se incremente, y se tengan normas específicas para cada uno de ellos, tanto para alimentos como para raciones.

El Cuadro 2 muestra los límites máximos permisibles de micotoxinas en materias primas y alimentos terminados, destinados al consumo animal establecidos en base a las normativas a nivel mundial: CODEX para los contaminantes y toxinas en alimentos (1995), la FAO y WHO (2011) y la legislación Europea en los reglamentos (CE) no. 401 (2006), Reglamento (CE) no. 1152 (2009), y por la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002.



**Cuadro 2.** Concentraciones máximas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) tolerables de micotoxinas en materias primas y en alimentos terminados, en diferentes especies animales y etapas productivas.

	<b>MICOTOXINAS</b>			
	<b>AFL</b>	<b>OCR</b>	<b>FUM</b>	<b>ZEA</b>
<b>ALIMENTOS:</b>				
Cereales y todas las materias primas	20	-	-	-
Maíz y sus productos	20	-	6000	3000
Cereales y sus productos	20	250		2000
<b>ANIMALES:</b>				
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	10	50	5000	30 000
Aves adultas (pollos, patos, pavos)	20	100	8000	40 000
Gallinas ponedoras y reproductoras	20	100	2000	30 000
Cerdos jóvenes (<45 kg de peso vivo)	20	50	5000	100
Cerdos adultos (34-57 kg de peso vivo)	50	50	5000	200
Cerdos adultos (>57 kg de peso vivo)	100	50	5000	200
Cerdas	25	50	5000	200
Verracos	25/100	50	5000	50
Teneros, corderos y cabritos	10	50	2000/3000	250
Bovinos, ovinos y caprinos adultos no lecheros	25/300	50	5000/6000	250
Bovinos, ovinos y caprinos adultos lecheros	10	50	5000/6000	250

AFL= Aflatoxina; OCR = Ocratoxina; ZER = Zearalenona; FUM = Fumonisina

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la presencia de aflatoxinas totales, fumonisina, ocratoxina A y zearalenona, en muestras de alimentos destinados para consumo animal, evaluadas en el Centro de Análisis de Micotoxinas (CAM) de la Universidad Autónoma de Querétaro, durante el período 2011 a 2015.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**3.2.1** Evaluar el comportamiento en la recepción de muestras de alimento para consumo animal para análisis de micotoxinas en el Centro de Análisis de Micotoxinas en función del número de muestras recibidas, analizadas por micotoxina, por tipo de alimento, por especie, por etapa productiva y por estados de la República Mexicana en el período de 2011 a 2015.

**3.2.2** Determinar la presencia, porcentaje de muestras positivas, concentración promedio de muestras positivas, y concentración mínima y máxima de cada micotoxina de muestras de alimentos totales contaminados para consumo animal, así como por tipo de alimento (materias primas y alimento terminado), por especie y por estados de la República Mexicana recibidas y analizadas en el CAM de enero 2011 a diciembre 2015.

#### IV. METODOLOGÍA

El presente trabajo es una recopilación y evaluación de los resultados del análisis de micotoxinas presentes en diferentes muestras de alimentos destinados al consumo animal analizadas en el Centro de Análisis de Micotoxinas de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. Las muestras de alimentos (materias primas y alimentos terminados) fueron analizadas para las diferentes especies y diferentes estados de la República Mexicana de enero de 2011 a diciembre de 2015. Se recibieron muestras de 11 diferentes estados de la República Mexicana (Aguascalientes, Chiapas, Coahuila, Puebla, Guanajuato, Jalisco, Morelos, Querétaro, Nuevo León, Sonora y Veracruz).

Las muestras se recibieron directamente de las unidades de producción pecuarias de diferentes estados de la República Mexicana. Los productores solicitaron el(los) tipo(s) de micotoxina(s) a evaluar, pudiendo elegir entre las determinaciones de las micotoxinas, micotoxinas, aflatoxinas totales (AF), ocratoxina A (OTA), fumonisina (FUM) y zearalenona (ZEA) ((Arellano, 2003; Li *et al.*, 2014).

El procedimiento de muestreo no pudo ser controlado, el productor fue quien indicó el tipo de alimento y la procedencia de la muestra, no se tuvo un trámite o procedimiento específico, para la toma o envío de las muestras recibidas, fueron muestreadas por cuarteo, para posteriormente ser molidas a través de una criba de 1 mm y realizar la determinación de cada una de las micotoxinas (Li *et al.*, 2014).

La determinación de las micotoxinas se realizó por medio de un método específico de inmunoafinidad por fluorescencia (Hansen, 1990; Truckes *et al.*, 1991; Chiavaro *et al.*, 2002).

El principio de la técnica se fundamenta en una serie de columnas en donde existe la presencia de anticuerpos monoclonales inmovilizados, formando un gel que se empaca en la columna (Figura 6). Si el extracto de un insumo o de un alimento determinado se hace pasar por dicha columna, la micotoxina se unirá con los anticuerpos monoclonales de la columna de inmunoafinidad, mientras que el resto de componentes del extracto se eliminará mediante un líquido de lavado, y posteriormente con un proceso de elución la micotoxina se recuperara para determinar su concentración por

fluorescencia, o seguir realizando un análisis a través de un sistema por cromatografía de líquidos.



**Figura 6.** Columnas de inmunoafinidad de VICAM: Aflatest™ (aflatoxinas totales: AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub> y AFM<sub>1</sub>), FumoniTest™ (fumonisina total: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub>), OchraTest™ (ocratoxina A) y ZearalaTest™ (zearalelona).

Los valores de referencia de concentraciones máximas permitidas de micotoxinas en las muestras fueron los presentados en el Cuadro 2 (CODEX para los contaminantes y toxinas en alimentos (1995), la FAO y WHO (2011) y la legislación Europea en los reglamentos (CE) no. 401 (2006), Reglamento (CE) no. 1152 (2009), y por la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002).

Con los resultados obtenidos de las concentraciones de cada micotoxina se elaboró una base de datos organizada por especie y etapa productiva, tipo de alimento (materia prima o alimento terminado), estado de la República Mexicana y año.

Las muestras de alimento por especie se seleccionaron en función de las analizadas en mayor número y su presencia en todos los años, siendo evaluadas las muestras de cerdos, aves y bovinos. Así mismo, de estas especies, los alimentos evaluados de las etapas productivas de cerdos fueron iniciación, crecimiento, engorda, finalización, gestación, lactancia y

verracos; de aves fueron iniciación, crecimiento, finalización y ponedoras; y de bovinos fueron engorda, gestación y lactancia.

Las muestras de alimento por estado se seleccionaron en función de las analizadas en mayor número y de su presencia en todos los evaluados, estableciéndose cinco estados de manera independiente (Aguascalientes, Coahuila, Jalisco, Querétaro y Sonora) y un sexto grupo llamado “otros” que incluyo al resto de los estados (Chiapas, Guanajuato, Puebla, Morelos, Nuevo León y Veracruz).

Con el número de muestras recibidas de alimento para animales se evaluó el comportamiento en la recepción de muestras por parte del CAM por tipo de alimento (alimento terminado y materia prima), por especie y por etapa productiva para quien era destinado el alimento, por estado de la República Mexicana de donde provinieron las muestras, por tipo de micotoxina solicitada (aflatoxinas totales, ocratoxina A, fumonisina total y zearalenona), todo en función del año de recepción (2011 a 2015).

Además, se determinó la presencia de micotoxinas (relación del número de muestras positivas o contaminadas con respecto al número total de muestras evaluadas), el porcentaje de muestras positivas (porcentaje de muestras positivas con concentraciones por encima del límite máximo permisible por la Unión Europea y la Norma Oficial Mexicana, NOM-88-SSAI-2002), la concentración media de micotoxinas de muestras positivas o contaminadas (promedio de la concentración expresada en  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  o ppb), y el intervalo de concentración mínima y máxima de muestras positivas o contaminadas de cada tipo de micotoxina del total de las muestras contaminadas, por tipo de alimento (materias primas y del alimento terminados), por especie (cerdos, aves y bovinos) y etapa productiva, por estado de la República Mexicana y por año.

## **V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **5.1 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE ALIMENTO PARA CONSUMO ANIMAL RECIBIDAS Y ANALIZADAS EN EL CENTRO DE ANÁLISIS DE MICOTOXINAS DE 2011 A 2015**

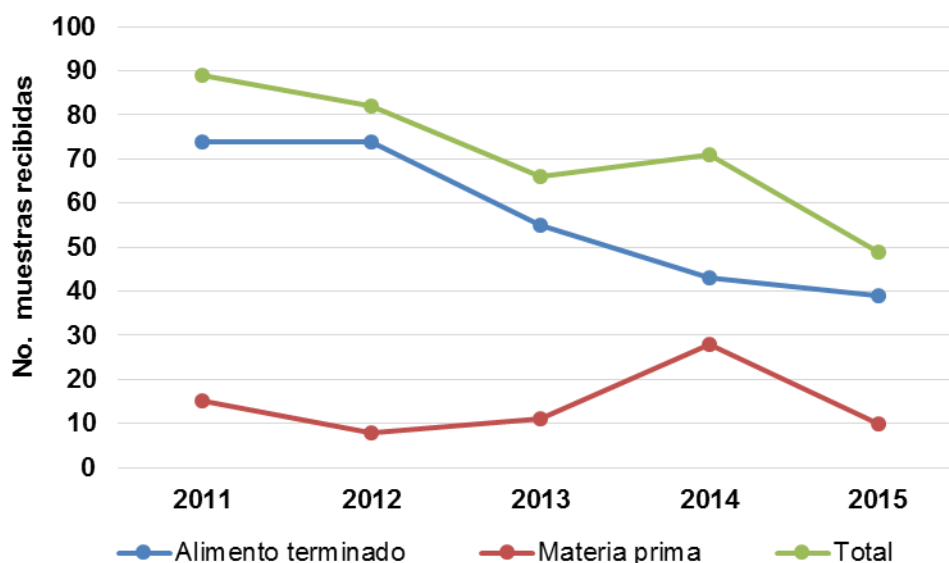
En esta sección de resultados se analizará exclusivamente el comportamiento en la recepción de muestras de alimento para consumo animal, con la finalidad de poder visualizar el futuro del Centro en función de la rentabilidad. Todo esto en relación al tipo de alimento (materia prima y alimento terminado), para la especie y etapa productiva destinado, por los estados de la República Mexicana de donde provienen las muestras recibidas en el CAM y del tipo de micotoxina solicitada de 2011 a 2015.

#### **5.1.1 Análisis de micotoxinas en el total de las muestras de alimento recibidas en el CAM de 2011 a 2015**

La información analizada del total de las muestras de alimento evaluadas consistió en un total de 1,127 determinaciones de micotoxinas, de las cuales 324 pertenecieron a aflatoxinas totales, 253 a ocratoxina A, 275 a fumonisina total, y 275 a zearalenona, provenientes de 357 muestras de alimentos (materias primas y alimentos terminados) para distintas especies y etapas productivas; dichos alimentos provinieron de diferentes estados de la República Mexicana (Aguascalientes, Chiapas, Coahuila, Puebla, Guanajuato, Jalisco, Morelos, Nuevo León, Querétaro, Sonora y Veracruz).

#### **5.1.2 Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por tipo de alimento (materia prima y alimento terminado) de 2011 a 2015**

La Figura 7 muestra los resultados de 357 muestras recibidas, de las cuales 285 correspondieron a alimentos terminados (80%) y 72 a materias primas (20%) en el período 2011 a 2015.



**Figura 7.** Número de muestras recibidas totales y por tipo de alimento (alimentos terminados y materias primas) por año en el CAM (período 2011-2015)

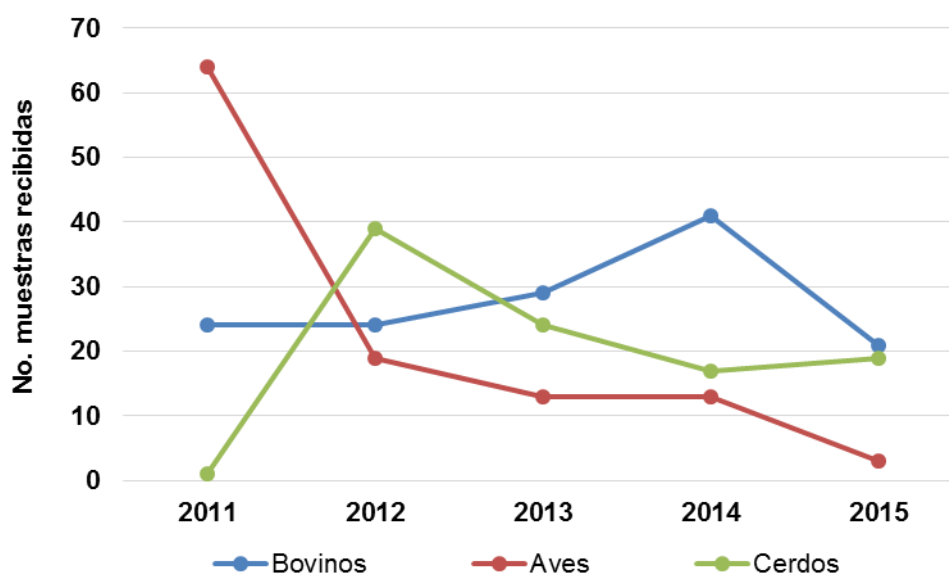
El número de las muestras totales recibidas se mantuvo a la baja en un 44.9% con el pasó de los años, de 2011 a 2015. La recepción de muestras de alimentos terminados fue la misma para 2011 y 2012; para posteriormente decrecer en un 47.3% en 2015. En el caso de las materias primas el número de muestras recibidas por año fue muy variable, recibándose 15, 8 y 11 en 2011, 2012 y 2013, respectivamente, y a pesar de que para 2014 se recibieron 28 muestras, se cerró en 2015 con 10 muestras, un 64.3% menos con respecto a 2014 y un 33.3% menos que en 2011. Esto nos muestra que los productores prefieren enviar el alimento terminado, a enviar individualmente las materias primas. Esto puede deberse a que es más fácil y económico enviar un solo alimento, que tener que enviar varias muestras de alimentos. Sin embargo, la desventaja más grande que se tiene al momento de analizar un alimento terminado, es que realmente no se puede conocer el componente específico del alimento que está contaminado. En un período prolongado de tiempo, no conocer esta información, genera muchas pérdidas económicas, que pueden llegar a ser igual o más costosas que hacer desde un inicio el análisis completo de cada uno de los componentes que integran un alimento terminado. Cuando se conoce que componente específico del alimento es el que está generando

que todo el alimento sea positivo, se puede retirar de la mezcla y sustituir por otro de mejor calidad.

En México, Cascante *et al.*, (2014) también reportaron una disminución en el número de determinaciones por año y una predilección por el productor en el análisis de muestras de alimentos terminados en comparación con las de materias primas.

### 5.1.3 Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por especie de 2011 a 2015

La recepción de muestras por especie está representada en la Figura 8, en donde se puede observar el comportamiento que ha tenido de 2011 a 2015.



**Figura 8.** Comportamiento del número de muestras recibidas por especie (aves, bovinos y cerdos) por año en el CAM (período 2011-2015)

De 2011 a 2014 la recepción de muestras para bovinos mostró un incremento del 70.8%, sin embargo, para 2015 se redujo en un 48.8% con respecto al año anterior.

El número de muestras recibidas para aves, ha venido a la baja, con el paso de los años en un 95.3% con respecto a 2011; dejando en claro el desinterés del productor de seguir enviando muestras al CAM. Esto puede deberse a que los ciclos productivos de algunas aves, en especial las aves destinadas a engorda, son más cortos y se necesitan concentraciones más



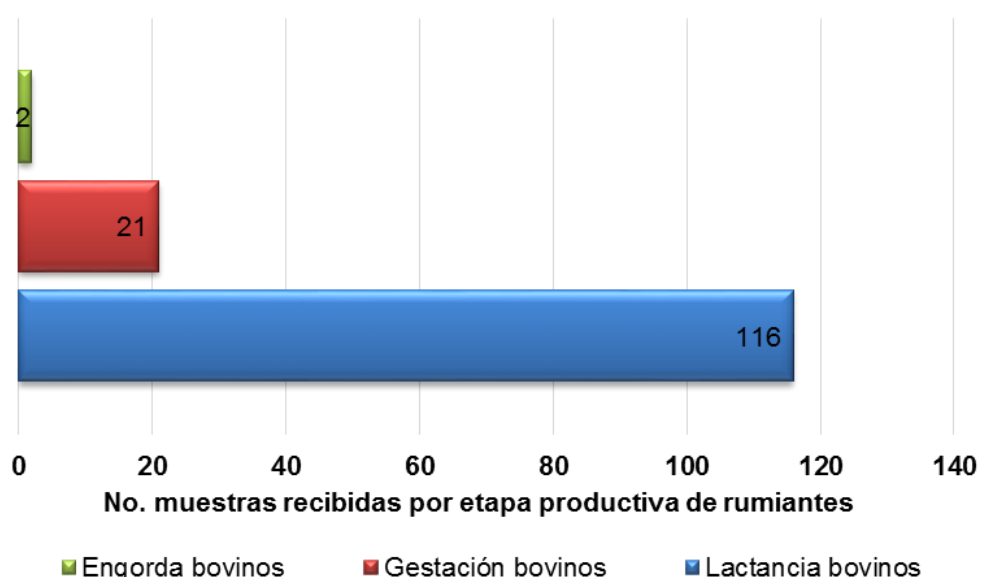
altas para que la signología de las micotoxinas como tal se presente de una manera más aguda (Grupo Biotecap, 2014).

En 2011 en el CAM únicamente se recibió una sola muestra de alimento para cerdo, número que se incrementó a 39 muestras en 2012, sin embargo, de 2013 a 2015, este número decreció desfavorablemente un 51.3% con respecto a 2012. A pesar de que el comportamiento para la recepción de muestras en cerdos es muy variable y de que con el paso de los años parecía incrementarse, se vio que el comportamiento en los últimos tres años ha venido a la baja nuevamente.

#### 5.1.4 Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por etapa productiva de 2011 a 2015

##### 5.1.4.1 Número de muestras de alimento recibidas por etapa productiva para bovinos

En la Figura 9 se muestra el número de muestras recibidas y determinadas por etapa productiva en bovinos, correspondiendo un 83.5% para lactancia, 15.1% para gestación y 1.4% para engorda.



**Figura 9.** Número de muestras totales recibidas en el CAM por etapa productiva para bovinos (período 2011 a 2015)

Los bovinos, por lo general, son animales con quienes sus productores tienen especial cuidado de tener las condiciones óptimas para

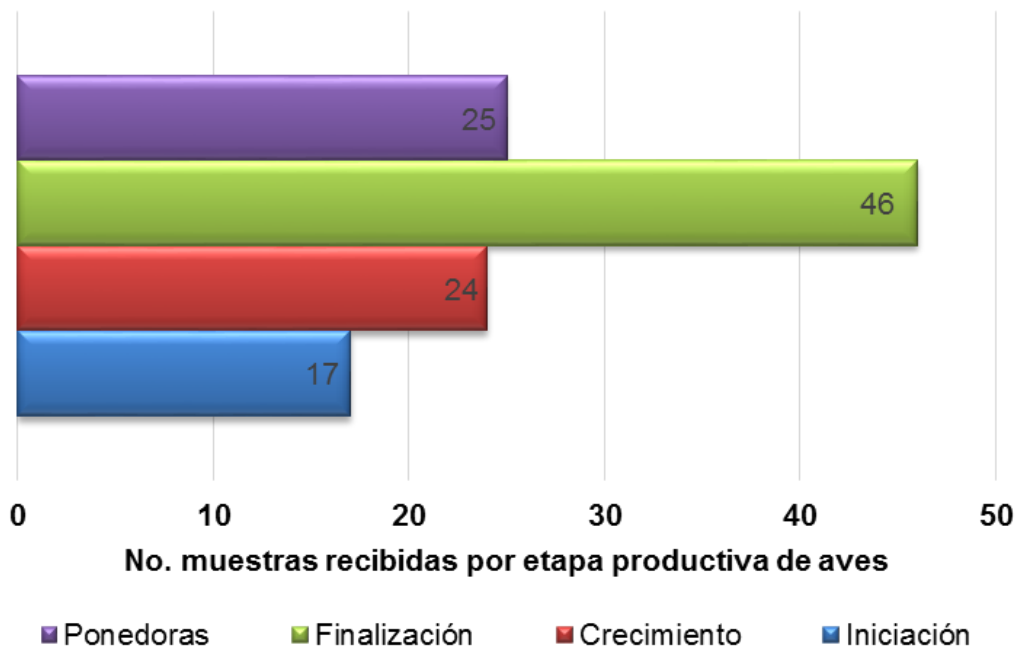
su desarrollo. Desde siempre el mercado ha ofrecido diversas opciones para las problemáticas que van suscitándose en la producción: habiendo en el mercado cada día más opciones y siendo más diverso en cuanto a medicamentos, la incorporación constante de plaguicidas más efectivos, el control de los metales pesados y de los contaminantes de origen industrial, todo al alcance cercano del productor, para tener animales más sanos y mejor atendidos. El problema de las aflatoxinas M<sub>1</sub> en la leche es una preocupación que tienen muy presente los productores, ya que no sólo impacta en la salud animal, si no que pone en riesgo la salud pública, está puede ser una de las razones por las que los productores tienen mayor interés por conocer la calidad de su alimento, y recurren al envío de muestras a los laboratorios. Los laboratorios por su parte se ven cada vez más exigidos en mejorar el servicio y a ampliar la gama de opciones para el productor (Pérez *at al.*, 2008).

#### ***5.1.4.2 Número de muestras de alimento recibidas por etapa productiva para aves***

La Figura 10, se muestra el número de muestras recibidas y determinadas por etapa productiva de aves, correspondiendo un 15.2% para iniciación, 21.4% para crecimiento, 41.1% para finalización y 22.3% para ponedoras.

La ingestión de micotoxinas reduce la calidad de cualquier especie pecuaria, incluyendo por supuesto a las aves, además de que reduce considerablemente la calidad de los productos derivados de estos animales. Particularmente las aflatoxinas tienen la capacidad de estar presentes en la carne y el huevo. Después de la ingesta de alimento contaminado, las aflatoxinas son almacenadas en hígado, molleja, pechuga y huevo. Las ocratoxinas producen problemas en timo, bazo y nódulos linfáticos, en todas las aves de interés zootécnico. Las aves son bastante tolerantes a la intoxicación con zearalenona, suelen presentarse problemas sólo en algunas aves y en las dosis más altas. Puede reducir la ingesta de alimento hasta en 14%, lo que impacta directamente en la calidad del huevo, el problema obliga al productor a tener especial cuidado en la calidad de sus productos, sobre todo en las etapas de finalización del animal, que es la etapa más

cercana a su comercialización y consumo (Elika, 2013; Grupo Biotecap, 2014).



**Figura 10.** Número de muestras totales recibidas en el CAM por etapa productiva de aves (período 2011 a 2015)

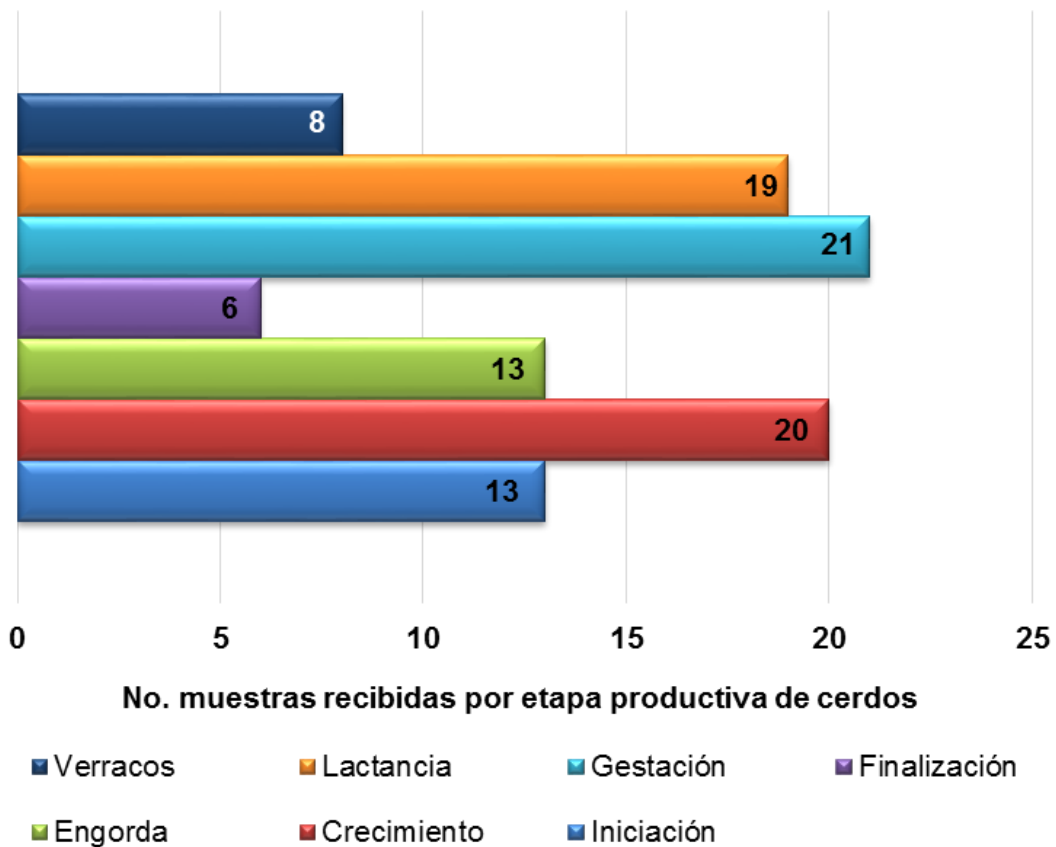
Los ciclos productivos tan cortos de las aves, incentivan más al productor a detectar a tiempo los problemas relacionados con las micotoxinas, y a buscar una rápida solución, pensando en el futuro inmediato de su granja.

#### **5.1.4.3 Número de muestras de alimento recibidas por etapa productiva para cerdos**

El número total de muestras recibidas por etapa productiva para cerdos se representa en la Figura 11, correspondiendo de mayor a menor en un 21% para gestación, 20% para crecimiento, 19% para lactancia, 13% para iniciación y engorda, 8% para verracos y 6% para finalización.

Las etapas productivas en donde existe mayor interés por conocer la calidad del alimento que se está sirviendo, son las etapas de crecimiento, lactancia y gestación, todas ellas, etapas cruciales en el ciclo productivo de un cerdo, ya que de ello dependen los óptimos rendimientos productivos y la

rentabilidad de una granja. La calidad en el alimento servido a los cerdos, es muy importante y representa de 70 a 85% de los costos totales de producción, dejando de lado etapas como finalización en donde el interés del productor es mayor hacia comercializar sus animales, que por conocer la calidad de su alimento, su estado nutricional y la inocuidad de su producto.

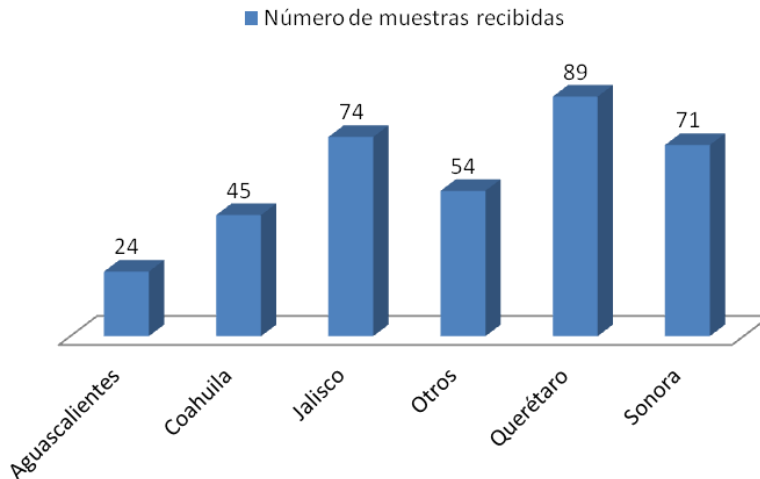


**Figura 11.** Número de muestras totales recibidas en el CAM por etapa productiva para cerdos (período 2011 a 2015)

### 5.1.5 Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por estado de la república mexicana de 2011 a 2015

La Figura 12, se muestra el número de recepciones de muestras que se tuvieron por estado de la República Mexicana, agrupando de manera independiente los cinco estados de los que se recibieron mayor número de muestras y agrupando en un sexto grupo de “otros” los demás estados, esto debido a que en estos estados el número de muestras fue menor en comparación con los otros 5 estados.

Las muestras de alimento recibidas por estado de la República Mexicana por orden descendente fueron en un 27.2% de Querétaro, 22.5% de Sonora, 19.2% de Jalisco, 14.4% de otros, 9.5% de Coahuila y 7.3% de Aguascalientes. El comportamiento en la recepción de las muestras fue muy diferente, influyendo de manera importante la cercanía con el CAM y posiblemente el alcance en la difusión de los servicios y los costos del servicio.

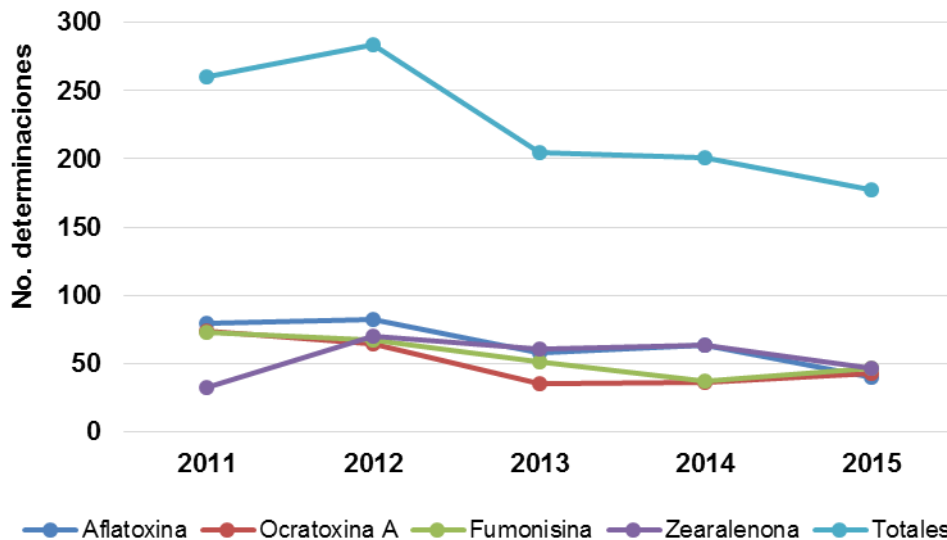


**Figura 12.** Número de muestras de alimento recibidas en el CAM por estado de la República Mexicana (período 2011 a 2015)

### 5.1.6 Número de muestras de alimento recibidas y determinadas por micotoxina en el CAM de 2011 a 2015

En la Figura 13 se representa el número de determinaciones por micotoxina de 2011 a 2015. El número de muestras para determinar aflatoxinas totales presentó un descenso del 50%, para ocratoxina A del 42%, para fumonisinas totales del 35.6% y para zearalenona fue diferente y variable de 2011 a 2015, respectivamente. De 2011 a 2012 se presentó un aumento en la determinación de las muestras totales recibidas del 52.9%, sin embargo, de 2012 a 2015 se presentó un decremento del 32.9%. El comportamiento general en el número de muestras recibidas y determinadas por año ha venido a la baja, a pesar de que inicialmente en 2011 se recibieron un total de 260 muestras y que para 2012 fueron 284, pareciendo que este número incrementaría año tras año. Sin embargo, de 2012 a 2015 el número de muestras analizadas descendió un 37.7%. Esto puede deberse

a que los productores están teniendo un menor poder adquisitivo, o que están enviando sus muestras a laboratorios más cercanos a sus explotaciones, o a laboratorios que ofrecen sus servicios a menores costos. Hay algunas empresas que ofrecen el servicio de análisis de micotoxinas en la compra de sus productos y muchos toman la decisión de aceptar dichas ofertas, ya que económicamente les conviene.



**Figura 13.** Número de muestras recibidas y determinadas por micotoxina (aflatoxinas totales, fumonisinas totales, ocratoxina A y zearalenona) por año en el CAM (período 2011-2015)

El productor siempre está en la búsqueda de un alimento de la mayor calidad posible, y la mayoría de las empresas ofrecen un extenso catálogo de productos y técnicas de análisis, cada vez más accesibles y que prometen dar pronta solución a sus problemas, además de cuidar su economía.

Las organizaciones y laboratorios que incluyen esta oferta de análisis a sus clientes, permanece en riesgo latente cuando el número de muestras recibidas por año no son suficientes para ser rentable. Es muy importante conservar la rentabilidad de dichas pruebas, ya que el productor debe de tener a su alcance inmediato, diferentes opciones de acuerdo a sus posibilidades económicas y de cuestiones de tiempo.

## **5.2 PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN MUESTRAS CONTAMINADAS O POSITIVAS RECIBIDAS EN EL CENTRO DE ANÁLISIS DE MICOTOXINAS DE 2011 A 2015**

En esta sección de resultados se analizó exclusivamente la presencia de micotoxinas en muestras de alimento para consumo animal, con la finalidad de poder visualizar la problemática en cuanto a contaminación de alimentos de las zonas bajo estudio. Todo esto en relación al tipo de micotoxina, del tipo de alimento (materia prima y alimento terminado), para la especie y etapa productiva destinado, y por los estados de la República Mexicana de donde provienen las muestras recibidas en el CAM de 2011 a 2015.

### **5.2.1 Presencia por tipo de micotoxinas en muestras contaminadas o positivas recibidas en el CAM**

Los resultados presentados en el Cuadro 3 confirman la presencia de micotoxinas en alimentos que tienen concentraciones que están por encima de los límites permisibles para su consumo animal, dicha contaminación está expresada en porcentajes de concentración promedio de las determinaciones positivas (muestras que por sobrepasar el límite máximo permisible y que no son aptas para su consumo), y un intervalo de concentración mínima y máxima, para los cuatro diferentes tipos de micotoxinas determinados (Aflatoxinas totales, Fumonisina total, Ocratoxina A y Zearalenona). Esta información está expresada en  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ . Los resultados obtenidos demostraron que la presencia de los cuatro diferentes tipos de micotoxinas es inminente y sus concentraciones representan un importante riesgo para la salud, tanto en los animales como en los seres humanos que consumen los productos derivados de estos, principalmente fumonisina (19.3%), zearalenona (8.4%) y y el riesgo de aflatoxinas en la leche (9.25%).

El número de publicaciones en México que hablan acerca de la problemática de la contaminación por micotoxinas en alimentos destinados al consumo animal, es muy limitado, sobre todo en el caso del sector avícola y porcícola. En comparación a las publicaciones e información con la que

cuentan otros países como Estados Unidos de América, Canadá y la Unión Europea (FAO/OMS, 2011).

Para México, Cascante *et al.*, (2014), reportan que los niveles de contaminación por micotoxinas se encuentran por encima del 50% de las muestras totales, según límites permitidos por la Unión Europea 2006 en aflatoxina, fumonisina, ocratoxina y zearalenona.

**Cuadro 3.** Presencia de micotoxinas en alimentos evaluados durante el período 2011 a 2015

<b>Micotoxina</b>	<b>Presencia</b>	<b>% Positivas</b>	<b>CMMP (µg/Kg)</b>	<b>Mín-Máx (µg/Kg)</b>
Aflatoxinas totales	30/324	9.25	23.5	10 – 48.5
Ocratoxina A	4/253	1.6	88.8	78.3 – 110
Fumonisina total	53/275	19.3	7398	2160 – 55000
Zearalenona	23/275	8.4	295.2	50 -1050

Presencia = relación del número de muestras positivas o contaminadas con respecto al número total de muestras evaluadas; % de positivas = porcentaje de muestras positivas con concentraciones por encima del límite máximo permisible; CMMP = Concentración media de micotoxinas de muestras positivas (µg/Kg), Mín-Máx =Intervalo de concentración mínima y máxima de micotoxinas en muestras positivas

***Aflatoxinas totales:***

En el caso de las aflatoxinas totales un porcentaje de 9.25% de las determinaciones totales se encuentran positivas, con una concentración promedio de 23.5 µg/Kg, la cual excede el límite permitido por la Unión Europea y por la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002 (Cuadro 3). Por tanto, los alimentos que poseen estas concentraciones no son aptos para su consumo y poseen el riesgo de diseminar sus micotoxinas en la leche. La presencia de micotoxinas, en especial la aflatoxina, en leche y su resistencia a los procesos de elaboración de muchos de los subproductos como el queso y el yogurt es un riesgo potencial para la salud humana.

En países de América Latina y el Caribe, se ha reportado la presencia de aflatoxinas totales en alimentos y de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche y productos



lácteos (quesos), principalmente en países como Argentina, Brasil, Colombia, México y Trinidad y Tobago, las concentraciones medias reportadas son de 35 µg/kg (Pérez *et al.*, 2008).

En México, el mayor número de análisis de aflatoxinas se llevó a cabo entre los años de 1996 y 1998. Sin embargo, las concentraciones encontradas fueron altamente diversas, lo que aumento el desconcierto entre los productores y profesionales del sector pecuario. Posteriormente, entre el 2007-2009 se efectuaron otros trabajos en leche y derivados consumidos en la Ciudad de México, encontrándose alta prevalencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en las muestras analizadas. Otro estudio realizado en Guadalajara en leche convencional de diferentes marcas encontraron que, 18.6% (25/134) de las muestras superaron los límites permisibles establecidos por la Unión Europea. Se desconoce actualmente como es la problemática de contaminación en el país (Pérez *et al.*, 2008; Landeros *et al.*, 2012).

Estudios realizados por Reyes *et al.* (2009) en el estado de Jalisco, mostraron contaminación por aflatoxina M<sub>1</sub> en leche cruda en el 80 % de las muestras, detectándose valores en un rango de 0.006 a 0.065 µg/L, con valores promedio de 0.023 µg/L. En Jalisco, que es el estado de mayor producción de leche en México, existe escasa información sobre la concentración de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche.

En un estudio publicado en 2008, se reportó que en muestras de leche cruda, ultra pasteurizada y orgánica, producidas y comercializadas en el altiplano de México, el 59.1% presentaron niveles de aflatoxina M<sub>1</sub> superiores a los límites establecidos por la Unión Europea. Un 20% de las muestras de leche orgánica, excedió los límites establecidos por la Unión Europea y FDA, mientras que los porcentajes de leche cruda y ultrapasteurizada fueron 66% para cada uno (Pérez *et al.*, 2008).

Estudios en el municipio de Tecpatán, Chiapas, reportan una alta prevalencia de aflatoxina M<sub>1</sub>, el 23.3 % de las muestras sobrepasó el límite máximo de residuo propuesto por la regulación mexicana de 0.5 µg/kg, mientras el 62.7% sobrepasaba el valor de 0.05 µg/kg de la UE (Gutiérrez *et al.*, 2013).

En un estudio realizado en leches procedentes del Altiplano Mexicano la presencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en muestras fue de 59%, las muestras de leche orgánica presentaron la menor presencia con respecto a las convencionales; sin embargo, se tuvieron las mayores concentraciones con una mediana de 23.1 µg/kg (Gutiérrez *et al.*, 2013).

Otro estudio de presencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche y queso de cabra, en Apaseo El Grande, en Guanajuato, derivó en la presencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en el 58% de las muestras de leche de cabra analizadas, de las cuales el 30% se encontró por encima de los límites permisibles establecidos por la UE (0.05 µg/kg) (Urbán *et al.*, 2010).

En el 2009, se realizó un estudio en rastrojos procedentes de 17 genotipos de maíz blanco y amarillo, cultivados en Tepatitlán de Morelos, en la región Altos Sur del estado de Jalisco. Los resultados dejaron en evidencia la presencia de aflatoxinas en el 88.2% de las muestras determinados por el método de ELISA y Aflatoxina M<sub>1</sub> con 84% por medio del método de HPLC, con niveles que de concentración que oscilaron entre los 7,000 ± 3,290 µg/Kg y 3,680 ± 2,910 µg/Kg, respectivamente (Patricio *et al.*, 2016).

### **Ocratoxina A:**

En el caso de ocratoxina A, en el presente trabajo se encontraron positivas un porcentaje de 1.6% de las determinaciones totales, con una concentración promedio de 88.8 µg/Kg, la cual excede el límite permitido por la Unión Europea. En México, la información y normatividad, no es objetiva ni suficiente, para hacer frente a esta problemática (Cuadro 3). Por tanto, los alimentos que poseen estas concentraciones no son aptos para su consumo y poseen el riesgo de diseminar sus micotoxinas. Autores como Cascante *et al.* (2014) reportaron para México niveles de ocratoxinas por encima del 50% de las muestras recibidas. Otro estudio realizado por Ortiz *et al.* (2006), reportaron niveles positivos de 60% en alimentos destinados al consumo de aves de interés zootécnico. Por otra parte Tepox *et al.*, (2015) reportaron niveles positivos de hasta 55% de las muestras.

La presencia de ocratoxinas en los alimentos es un problema a nivel mundial, principalmente en algunos cereales y sus productos, frijoles,

cebada, malta, alimentos terminados destinados al consumo animal, salchichas y granos de café (FAO, 2009).

### ***Fumonisina total:***

En el caso de fumonisinas, en el presente trabajo se encontraron positivas un porcentaje de 19.3% de las determinaciones totales, con una concentración promedio de 7,398 µg/Kg. la cual excede el límite permitido por la Unión Europea, es importante mencionar que a pesar de ser la micotoxina con mayor número de muestras positivas, en México, la información y normatividad, no es objetiva ni suficiente, para hacer frente a esta problemática (Cuadro 3). Por tanto, los alimentos que poseen estas concentraciones no son aptos para su consumo y poseen el riesgo de diseminar sus micotoxinas. En México, las concentraciones de fumonisinas reportadas en la mayoría de los estudios superan altamente el contenido de fumonisinas totales establecido por la FDA (2,000-4,000 µg/Kg) para el maíz destinado a la producción de tortillas o masa, los resultados obtenidos en este estudio coinciden con estos datos ya que se encuentran con grandes niveles, por encima del límite establecido. Los pollos de engorda por lo general suelen ser aves más susceptibles a los efectos de las micotoxinas en comparación a otras aves como, los patos, gansos y pavos, a pesar de que los problemas suelen no ser tan comunes, pueden causar importantes pérdidas en la ganancia de peso (Torres y López, 2010).

En relación con los efectos de la exposición a fumonisina, en México sólo existe un informe acerca de un brote de leucoencefalomalacia equina ocurrido en Oaxaca y concentraciones de fumonisina B<sub>1</sub> presentes en muestras de maíz empleado como parte del alimento de los burros estaban entre 670 y 13,300 µg/Kg. Estas concentraciones de fumonisina B<sub>1</sub> reportadas superan los 5,000 µg/Kg establecidas por la FDA para la alimentación en animales (Rosiles *et al.*, 1998).

Las fumonisinas detectadas en alimentos destinados a consumo humano y animal no están documentadas en México. El hongo principalmente involucrado en la producción de fumonisina en México es el *F. moniliforme*. En el Noroeste de México las cepas de hongos aisladas son en su mayoría grandes productores de fumonisina B<sub>1</sub>, mientras que las

aisladas en la zona centro, principalmente en el Estado de México, son productoras de bajas cantidades de fumonisina B<sub>1</sub> (Torres y López, 2010).

Las fumonisinas aún no son objeto de especial atención, a pesar de que están presentes en gran variedad de alimentos, sin embargo, son la principal preocupación de los importadores en la mayoría de los países. Los productos de maíz refinado para consumo humano están por lo general contaminados en niveles de <1,000 µg/kg de fumonisina B<sub>1</sub> (Bhat y Vasanthi, 1999).

Se ha señalado la presencia natural de fumonisinas, principalmente en el maíz y sus productos, en Sudáfrica, Europa, Asia sudoriental, Taiwán, Brasil, Honduras, India, Canadá, Argentina, Benín, Croacia y Nepal. En particular, se han observado niveles elevados en zonas de Sudáfrica y China donde la incidencia del cáncer de esófago es bastante alta (Bhat y Vasanthi, 1999).

### ***Zearalenona:***

En el caso de fumonisina, en el presente trabajo se encontraron positivas un porcentaje de 8.4% de las determinaciones totales, con una concentración promedio de 295.2 µg/Kg, la cual excede el límite permitido por la Unión Europea. En México la normatividad al respecto es escasa (Cuadro 4). Por tanto, los alimentos que poseen estas concentraciones no son aptos para su consumo y poseen el riesgo de diseminar sus micotoxinas. En Italia en la década de los 90, se declaró un brote de micotoxicosis por zearalenona en ganado porcino. La concentración de zearalenona en el alimento varió entre 3,000 y 23,400 µg/kg. En Nueva Zelanda, la zearalenona y los tricotecenos presentes en los pastos se han asociado con problemas reproductivos en ovinos y vacunos (Van Egmond *et al.*, 2007).

En un estudio en México se evaluó la capacidad de inhibición del efecto hiperestrogénico en cerdas jóvenes alimentadas con dietas experimentalmente contaminadas con zearalenona, T-2, deoxinivalenol y fumonisinas durante 4 semanas. El consumo de una dieta conteniendo 750 µg/kg de zearalenona ocasionó un incremento de más del 400% en el

tamaño del tracto reproductivo de las cerdas y alterando gravemente su salud (Márquez, 2010).

Para zearalenona se han reportado efectos negativos en cerdos jóvenes, principalmente reproductivos desde 1,000 µg/kg, también se relacionó a esta micotoxina con infertilidad y bajo desarrollo en bovinos, las aves fueron relativamente resistentes y sólo se produjeron disturbios considerables en algunos casos (Pérez *et al.*, 2008).

### **5.2.2 Presencia por tipo de micotoxinas y por año en muestras contaminadas o positivas recibidas en el CAM (período 2011 a 2015)**

El Cuadro 4, muestra la presencia, el % de positivos, la concentración media de muestras positivas, y el intervalo de concentración mínima y máxima de por tipo de micotoxina de muestras de alimentos por año. Los resultados analizados expresan la gran variabilidad de datos que existe para cada año, y tipo de micotoxina, además, dejan en evidencia que existe una presencia de micotoxinas considerable, y el riesgo de que se pueda producir una micotoxicosis está latente.

La producción de micotoxinas puede deberse a los cambios constantes que existen en la humedad relativa en el ambiente en función de la zona geográfica y la época del año, que ayuda al desarrollo de nuevos hongos toxicogénicos (Pérez *et al.*, 2008), o al empleo de medidas preventivas o correctivas por parte del sector agropecuario.

En la Figura 14, expresa el número de determinaciones positivas, por tipo de micotoxina y por año, es una representación por segmentos proporcionales a la presencia de determinaciones positivas, en comparación entre una micotoxina y otra dentro del mismo año. Como podemos observar en la Figura 7 y 13, el porcentaje de recepciones por año ha venido a la baja, en consecuencia, el número de muestras positivas que se pueden obtener en proporción a ello, también ha sido menor. En el 2011, las micotoxinas con mayor presencia en el total de muestras positivas fueron las fumonisinas y las zearalenonas, seguidos de cerca por las aflatoxinas y en un pequeño porcentaje por ocratoxina A. En 2012, el comportamiento de la presencia de muestras positivas fue muy similar, sin embargo, a partir de este año ya no se reportó presencia de ocratoxina A en el alimento. En 2013 aflatoxinas,

fumonisinias y zearalenona estuvieron presentes en el alimento, sin embargo, la proporción de muestras positivas de fumonisina en comparación con las demás muestras fue mucho mayor.

**Cuadro 4.** Presencia de micotoxinas en alimentos, por año y tipo de micotoxina (aflatoxinas totales, fumonisina, ocratoxina A y zearalenona)

Micotoxinas	Año				
	2011	2012	2013	2014	2015
<b>Aflatoxinas</b>					
<i>Presencia</i>	12/80	8/82	3/58	6/64	1/40
<i>% positivas</i>	15	9.8	5.2	9.4	2.5
CMMP ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )	21	23.6	36.7	24.0	10.24
<i>Mín-Máx</i> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	10-30.4	10.3-36.7	15-48.5	12-28.7	-
<b>Ocratoxina A</b>					
<i>Presencia</i>	4/74	0/65	0/35	0/36	0/43
<i>% positivas</i>	5.4	0	0	0	0
CMMP ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )	88.8	-	-	-	-
<i>Mín-Máx</i> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	78.3-110	-	-	-	-
<b>Fumonisinias</b>					
<i>Presencia</i>	28/73	11/67	9/51	3/37	2/47
<i>% positivas</i>	38.4	16.4	17.6	8.1	4.3
CMMP ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )	7620	7672	7508	5273	5500
<i>Mín-Máx</i> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2160-55000	3800-14660	3000-20330	2330-10830	-
<b>Zearalenona</b>					
<i>Presencia</i>	7/33	13/70	1/61	0/64	2/47
<i>% positivas</i>	21.2	18.6	1.6	0	4.3
CMMP ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )	483	203	230	-	300
<i>Mín-Máx</i> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	200-1050	50-400	-	-	200-400

Presencia = relación del número de muestras positivas o contaminadas con respecto al número total de muestras evaluadas; % de positivas = porcentaje de muestras positivas con concentraciones de micotoxinas por encima del límite máximo permitido; CMMP = Concentración media de micotoxinas de muestras positivas ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ), Min-Máx =Intervalo de concentración mínima y máxima de micotoxinas en muestras positivas

En 2014, las dos toxinas presentes en las muestras positivas, fueron las fumonisinas y las aflatoxinas. Para 2015 nuevamente fumonisina, aflatoxinas y zearaleona estuvieron presentes en el número de muestras positivas en proporciones similares. Resumiendo, en todas las micotoxinas, el porcentaje de muestras positivas que excedieron los límites permitidos disminuyó de 2011 a 2015, siendo de 83.3% para aflatoxinas, 100% para ocratoxina A, 88.8% para fumonisina total y 79.7% para zearalenona.

Las concentraciones medias de aflatoxina total de muestras contaminadas, tuvieron en ascenso, de 2011 a 2013 del 74.8%, sin embargo, en 2014 y 2015 mostró un decremento de 72.1% con respecto a 2013.

El caso de Ocratoxina A es bastante particular, ya que en 2011 se recibieron 74 muestras de las cuales 4 fueron positivas, con una concentración promedio de contaminación de 88.8  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , entre un intervalo de contaminación de 78.3 y 110  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , sin embargo, y a pesar de que se siguieron recibiendo muestras en el transcurso de los años, el número de muestras contaminadas a partir de 2012, se mantuvo en cero, dejando claro que la concentración de Ocratoxina A no ha excedido los límites permitidos en las muestras recibidas de 2012 a 2015, permaneciendo constante.

El comportamiento en la concentración de fumonisinas totales en este estudio ha estado a la baja con el paso de los años, de 2011 a 2013 las concentraciones medias se mantuvieron relativamente cerca (7,600  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) muy a pesar de la disminución en el número de muestras recibidas, sin embargo, para 2014 y 2015, la concentración disminuyó un 29.1% con una concentración promedio de 5387  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ .

El comportamiento de zearalenona ha sido muy variable con el paso de los años, tanto en la recepción como en el número de muestras positivas, dejando a la vista que tal vez el interés del productor por conocer la presencia de esta toxina en su alimento es poco. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio nos dejan en evidencia su presencia. Las concentraciones que se han obtenido han sido suficientes para causar importante disturbios. De 2011 a 2012 la concentración positiva disminuyó un 58%, sin embargo, de 2012 a 2013 aumentó un 13.3%, para 2014 no se

tuvo ninguna muestra contaminada positiva, para posteriormente incrementarse a 300 µg/Kg en 2015.

No solo se ha observado un comportamiento a la baja en la recepción de muestras por año, sino también en el número de muestras contaminadas y en la disminución de las concentraciones con el paso de los años, por lo que se cree en 2016 este comportamiento prevalezca a la baja.

### **5.2.3 Presencia de micotoxinas por tipo de alimento (alimentos terminados y materias primas) recibidos en el CAM de 2011 a 2015**

El Cuadro 5 se muestra la presencia (concentraciones promedio de muestras que exceden los límites permisibles para su consumo), porcentaje de muestras positivas, concentración media de muestras positivas (CMMP) y el intervalo mínimo y máximo de micotoxinas en muestras positivas de cada micotoxina, presentes los alimentos terminados y en las materias primas. Los resultados obtenidos nos indican que el 6.8% de las materias primas no son recomendadas para su consumo y en el caso de los alimentos terminados un 10.4%.

La gran variabilidad en cuanto a los resultados obtenidos sigue siendo una constante. En el caso de ocratoxina A y zearalenona en las materias primas se obtuvieron porcentajes de 0% de muestras positivas, por otro lado en contra posición a estos valores, se obtuvieron valores alarmantemente altos de 20.2% de fumonisina en los alimentos terminados y en las materias primas de 13.5%, presentando mayores concentraciones en las materias primas. La presencia de aflatoxinas totales en las materias primas con 12.1% y alimentos terminados con 8.6% representa un grave riesgo para la salud pública, debido a que las concentraciones de aflatoxinas presentes en el alimento se biotransforman en el rumen y pasan a la leche como aflatoxina M<sub>1</sub>. En la mayoría de los países la leche es considerada un alimento de consumo diario y representa un alto riesgo para la salud pública su consumo en mal estado.



**Cuadro 5.** Presencia de micotoxinas por tipo de alimento (materia prima y alimento terminado) (período de 2011 a 2015)

<b>Materias Primas</b>				
<b>Micotoxina</b>	<b>Presencia</b>	<b>% Positivas</b>	<b>CMMP (µg/kg)</b>	<b>Mín-Máx (µg/kg)</b>
Aflatoxinas totales	8/66	12.1	23.2	10.2-48.5
Ocratoxina A	0/25	0	-	-
Fumonisina total	5/37	13.5	11606	5500-20330
Zearalenona	0/62	0	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>13/190</b>	<b>6.8</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Alimentos Terminados</b>				
<b>Micotoxina</b>	<b>Presencia</b>	<b>% Positivas</b>	<b>CMMP (µg/kg)</b>	<b>Min-Máx (µg/kg)</b>
Aflatoxinas totales	20/258	8.6	22.5	10-46.7
Ocratoxina A	4/228	1.8	88.7	78.3-110
Fumonisina total	48/238	20.2	6960.6	2160-55000
Zearalenona	23/213	10.8	295.2	140-1050
<b>TOTAL</b>	<b>98/937</b>	<b>10.4</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

Presencia = relación del número de muestras positivas o contaminadas con respecto al número total de muestras evaluadas; % de positivas = porcentaje de muestras positivas con concentraciones por encima del límite máximo permisible; CMMP = Concentración media de micotoxinas de muestras positivas (µg/Kg), Min-Máx =Intervalo de concentración mínima y máxima de micotoxinas en muestras positivas

#### **5.2.4 Presencia de micotoxinas en alimentos por especie recibidas en el CAM de 2011 a 2015.**

En el Cuadro 6, se presenta la presencia de micotoxinas (número de determinaciones que exceden los límites permisibles para consumo con respecto al número de determinaciones totales para cada tipo de micotoxina), el % de positivos, la concentración media, y el intervalo de concentración mínimo y máximo por especie, a excepción de los borregos donde el número de determinaciones fue muy pequeño y poco representativo (aves, bovinos y cerdos).

**Cuadro 6.** Presencia de micotoxinas en alimento destinado a diferentes especies (período 2011-2015)

Especie	Micotoxinas			
	Aflatoxinas	Ocratoxina A	Fumonisina	Zearalenona
<b>Bovinos</b>				
Presencia	24/124	0/53	14/72	8/121
% positivos	19.4	0	19.4	6.6
CMMP (µg/kg)	24.4	-	9026	491
Mín-Máx (µg/kg)	10-48.5	-	5300-20330	290-1050
<b>Aves</b>				
Presencia	6/107	4/104	37/105	0/51
% positivos	5.6	3.8	35.2	0
CMMP (µg/kg)	20.1	58.8	6786	-
Mín-Máx (µg/kg)	13.7-25	78.3-110	2160-55000	-
<b>Cerdos</b>				
Presencia	0/87	0/90	2/92	15/94
% positivos	0	0	2.2	16
CMMP (µg/kg)	-	-	7335	143
Mín-Máx (µg/kg)	-	-	5500-9170	50-230

Presencia = Concentración de micotoxinas que exceden los límites permisibles, % de positivas = porcentaje de muestras positivas con concentraciones de micotoxinas por encima del límite máximo permitido; CMDP = Concentración Media de Determinaciones Positivas (µg/Kg), Min-Máx = Concentración mínima y máxima de micotoxinas en muestras contaminadas

El alimento de los bovinos presenta mayor porcentaje de muestras positivas de aflatoxinas totales (19.4%), en segundo lugar de fumonisina total (19.4%) y por último de zearalenona (6.6%). El alimento para las aves mostró mayor porcentaje de muestras positivas de fumonisina total (35.2%), en segundo lugar de aflatoxinas totales (5.6%) y por último de ocratoxina A (3.8%). El alimento para cerdos mostró mayor porcentaje de muestras positivas de zearalenona (16%) seguido fumoniosina total (2.2%). Puede deberse a que por lo general son los productores de bovinos, los que piden conocer las aflatoxinas totales presentes en su alimento, sin embargo, en algunos de los casos el productor decide hacer un análisis completo de los componentes nocivos, presentes en su alimento.

La presencia de contaminación positiva por ocratoxina A en alimento para bovinos y cerdos fue prácticamente inexistente. Los productores de aves, tienen un importante interés en conocer las concentraciones de ocratoxina A, ya que puede actuar por si sola o combinarse con otra micotoxina, lo que potencializaría los efectos adversos en la salud animal, caso específico de las aves, lo que ocurre cuando la toxina T2 actúan en conjunto de DON, representando pérdidas económicas (Grupo Biotecap, 2014).

Fumonisina está presente en los alimentos de todas las especies, principalmente para aves, seguida para bovinos y por último para cerdos.

Para zearalenona el alimento para cerdos fue el que presentó un mayor número de muestras contaminadas, seguida para bovinos; en aves no se encontraron alimentos contaminados con zearalenona. Los problemas reproductivos de las cerdas asociados a la presencia de zearalenona en el alimento, no son novedad para el productor, el interés en capturar a las micotoxinas y mitigar el efecto hiperestrogénico que tienen es inminente (Márquez, 2010).

Las muestras que exceden los límites permisibles de aflatoxinas totales en los bovinos fueron del 19.4%. Según los resultados obtenidos y presentados en el Cuadro 6, con una concentración media de muestras positivos de 24.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y entre un intervalo de 10 y 48.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , deja en evidencia que la contaminación del alimento existe y es un riesgo potencial para el animal y un riesgo enorme para la salud pública por la diseminación de las toxinas en la leche y carne, y subproductos. Sin embargo, las aflatoxinas totales, no son las únicas que están presentes en el alimento, también existe la presencia de fumonisina y zearalenona, y juntas pueden agravar los daños a la salud del animal.

El porcentaje de muestras positivas de aflatoxinas totales de alimento para aves, es de 5.6%, con una concentración media de muestras positivas de 20.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y un intervalo de 13.7 y 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Cuadro 6).

El Cuadro 6 se observa que a pesar de que se recibieron un número considerable de muestras para bovinos y cerdos, no se obtuvo porcentajes de muestras positivas de ocratoxina A, dejando claro que esta micotoxina, al menos en este estudio, no tiene contaminación del alimento desde 2012. Sin

embargo, en aves en el 2011 su presencia fue de 3.8%, con una concentración media de muestras positivas de 58.8 µg/kg, con un intervalo de 78.3 y 110 µg/kg.

Por otra parte se han reportado escasos estudios sobre las concentraciones de ocratoxinas en México, sin embargo, a pesar de ello, exhiben la problemática con valores de >62.5 µg/Kg, la concentración obtenidos en el presente trabajo fue de 58.8 µg/Kg en alimentos del sector avícola (Robledo *et al.*, 2012).

En el caso de fumonisina el mayor número de determinaciones positivas se obtuvieron en aves, representando un 35.2%, con una concentración promedio de 6,786 µg/Kg, para bovinos se obtuvo un 19.4%, con una concentración promedio de 9,026 µg/Kg y para cerdos sólo el 2.2%, con una concentración promedio de 7,335 µg/Kg. A pesar de que en algunos casos su presencia no fue tan significativa, existe en todas las especies, y concentraciones mínimas pueden ocasionar severos y preocupantes disturbios.

Mallmann *et al.*, (2007) estiman que aproximadamente el 41% de las muestras de maíz a nivel mundial están contaminadas con fumonisinas. Los resultados de este análisis arrojan resultados de contaminación en el alimento (materias primas y alimentos terminados) de 19.4% en bovinos y en aves un preocupante 35.2%, sin embargo la literatura reporta casos en México de hasta el 25% o más, de muestras contaminadas con fumonisinas en ponedoras.

En México en 1991 se reportaron niveles alarmantes de contaminación del alimento con zearalenona, con un 17% de las muestras que excedieron el límite de 100 µg/Kg y 2.4% con niveles entre 250 y 1,000 µg/Kg. En el presente estudio no se obtuvieron concentración de zearalenona para aves, sin embargo, en el caso de los bovinos, el 6.6% de las determinaciones es positiva, con una concentración promedio de 491 µg/Kg, entre un intervalo de 290 y 1,050, bastante parecido al reportado (Medina *et al.*, 2013).

En los cerdos se obtuvo un porcentaje de positivos de 16%, con una concentración promedio de 143 µg/Kg, entre un intervalo de 50 y 230 µg/Kg. Robledo *et al.*, (2012) reportan porcentajes de hasta 15% de

determinaciones que sobrepasan los límites permisibles en maíz forrajero en para zearalenona el estado de Nayarit, muy similar al porcentaje obtenido en este análisis.

En maíz cultivado en la región Altos Sur de Jalisco, se analizaron muestras de zearalenona, las muestras tuvieron una presencia de 11.8% por medio de ELISA, 10.3% por HPLC y 8.4% por inmunoafinidad. Con niveles de concentración que superan los recomendados por la Unión Europea (2,000 µg/kg), en México no existe regulación para estas micotoxinas (Patricio *et al.*, 2016).

#### **5.2.5 Presencia de micotoxinas en alimentos por estado de la república mexicana recibidas en CAM (período 2011 a 2015)**

Las muestras de micotoxinas fueron organizadas en seis categorías de acuerdo al número de muestras recibidas de cada estado, 5 de los estados se agrupan de manera independiente (Aguascalientes, Coahuila, Jalisco, Querétaro y Sonora) y un sexto grupo “otros” incluye al resto de los estados (Chiapas, Guanajuato, Puebla, Morelos, Nuevo León y Veracruz).

En el Cuadro 7, se muestra la presencia, el % de positivos, la CMMP y el intervalo de concentraciones positivas por tipo de micotoxina y por estado de la República Mexicana. La presencia de micotoxinas en los alimentos destinados al consumo animal es notoria, principalmente en los estados de Aguascalientes, Coahuila y Sonora.

El estado con mayor porcentaje de muestras positivas de aflatoxinas totales fue el estado de Coahuila con 28.9% (Figura 14), con una CMMP de 24.2 µg/Kg, seguido del estado de Aguascalientes con 27.3% de muestras positivas y una CMMP de 30.7 µg/Kg. Los estados con menor porcentaje de muestras positivas fueron los estados de Jalisco con 3.6% (Figura 14), con una CMMP de 13.6 µg/Kg y Querétaro con 3.5% de muestras positivas, con una CMMP de 19.9 µg/Kg. En cuanto a CMMP, Aguascalientes mostró la mayor concentración y Jalisco la menor.

Los estados con mayor número de determinaciones positivas de ocratoxina A, fueron el estado de Sonora con 5.1% (Figura 14), con una concentración promedio de 81.7 µg/Kg, seguido del estado de Jalisco con

2%, y una concentración promedio de 110 µg/Kg. Los demás estados no tuvieron determinaciones positivas.

**Cuadro 7.** Presencia de micotoxinas por zona geográfica de México (período 2011 a 2015).

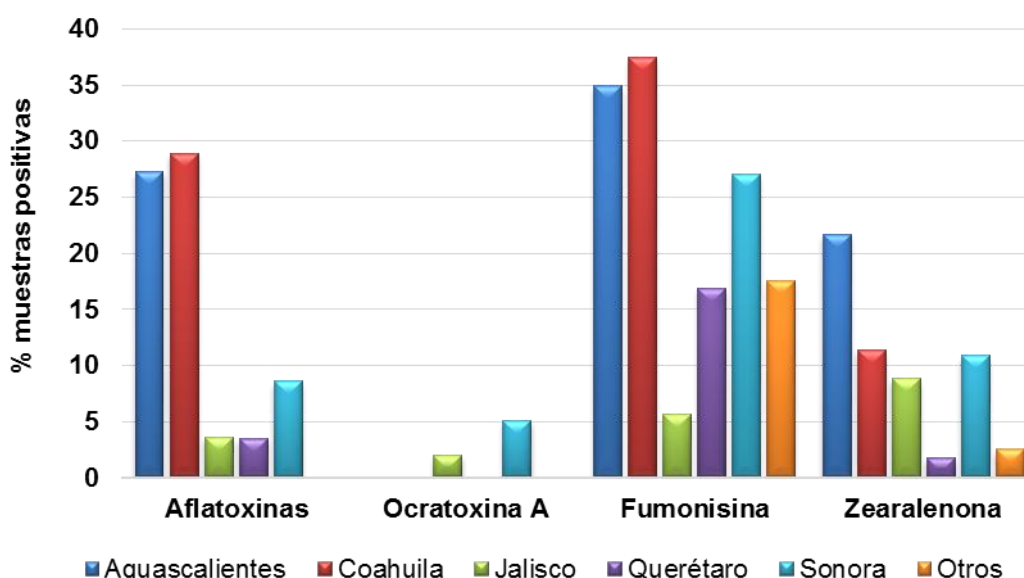
Estados	Micotoxinas			
	Aflatoxinas	Ocratoxina A	Fumonisin	Zearalenona
<b>Aguascalientes</b>				
Presencia	6/22	0/17	7/20	5/23
CMMP (µg/kg)	30.7	-	7484	294
Mín-Máx (µg/kg)	10-48.5	-	5300-12000	50-640
<b>Coahuila</b>				
Presencia	13/45	0/10	3/8	5/44
CMMP (µg/kg)	24.2	-	9107	336
Mín-Máx (µg/kg)	10.3-46.7	-	5660-14660	290-400
<b>Jalisco</b>				
Presencia	2/56	1/49	3/54	5/57
CMMP (µg/kg)	13.6	110	3773	204
Mín-Máx (µg/kg)	12.2-15	-	2330-6330	160-230
<b>Querétaro</b>				
Presencia	3/85	0/76	15/89	1/56
CMMP (µg/kg)	19.9	-	4457	400
Mín-Máx (µg/kg)	10.2-24.7	-	2200-10830	-
<b>Sonora</b>				
Presencia	6/70	3/59	19/70	6/55
CMMP (µg/kg)	20.1	81.7	9837	195
Mín-Máx (µg/kg)	13.7-25	78.3-86.7	2800-55000	110-300
<b>Otros</b>				
Presencia	0/46	0/42	6/34	1/40
CMMP (µg/kg)	-	-	7393	1050
Mín-Máx (µg/kg)	-	-	2160-16700	-

Presencia = relación del número de muestras positivas o contaminadas con respecto al

número total de muestras evaluadas; CMMP = Concentración media de micotoxinas de muestras positivas ( $\mu\text{g/Kg}$ ), Min-Máx =Intervalo de concentración mínima y máxima de micotoxinas en muestras positivas

Los estados de México con mayor porcentaje de muestras positivas de fumonisinas, fueron los estados de Coahuila con 37.5% (Figura 14), con una CMMP de 9,107  $\mu\text{g/Kg}$ , seguido del estado de Aguascalientes con 35% de muestras positivas, y una CMMP de 7,484  $\mu\text{g/Kg}$ , y Sonora con 27.1% de muestras positivas, con una CMMP de 9,837  $\mu\text{g/Kg}$ . Jalisco fue el estado con menor porcentaje de muestras positivas con 5.6% y una CMMP de 3,773  $\mu\text{g/Kg}$ . En cuanto a CMMP, Sonora mostró la mayor concentración y Jalisco la menor.

Los estados con mayor porcentaje de muestras positivas de zearalenona, fueron los estados de Aguascalientes con 21.7%, con una CMMP de 294  $\mu\text{g/Kg}$ , seguido del estado de Coahuila con 11.4% de muestras positivas, y una CMMP de 336  $\mu\text{g/Kg}$ , y Sonora con 27.1% de muestras positivas, con una CMMP de 195  $\mu\text{g/Kg}$ . Querétaro fue el estado con menor porcentaje de muestras positivas con 1.8% y una CMMP de 400  $\mu\text{g/Kg}$ , y “otros” estados, que tuvieron 2.5% de muestras contaminadas y una CMMP de 1,050  $\mu\text{g/Kg}$ .



**Figura 14.** Porcentaje de positivos por tipo de micotoxina y por zona geográfica de México

Pérez *et al.* (2008) afirman que el patrón de presencia de micotoxinas depende de la procedencia, es decir, la región donde se originó el alimento. Países más cálidos, tienen una mayor presencia de aflatoxinas, mientras que los países más templados, muestran un patrón de contaminación totalmente diferente, con una mayor prevalencia de los B-tricotecenos. Todos los productos están en riesgo de ser contaminados por estos metabolitos secundarios de mohos.



## **VI. CONCLUSIONES**

1.- El número de recepciones de muestras de alimento para análisis de micotoxinas en el Centro de Análisis de Micotoxinas, ha venido a la baja, de 2011 a 2015, y se reciben más alimentos terminados que materias primas, principalmente para bovinos en lactancia, seguido para cerdos en crecimiento, lactancia y gestación; y por último para aves para finalización, seguido para crecimiento, preponderantemente del estado de Querétaro, seguido de Sinaloa y Jalisco.

2. La mayor presencia de micotoxinas en alimentos contaminados para consumo animal fue de fumonisinas totales, seguida de aflatoxinas y zearalenona, y por último de ocratoxina A, mayormente en alimentos terminados (10.4%) que en materias primas (6.8%). Sin embargo, la presencia y concentración de las diferentes micotoxinas en los alimentos va a la baja con respecto al tiempo.

3. Los alimentos destinados para diferentes especies productivas mostraron diferencias en la presencia de micotoxinas: alimentos para bovinos mayor presencia de aflatoxina y la fumonisina total, alimento para aves mayor presencia de fumonisina total, y alimento para cerdos mayor presencia de zearalenona.

4. La procedencia de los alimentos afectó la presencia de micotoxinas: de Aguascalientes y Coahuila la mayor presencia fue de aflatoxinas totales, de Sonora de ocratoxina A, de Coahuila, Aguascalientes y Sonora de fumonisina total y zearalenona.

5. Los investigadores, profesionistas, productores e industriales del sector agropecuario deben imperiosamente poner atención en la calidad de los alimentos para consumo animal y humano, específicamente en la presencia y concentración de micotoxinas. Ya que en este pequeño diagnóstico presentado en esta tesis, se detectó la presencia de micotoxinas en alimentos para consumo animal con concentraciones altas, incluso por encima de los límites permisibles para su consumo. Los resultados obtenidos demostraron que la presencia de los cuatro diferentes tipos de micotoxinas existe con concentraciones que representan un importante riesgo para la salud animal como en humanos que consumen los productos derivados de éstos.

## **VII. RECOMENDACIONES**

*Con base a los resultados obtenidos en este trabajo, se enumerarán algunas recomendaciones para el Centro de Análisis de Micotoxinas de la FCN de la UAQ:*

1. Se debe de tener control en la toma y envío de muestras por parte de los productores, dándoles a conocer la forma de tomar y enviar las muestras para ser representativas del lote, así como de conservarse inalterables durante el envío.
2. Se debe de tener control en la recepción del alimento, solicitando al productor indique con claridad el origen y tipo de la muestra, si es materia prima o alimento terminado para que especie y etapa productiva.

*Con base a los resultados obtenidos en este trabajo, se enumerarán algunas recomendaciones a nivel nacional en el sector agropecuario y en la salud pública:*

1. Es necesario mejorar y actualizar la información disponible en México en el área de las micotoxinas y la inocuidad alimentaria, la aplicación de la información y datos actualizados beneficiarán a la salud animal y a la salud pública.
2. Actualmente no se cuenta en México con un organismo que se encargue específicamente de la regulación directa o indirecta de las micotoxinas, esta situación obstaculiza el tener la información necesaria y confiable para hacer un análisis adecuado de la problemática.
3. Es importante tener en cuenta que una mayoría de las materias primas y de alimentos terminados empleados en la alimentación animal son importados de otros países, y que no sabemos si cumplen con los requisitos de calidad y las condiciones del transporte que den lugar a un aumento en la contaminación por micotoxinas.

## VIII. LITERATURA CITADA

- Abdulkadar A.H.W., Al A.A., Al-K.A.M., Al J.J.H. 2004. Mycotoxins in food products available in Qatar. *Food Control*. 15, 543-548.
- Akesson T. 2012. anteproyecto de niveles máximos para el deoxinivalenol (don) en los cereales y los productos a base de cereales y planes de muestreo asociados (en el trámite 3) incluida la posible revisión del código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas (cac/rcp 51-2003). Recuperado en 14/10/14 en [ftp://193.43.36.92/codex/Meetings/CCCF/cccf6/cf06\\_09s.pdf](ftp://193.43.36.92/codex/Meetings/CCCF/cccf6/cf06_09s.pdf).
- Arellano L.J. 2003. Métodos de determinación, identificación y control de micotoxinas en ingredientes para la nutrición animal. Asociación Mexicana de Nutrición Animal. Recuperado 15/10/14 en <http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/metodos-determinacion-identificacion-control-t300/p0.htm>
- Austwick P.K.C. 1978. Environmental aspects of *Mortierella wolfii* infection in cattle. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 19, 25-33.
- Bhat R.V., Vasanthi S. 1999. Contaminación por micotoxinas de alimentos y piensos: situación general, incidencia y efectos económicos sobre la disponibilidad de alimentos, comercio, exposición de los alimentos de granja y pérdidas económicas conexas. In *Contaminación por micotoxinas de alimentos y piensos: situación general, incidencia y efectos económicos sobre la disponibilidad de alimentos, comercio, exposición de los alimentos de granja y pérdidas económicas conexas*. Tercera Conferencia Internacional FAO/WHO/PMA sobre micotoxinas. Túnez, Túnez. 3-6 marzo 1999.
- Bellí, N., Marín, S., Sanchís, V., Girona, A.J.R. 2005. Presencia de ocratoxina A en vinos y derivados de uva. *ANS*. 12, 113-118.
- Berthiller F., Burdaspal P.A., Crews C., Iha M.H., Krska R., Lattanzio V. M.T., Whitaker T.B. 2014. Developments in mycotoxin analysis: an update for 2012-2013. *WMJ*. 7, 3-33.
- Bhatnagar D., Perrone G., Visconti A. 2008. The MycoGlobe project: a European Union funded successful experiment in enhancing cooperation and coordination amongst mycotoxin researcher's worldwide. *WMJ*. 1, 493-500.

- Bolet A.M., Socarrás S.M. 2005. Micotoxinas y cáncer. Rev Cubana Invest Biomed, 24, 54-59.
- Bryden W.L., Li X., Ravindran G., Hew L.I., Ravindran V. 2009. Ileal digestible amino acid values in feedstuffs for poultry. RIRDC. 9, 71-76.
- Bryden, W.L. 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. Anim. Feed Sci. Tech. 173, 134– 158.
- Campabadal C. 1993. Las micotoxinas, un serio problema en la avicultura. Asociación Americana de Soya (México). 122. 1-13.
- Cano S.G., Marin S., Ramos A.J. Peris-Vicente J., Sanchis V. 2010. Occurrence of aflatoxin M 1 and exposure assessment in Catalonia (Spain). Rev. Iberoam. Micol, 27, 130-135.
- Carrillo L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de Salta. Ciudad de Salta, Argentina.
- Cascante P.R., Munguía R.J., Fierro J.A., Medina J.C. Detección de micotoxinas en alimento balanceado y granos utilizados en las dietas de cerdos en México, durante el período 2010 a 2014. Investigación aplicada S.A.de C.V, Laboratorio de Química Nutek. Centro Tehuacán Puebla, México.
- Castañeda, M., y Abril, C. 2015. Factores de riesgo asociados con la ocurrencia de la AFM<sub>1</sub> en la leche cruda de vaca en establos de la región el Llano, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Agropecuarias. Aguascalientes, Aguascalientes.
- Cepeda L.M. 1970. Determinación de aflatoxinas y aislamiento de *Aspergillus flavus*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma de Puebla, Escuela de Ciencias Químicas. Puebla, Puebla.
- César, D. 2000. Micotoxosis. Instituto Plan Agropecuario. Rev. Plan Agropecu, 1, 46-50.
- Chiavaro E., Lepiani A., Colla F., Bettoni P., Pari E., Spotti E. 2002. Ochratoxin A determination in ham by immunoaffinity clean-up and a quick fluorometric method. Food Addit. Contam. 6, 575-588.
- Chichizola C. 2003. Disruptores endocrinos. Efectos en la reproducción.

RAEM.40, 172-188.

- Chiotta, M. L., Chulze, S., Barros, G. 2015. Fuentes de inóculo de especies de *Fusarium* potenciales productoras de micotoxinas en el agroecosistema soya. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 47, 171-184.
- Codex Alimentarius. 2012. Prevention and reduction of food and feed contamination. World Health Organization Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- De Lourdes R.M., Marín S., Ramos A.J. 2001. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Rev. Iberoam. Micol.*, 18, 141-144.
- De Araújo D.R., Almeida F.D.A.C., Gomes J.P., Neto A.F., Alves N.M.C. 2015. Incidencia de hongos y producción de aflatoxina en semillas de maní crioconservadas. *Rev. Iber. Tecnol Postcosecha*. 16, 136-147.
- Denli M., Pérez J.F. 2010. Ochratoxins in feed, a risk for animal and human health: control strategies. *Toxins*. 2, 1065-1077.
- Duarte V.S., Villamil J.L.C. 2006. Micotoxins in public health. *Rev. Salud Pública*. 8, 129-135.
- EFSA. 2004: Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B<sub>1</sub> as undesirable substance in animal feed, *EFSA Journal*. 39, 1- 27.
- ELIKA. 2013. Sustancias indeseables en la alimentación animal. 1, 1- 12. Recuperado el 16/3/15 en [http://www.elika.net/datos/pdfs\\_agrupados/Documento15/aflatoxina%20%20web.pdf](http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento15/aflatoxina%20%20web.pdf).
- FAO/WHO. 2011. Summary and conclusions of the sixty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 63, 1-18.
- Fokunang C.N., Tembe F.E.A., Tomkins P., Barkwan S. 2006. Global impact of mycotoxins on human and animal health management. *Outlook on Agriculture*. 35, 247-253.
- Galvano F., Galofaro V., Galvano G. 1996. Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products: A worldwide review. *J Food Prot*. 59, 1079-90.

- García S., y Heredia, N. 2006. Mycotoxins in Mexico: Epidemiology, management, and control strategies. *Mycopathologia*. 162, 255-264.
- Gimeno A.; Martins M.L. 2003. Análisis de riesgo de las más relevantes micotoxicosis en humanos. I Symposium Paramericano de Micotoxinas para la Industria, 1 al 4 de Abril de 2003 en Ciudad de México (Libro del Symposium). Ciudad de México, México. Especial Nutrients Inc.
- Gimeno, A. 2014. Micotoxinas en la salud avícola. Su impacto en la salud humana: Prevención y control. 1, 55-65.
- Grupo Biotecap. 2014. Micotoxinas en producción avícola. Boletín técnico de grupo Biotecap, línea aves. 1, 1-3. Recuperado de <http://www.biotecap.com.mx/aves/Micotoxinas%20en%20Producci%C3%B3n%20Avicola.pdf>
- Gutiérrez R., Vega S., Pérez J.J., Ruiz J.L., Yamazaki A., Rivera J.G., Escobar A. 2013. Evaluación de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche orgánica producida en Tecpatán, Chiapas, México. *Revista de Salud Animal*. 35, 33-37.
- Hansen, T.J. 1990. Affinity column cleanup and direct fluorescence measurement of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk. *J. Food Protect.* 1, 75-77.
- Hernández S.J.R., Estrada, G.J., Estrada F.G., Ortega S.J.L., Castro F.R., Bautista C.C. 2009. Micotoxinas y micotoxicosis en el ganado porcino. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*. 8, 263-269.
- Huff W.E., Harvey R.B., Kubena L.F., Rottinghaus G.E. 1988. Toxic synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. *Poultry Science*. 67, 1418-1423.
- Hussein H., Brasel J. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. 167,101-134
- IARC, International Agency for Research on Cancer, 2002, monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, France. Press Lyon France.
- Jaramillo M.A. 2014. Sinergismo y Antagonismo entre Micotoxinas y sus Efectos en Pollos de Engorde. Recuperado 10/2/15 de <http://www>.

engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/aditividad-sinergismo-antagonismo-entre-t972/p0. Htm.

- Kabak B., Dobson A.D., Var I. 2006. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 46, 593-619.
- Landeros P.N.M., López Y., González D.G., Noa E., Real M. 2012. Niveles de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche cruda y pasteurizada comercializada en la Zona Metropolitana de Guadalajara, México. *Rev Salud Anim.* 34, 40-45.
- Lepe J.A.S. 2007. Alteraciones del vino por micotoxinas y seguridad alimentaria. *ACE: Revista de enología.* 78, 3.
- Leeson S., Díaz G.G.J., Summers J.D. 1995. Poultry metabolic disorders and mycotoxins. Recuperado 12/04/2015 en <http://lib.ugent.be/catalogo/rug01:000376307>
- Li X., Zhao L., Fan Y., Jia Y., Sun L., Ma S., Zhang J. 2014. Occurrence of mycotoxins in feed ingredients and complete feeds obtained from the Beijing region of China. *J Anim Sci Bio.* 5, 2-8.
- Lubulwa A.S.G., Davis J.S. 1994. Estimating the social costs of the impacts of fungi and aflatoxins. *Stored Products Protection, Proceedings of the 6th International Working Conference in Stored-Product Protection, National Convention Center.* 2, 17-23.
- Luque C.A. 2015. Seguridad Alimentaria. Organismos competentes. Una mirada que parte de Europa y llega a España e Italia. (Trabajo fin de grado). Universidad de La Laguna, Facultad de Ciencias, Sección de Biología, España.
- Malla B.A.C., Saula L.S.V. 2016. Determinación del metabolito tóxico aflatoxina M<sub>1</sub> en leches cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada consumidas en la ciudad de Cuenca mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). (Tesis de Licenciatura). Universidad de la Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas. Cuenca, Ecuador.

- Mallmann C.A., Dilkin P., Zanini L., Hummes R., Pereira C. 2007. Micotoxinas en ingredientes para alimento balanceado de aves. En Congreso Latinoamericano de avicultura. 20, 191-204.
- Márquez M.R.N., 2010. Efecto protector contra la toxicidad de la zearalenona en Cerdas alimentadas con dietas contaminadas por la Inclusión de enteroadsorbentes de micotoxinas. Recuperado en 2/12/15 en <http://www.engormix.com/MA-porcicultura/sanidad/articulos/efecto-protector-contra-toxicidad-t2966/p0.htm>
- Medina J.C., Castillo E., Muñoz J., Romero M. 2013. Problemas en la cuantificación de micotoxinas y niveles de contaminación en México. Recuperado 2/2/15 en <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S14.htm>.
- Mejía T.L., Chapa O.A.M., Vázquez C.M.A., Torres P.I., Guevara G.R. G. 2011. Aflatoxins Biochemistry and Molecular Biology - Biotechnological Approaches for Control in Crops. In Aflatoxins - Detection, Measurement and Control. Recuperado 25/10/14 en: <http://www.intechopen.com/books/aflatoxins-detection-measurement-and-control>
- Miller J.D. 1995. Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. J Stored Prod Res. 31, 1-18.
- NOM Norma. Oficial. Mexicana. 2002. 188-SSAI-2002. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Recuperada en Octubre de.2015
- Ortiz C.M.F., Medrano J.V., Portilla L.B.H. 2006. Contaminación con micotoxinas en alimento balanceado y granos de uso pecuario en México en el año 2003. Técnica Pecuaria en México. 44, 247-256.
- Palacios B., Mejía C., Soledad L.B., Del Rosario F.M. 2014. Identificación y cuantificación de hongos productores de aflatoxinas en insumos de alimentos balanceados para aves-Huacho 2010. 2, 12-17.
- Patricio, S., Pereyra, C., González, M. L., Cavaglieri, L., y Dalcerro, A. 2016. Aflatoxinas, deoxinivalenol y zearalenona en rastrojo de maíz cosechado en Tepatitlán, Jalisco. Revista Bio Ciencias. 4, 3-14.



- Pereyra S., Dill M.R. 2010. Fusarium species recovered from wheat and barley grains in Uruguay, pathogenicity and deoxynivalenol content. *Agrociencia Uruguay*. 14, 33-44.
- Pérez, J., Gutiérrez, R., Vega, S., Díaz, G., Urbán, G., Coronado, M., y Escobar, A. 2008. Ocurrencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leches cruda, ultrapasteurizada y orgánica producidas y comercializadas en el Altiplano Mexicano. *Revista de Salud animal*. 30, 103-109.
- Perusia O.R., Rodríguez R. 2001. Micotoxicosis. *Rev. Investig. Vet. Perú*. 12, 87-116.
- Pestka, J.J. 2007. Deoxynivalenol: toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal Feed Sci Technol*. 137, 283-298.
- Polovinski H.M.S., Jurić V.B., Glamočić D. 2009. The frequency of occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk on the territory of Vojvodina. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*. 116, 75-80.
- Prado G.; Oliveira M.S., Abrantes F.M., Santos L.G., Veloso T., Barroso R.E.S. 2000. Incidência de ocratoxina A em café torrado e moído e em café solúvel consumido na cidade de Belo Horizonte, MG. *Cienc. Technol. Aliment*. 20, 192-196.
- Padrón M., Yuef H., Hernández D.S., Reyes M.C.A., y Vázquez C.G. 2013. El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 31, 126-146.
- Requena F., Saume E., León A. 2005. Micotoxinas riesgos y prevención., Riesgos y prevención. *Zootecnia Trop (online)*, recuperado 9/12/14 en [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-72692005000400005](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692005000400005). 23, 393-410.
- Resnik S.C.M.L., Pacin A. 1995. Mycotoxins in Latin America and the Caribbean. *Food Control*. 6, 19-28.
- Reyes W, Patricio S, Isaías V, Nathal M, De Lucas E, Rojo F. Aflatoxinas totales en raciones de bovinos y AFM<sub>1</sub> en leche cruda obtenida en establos del estado de Jalisco, México. *Téc Pec Méx*. 47, 223-230.
- Robledo M.M.L., Rojas G.A.E., Medina D.I.M., Barrón V.B.S., Romero B.C. A., Rodríguez C.C.H., Girón P.M.I. 2012. Micotoxinas en Nayarit, México: Estudio de casos. *Revista Bio Ciencias*. 2, 92-98.

- Roig P.M. 2013. Descontaminación de micotoxinas emergentes mediante el procesado de alimentos. (Tesis Doctoral). Universidad de Valencia, Facultad de Medicina. Valencia, España.
- Rosiles M.R., Bautista J., Fuentes V.O., Ross F. 1998. An outbreak of equine leukoencephalomalacia at Oaxaca, Mexico, associated with fumonisin B<sub>1</sub>. *Zentralbl Veterinarmed A*. 45, 299-302.
- Serrano C.H.A., Cardona C.N. 2015. Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *CES Medicina*. 29, 143-151.
- Serrano S.A.B. 2015. Risk assessment of mycotoxins in cereals. (Tesis Doctoral). Universidad de Valencia, Facultad de Medicina. Valencia, España.
- Solé M.D.C.M., Espadalé R.M.A., Aubert A.C. 1992. NTP 351: Micotoxinas (aflatoxinas y tricotecenos) en ambientes laborales. Recuperado de [http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/301a400/ntp\\_351.pdf](http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/301a400/ntp_351.pdf).
- Soriano D.J.M. 2007. Micotoxinas en alimentos. Santiago De Compostela, España. Ediciones Díaz de Santos.
- Speijers G.J.A., Speijers M.H.M. 2004. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology letters*. 153, 91-98.
- Stoev S.D., Vitanov S., Anguelov G., Petkova B.T., Creppy E.E. 2001. Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a diet containing ochratoxin A and penicillic acid. *Veterinary Research Communications*. 25, 205-223.
- Tapia S.M., García P.O.D., Velásquez S.R.A., Nieto L.M.G., Villarreal C.D., Ricque M.D., Cruz S.L.E. 2012. Growth, feed intake, survival, and histological response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* feed diets containing grains naturally contaminated with aflatoxin. *Ciencias Marinas*. 38, 491-504.
- Tepox P.M.A., Cascante P.R., Munguía R.J, Fierro J.A., Medina J.C. 2015. Presentación oral del tema "Detección de micotoxinas en alimento balanceado y granos utilizados en las dietas de cerdos en México, durante el período 2010 a 2014", en el XLIX Congreso AMVEC. Investigación Aplicada SA. De CV. Laboratorio de Química Nutek.\*7 norte 416, Centro. Tehuacán, Puebla. México. Recuperado de

<http://www.amvec.com/blog1/wpcontent/uploads/2015/08/33.detecci%C3%93n-de-micotoxinas-en-alimento-balanceado-y-granos-utilizados-en-las-dietas-de-cerdos-en-m%C3%89xico-durante-el-per%C3%ADodo-2010-a-2014.pdf>.

- Torres R.M.H. 2013. Contaminación por hongos. Peligro latente. Revista UABC. 4, 1-12.
- Torres S.L., López C.L. 2010. Fumonisin intake and human health. Salud pública Mex. 52, 5.
- Trucksess M.W., Stack M.E., Nesheim S., Page S.W., Albert R.H., Hansen T.J., Donahue K.F. 1990. Immunoaffinity column coupled with solution fluorometry or liquid chromatography post column derivatization for determination of aflatoxins in corn, peanuts, and peanut butter: collaborative study. J Anal Chem. 74, 81-88.
- UE. 2006. Reglamento (CE) No. 401/2006 de la Comisión de 23 de febrero de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios. DO L 70 de 9 de marzo de 2006.12-34.
- UE. 2009. Reglamento (CE) No. 1152/2009 de la Comisión de 27 de noviembre de 2009 por el que se establecen condiciones específicas para la importación de determinados productos alimenticios de algunos terceros países debido al riesgo de contaminación de dichos productos por aflatoxinas y se deroga la Decisión 2006/504/CE. DO L 313 de 28 de noviembre de 2009. 40-49.
- Urbán G., Pérez J., Martínez F., Gutiérrez R., Vega S., Coronado M., Escobar A. 2010. Aflatoxina M<sub>1</sub> en leche y queso de cabra producidos en Apaseo El Grande, Guanajuato, México. RSA. 32, 84-88.
- Van Egmond H.P., Schothorst R.C., Jonker M.A. 2007. Regulations relating to mycotoxins in food. Anal. Bioanal. Chem. 389, 147-157.
- Vásquez S.M.P. 2006. Evaluación de Aflatoxinas en suplementos para vacas lecheras en la Sabana de Bogotá, y su relación con Aflatoxina M<sub>1</sub> en leche. (Tesis Licenciatura). Universidad de la Salle, Facultad de Zootecnia. Bogotá, Colombia.
- Vega J.C.V. 2011. Cuantificación de micotoxinas más frecuentes en granos de maíz comercializados para el consumo humano en los mercados:

Central de San Salvador, Mexicanos y San Miguelito. Tesis Doctoral.  
Universidad de El Salvador. San Salvador, El Salvador,  
Centroamérica.