

EFFECTOS, PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS AFLATOXINAS QUE SE
PRODUCEN EN EL PIENSO DE AVES DE CORRAL.

Nancy Yulieth Melgarejo

Jorge Edwin Gelvez Higuera
Asesor

Trabajo presentado para optar el Título de Zootecnista

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA

Bucaramanga, Enero de 2019

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
PROBLEMÁTICA	6
JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVOS	7
OBJETIVO GENERAL	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
GENERALIDADES	7
FACTORES QUE INCIDEN EN LA FORMACIÓN.	9
Humedad.....	9
Temperatura.....	9
Ventilación o aireación.	9
Insectos y ácaros.	10
Tiempo de almacenamiento.	10
pH y Oxígeno	10
CRECIMIENTO DE HONGOS PRODUCTORES DE MICOTOXINAS.....	10
EFFECTOS PATOLÓGICOS DE LAS MICOTOXINAS EN LOS ANIMALES.....	12
MICOTOXINAS EN LA AVICULTURA	13
INCIDENCIA DE LAS MICOTOXINAS EN LA SALUD AVIAR	14
Ocratoxina, Patulina Citrinina y Aflatoxina.	14
Fumonisinias	15
Tricotecenos.....	15
Zearalenona	15
AFLATOXINAS.....	16
ANTECEDENTES GENERALES.	16
ESTRUCTURA.....	17
AGENTES PRODUCTORES	19
FACTORES DE INCIDENCIA.	20
ALIMENTOS SUSCEPTIBLES A LA ACUMULACIÓN DE AFLATOXINAS.....	21
Cereales.....	22
Leguminosas.....	22

AFLATOXINAS DETECTADAS EN ALIMENTO EN COLOMBIA Y ALGUNOS PAISES DE AMERICA LATINA.....	23
EFFECTOS DE LAS AFLATOXINAS.	25
Aflatoxinas en aves	26
Pavos	26
Gallinas ponedoras y reproductoras:.....	27
Pollos de sacrificio o engorde.....	30
PREVENCION, ANALISIS Y DESTOXIFICACION DE LA AFLATOXINA	32
Prevención	33
1 ^{ra} etapa.	33
2 ^{da} etapa.....	33
Análisis.....	33
La cromatografía en Capa Delgada o TLC.....	34
Cromatografía líquida de alta presión o HPLC.	35
Aplicación de la HPLC en Colombia.....	38
Descontaminación y detoxificación.	42
Métodos físicos	42
Métodos químicos.	43
Métodos biológicos.....	44
LEGISLACION INTERNACIONAL Y NACIONAL.....	45
Legislación internacional	45
Legislación Colombiana de micotoxinas.	48
CONCLUSIONES.....	50
RECOMENDACIONES	51
BIBLIOGRAFIA	52

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los hongos productores de micotoxinas por categorías..	11
Tabla 2. Micotoxinas encontradas en alimento para aves.....	13
Tabla 3. Características químicas de las aflatoxinas.....	18
Tabla 4. Alimentos afectados por las Micotoxinas.....	23
Tabla 5. Incidencia de aflatoxinas en alimentos en Colombia y algunos países latinos.....	24
Tabla 6. Efectos de aflatoxinas en pavos.....	27
Tabla 7. Efectos de la aflatoxina reproductoras	29
Tabla 8. Efectos de la aflatoxina en pollos de engorde.	32
Tabla 9. Niveles permisibles en alimentos por la Unión Europea.....	46
Tabla 10. Niveles permisibles por Mercosur.....	47
Tabla 11. Niveles permisibles en los alimentos asociados con la avicultura en Colombia.	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de las aflatoxinas.....	18
Figura 2. Cepa de <i>Aspergillus Flavus</i>	19
Figura 3. Mortalidad en pollos por Aflatoxicosis.	29
Figura 4. Efectos de la Aflatoxina en el hígado de Pollos de engorde.	31
Figura 5. La cromatografía en Capa Delgada	35
Figura 6. Componentes básicos de un sistema para HPLC.....	38

Agradecimientos

Mi total agradecimiento con Dios por darme la vida y la oportunidad de adquirir conocimientos para ejercer mi labor como profesional; a la universidad UNAD, por el soporte que me dio en mi proceso de formación permitiéndome adquirir nuevos conocimientos y experiencias, agradezco enormemente a cada docente que me acompañó en las diferentes etapas de mi programa académico, brindándome el acompañamiento y sus experiencias como profesionales.

Mi familia uno de los pilares más importantes es mi vida, quienes se convirtieron en mi motor y me dieron fuerzas y empuje cuando pensaba que esta meta estaba cada vez estaba más lejos. Gracias a todos y cada uno de los nombrados por que es por esa motivación y acompañamiento que me dieron en diferentes momentos de mi formación que hoy ya estoy preparada para dar cada conocimiento al servicio de la comunidad y el mundo animal.

RESUMEN

Las micotoxinas en general son metabolitos secundarios los cuales cuentan con bajo peso molecular, los cuales son producidos por hongos que infectan las cosechas en el campo y se desarrollan durante el almacenamiento en condiciones favorables de temperatura y humedad. Estos compuestos químicos son considerados seriamente como uno de los mayores contaminantes en la comida, tanto para humanos como para animales; por ende, se les han atribuido algunos desórdenes y síndromes tóxicos; los signos de intoxicación en animales son tan variados como las especies de hongos que las producen, aunque el nivel de toxicidad depende de la cantidad de toxina ingerida, el tiempo de ingestión, el tipo de animal, su edad, sexo, entre otras. Algunas micotoxinas se les asocian con el riesgo de sufrir diversos cánceres, razón por la cual se ha creado la necesidad a nivel mundial de proteger y asegurar las fuentes de alimentación de los animales.

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos principalmente por el hongo *Aspergillus flavus*. Estas toxinas han crecido en los últimos años y a su vez la necesidad de conocer cada vez más acerca de ellas, debido a su alta incidencia en los alimentos de consumo masivo y a su toxicidad. Con el fin de profundizar en el conocimiento de las aflatoxinas en las aves de corral, en esta monografía se realiza una revisión bibliográfica donde se plasma la incidencia de la aflatoxina en los piensos de las aves de corral, las cuales son las más susceptibles a los efectos de esta micotoxina en particular, su impacto sobre la salud animal, la legislación nacional e internacional de aflatoxinas totales o individual, procesos de control, prevención, descontaminación y detoxificación. La investigación en esta área ha contribuido al desarrollado de métodos físicos, químicos y biológicos de descontaminación y detoxificación de aflatoxinas.

Teniendo en cuenta lo anterior, es imperativo implementar medidas que puedan evitar el crecimiento de hongos productores de aflatoxinas, en procesos de cultivo, cosecha, recolección, almacenamiento y transporte, permitiendo así la disminución de su presencia en alimentos. Finalmente, el impacto negativo en la salud aviar, muestra la necesidad de seguir en la investigación sistemática en

Colombia, donde se pueda entender todos aquellos procesos tanto de producción como de afección de las aflatoxinas, permitiendo tener fundamentos sólidos, en donde se pueda crear mecanismos más efectivos para su prevención y control, dando la oportunidad de resarcir el daño que se viene ocasionando por este tipo de toxinas; de igual manera apoyarse en la normativas que regulen su concentración en diferentes matrices alimentarias y dando la pauta, de la necesidad de instaurar una obligatoriedad en cuanto a los niveles admisibles.

ABSTRACT

Mycotoxins in general are secondary metabolites which have low molecular weight, which are produced by fungi that infect crops in the field and develop during storage under favorable conditions of temperature and humidity. These chemical compounds are considered seriously as one of the biggest contaminants in food, both for humans and animals. Therefore, some disorders and toxic syndromes have been attributed to them; the signs of intoxication in animals are as varied as the species of fungi that produce them, although the level of toxicity depends on the amount of toxin ingested, the time of ingestion, the type of animal, its age, sex, among others. Some mycotoxins are associated with the risk of various cancers, which is why the worldwide need to protect and secure the animal's food sources has been created.

Aflatoxins considered toxic secondary metabolites produced mainly by *Aspergillus flavus*. These toxins have grown in recent years and in turn the need to know more and more about them, due to its high incidence in food for mass consumption and its toxicity. In order to deepen the knowledge of aflatoxins in poultry, in this monograph a bibliographic review is made where the incidence of aflatoxin in feed of poultry is determined, which are the most susceptible to the effects of this mycotoxin in particular, its impact on animal health, national and international legislation on total or individual aflatoxins, control processes, prevention, decontamination and detoxification. Research in this area has contributed to the development of physical, chemical and biological methods of decontamination and detoxification of aflatoxins.

Taking into account the above, it is imperative to implement measures that can prevent the growth of aflatoxin-producing fungi, in processes of cultivation, harvesting, storage and transport, thus allowing the reduction of their presence in food. Finally, the negative impact on avian health, shows the need to continue in systematic research in Colombia, where you can understand all those processes both production and aflatoxin affection, allowing to have solid foundations, where you can create mechanisms more effective for its prevention and

control, giving the opportunity to compensate the damage that is being caused by this type of toxins; likewise, rely on regulations that regulate their concentration in different dietary matrices; and giving the pattern of the need to establish a mandatory in terms of admissible levels.

INTRODUCCIÓN

La incidencia de agentes contaminantes en alimentos y materias primas para piensos con micotoxinas, es una problemática de mucha trascendencia a nivel mundial. Las micotoxinas son metabolitos tóxicos producidos por diferentes géneros de hongos, dentro los más importantes se tiene: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. En la actualidad se han descrito más de 500 tipos de micotoxinas, de las cuales sólo unas cuantas son tratadas debido al riesgo que representan para la salud humana y animal; las aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos, zearalenona, fumonisinas y alcaloides ergóticos son las micotoxinas de mayor importancia agro-económica. (Cesár, 2007)

Las aflatoxinas han sido un pilar de investigación dentro de las micotoxinas, principalmente por su gran incidencia en alimentos, dependiendo el nivel de consumo, dosis bajas, medias o altas, causan efectos tóxicos a corto plazo (agudos), como aquellos que son manifestados a los meses o años catalogados como los más comunes (crónicos). Los efectos de las aflatoxinas sobre la salud de organismos vivos son negativos, como ejemplo se tiene la aflatoxina AFB1 considerada por la *Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer* (IARC) como agente cancerígeno en animales de experimentación, resultando ser la aflatoxina de mayor importancia en la afección de la salud. Se ha revelado que al alimentar a los pollos de engorde con productos que contengan bajos porcentajes de AFB1 se puede ocasionar hepatotoxicidad y conllevar a la aflatoxicosis crónica. Dichas micotoxinas se producen en climas tropicales, donde se encuentran reunidas todas las condiciones de crecimiento de los hongos que generan esta micotoxina (Aflatoxigénicos), factores característicos como la humedad relativa y temperatura; dejando como consecuencia la contaminación de alimentos de alto consumo. (Escalona, Figueredo, Ramayo, & Ramos, 2005)

La industria avícola es el sector agrícola con más movimiento a nivel mundial ya que proporciona una de las principales fuentes de proteína animal para consumo humano. El hallazgo de enfermedades infecciosas, los desórdenes metabólicos, pasaron a ser el principal problema a resolver del sector, en donde las micotoxinas comenzaron a jugar un papel fundamental, debido a sus efectos negativos de salud animal, generando un riesgo en la salud pública, sin dejar conocer el impacto en el factor económico. El suministro de alimentos contaminadas con micotoxinas en especial la aflatoxina, causan grandes problemas en la mayoría de aves domésticas o de corral, ya que provocan reducciones en la productividad y en situaciones más graves, hasta la muerte. La exposición a altos niveles induce al ave a un bajo

consumo de alimento, disminución y/o anulación en la producción de huevos, daños en órganos internos y muerte de los mismos. (Uttpatel, y otros, 2014)

PROBLEMÁTICA

Observando el panorama del sector avícola referente a la sanidad, se puede determinar que las aflatoxinas, sin llegar a dudas son las micotoxinas con mayor riesgo potencial para la salud aviar. La interacción de las aves con las aflatoxinas puede ser proveniente en la mayoría de los casos, por el consumo de productos agrícolas contaminados (maíz, cacahuates, etc.); resaltando que su contaminación se puede dar en cualquier punto de la cadena de producción, iniciando por la cosecha, la recolección, almacenaje, transporte, elaboración y hasta llegar a su conservación o consumo. (Asquid, 2014)

El consumo en altas concentraciones de alimentos contaminados con aflatoxinas, puede llegar a causar hasta la muerte de las aves de corral. La presencia de esta micotoxina en cantidades menores, causa la pérdida de la calidad del animal, menor reproducción, disminución en la producción de huevos, cáncer, entre otros, conllevando a pérdidas económicas y siendo un riesgo en inocuidad alimentaria para los consumidores de este tipo de aves; el hallazgo de alimentos contaminados puede llegar a ocasionar la pérdida total del producto o pérdida de los mercados existentes en la avicultura. Debido a que no existe investigaciones suficientes en Santander o en Colombia a cerca de la ocurrencia de las Aflatoxinas encontradas en el pienso de las aves de corral, se hace necesario empezar por describir las condiciones de presencia o ausencia de las aflatoxinas en el pienso, las zonas de incidencia, y los mecanismos existentes para su prevención o control.

JUSTIFICACIÓN

Las aves de corral son de las mejores fuentes de proteína, las mayores productoras de huevos, las cuales son necesarias y utilizadas por una gran cantidad de personas en todo el mundo. Es por esto, que se hace indispensable garantizar que su consumo y producción no represente un riesgo para la salud, y que a su vez siga como uno de los principales pilares económicos agrícolas, donde todos sus productos sean de calidad. Es de ahí donde nace la importancia de tener un

conocimiento más extenso y profundo a cerca de las causas, efectos y métodos de prevención y control que se les debe dar a las Aflatoxinas antes, durante y después de detectarlas en el pienso de las aves de corral.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Identificar los efectos, prevención y control de las aflatoxinas encontradas en el pienso de aves de corral.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la recopilación bibliográfica sobre la estructura, composición y origen de las aflatoxinas que afectan en la avicultura.
- Definir la formación toxicológica y patologías en las aves, asociadas al consumo del alimento contaminado con Aflatoxinas.
- Determinar cuáles son los cuidados y prevenciones que son necesarias para el control de las Aflatoxinas en el alimento de las aves.
- Revisar la normatividad colombiana aplicada al control de las Aflatoxinas en la agricultura.

GENERALIDADES

Las micotoxinas son compuestos o metabolitos fúngicos tóxicos los cuales se producen de forma natural por algunos tipos de hongos (mohos). Los mohos productores de micotoxinas se desarrollan en diversos alimentos entre los que están los cereales, frutas desecadas, frutos secos y especias. Su crecimiento tiene lugar antes y después de la cosecha, durante el almacenamiento o en el alimento en entornos cálidos y húmedos. Gran parte de las micotoxinas son químicamente estables por lo que continúan aun después del procesamiento de los alimentos. (Organización Mundial de la Salud, 2018)

Según Alvarado, 2005, existen múltiples micotoxinas por descubrir, actualmente se tiene conocimiento de la existencia de más de 500, las cuales pueden dividirse en seis categorías principales: aflatoxinas, tricotecenos,

fumonisin, zearalenona, ocratoxinas y alcaloides de ergot. La producción de micotoxinas se da a causa de un mecanismo de defensa que utilizan los hongos para ayudar en la colonización de su organismo hospedero.

Los hongos se reproducen en todo el ambiente y por tal motivo la formación de micotoxinas es inminente. La aparición de las micotoxinas en los cultivos es considerada como la infección de los cultivos por mohos, antes o después de la cosecha. La exposición a las micotoxinas puede producirse directamente al comer alimentos infectados, o indirectamente, a partir de animales alimentados con comida contaminada, y en particular a partir de la leche. (Organización Mundial de la Salud, 2018)

Químicamente hablando, se puede inferir que las micotoxinas son diferentes las cuales cuentan con una variedad de familias y pesos moleculares que van desde aproximadamente 200 a 500 kDa; de los cientos de micotoxinas que se conocen, son pocas las que se han investigado extensamente y los métodos de análisis disponibles son muy limitados. No obstante, es imprescindible tener en cuenta factores como el clima, los sistemas agronómicos, las tecnologías de pre/post cosecha, entre otros, para profundizar en la formación de las distintas micotoxinas existentes. (Whitlow & Hagler, 2008)

Adicionalmente se deben tener presentes ciertas consideraciones generales con respecto a las micotoxinas como:

- No siempre la presencia de hongos en el alimento implica la producción de micotoxinas y, aunque menos común, se puede detectar en alimentos almacenados presencia de micotoxinas donde no hubiera presencia de hongos. (Cesár, 2007)
- La presencia de una micotoxina en el alimento, usualmente es indicativo de contaminación con más de una toxina. (Cesár, 2007)
- Una misma micotoxina puede ser producida por hongos diferentes como puede ser el caso de las aflatoxinas que pueden ser producidas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticum*. Por otro lado, una misma especie de hongo puede producir más de una micotoxina como es el caso

del *Fusarium graminearum* que puede producir Zearalenona y Desoxinivalenol (DON). (Cesár, 2007)

- La susceptibilidad a las micotoxinas varía de acuerdo a la especie animal, la edad, sexo, tipo de producción y micotoxina involucrada. (Cesár, 2007)

FACTORES QUE INCIDEN EN LA FORMACIÓN.

Son diversas las especies de hongos que pueden producir toxinas en los alimentos, durante el crecimiento de los cultivos o después en la cosecha, durante el almacenaje, transporte, procesado y utilización de los granos en las granjas. La temperatura, humedad y la actividad de diferentes insectos son factores ambientales que favorecen la diseminación y crecimiento del hongo y la producción de micotoxinas. Sin restar importancia a las condiciones ambientales y de manejo presentes durante la cosecha, el almacenaje y el transporte. (Blandon & Denli, 2008)

Humedad.

La humedad de los alimentos y del medio donde se conservan son de suma importancia en el desarrollo de los hongos. El agua combinada está presente en los tejidos y células bañando las proteínas e hidratos de carbono, y su contenido se expresa en % en peso. Esta humedad no debe ser superior al 13-14%. El agua disponible es la que tiene a disposición de los hongos para crecer, y se expresa como la relación del vapor de agua en el sustrato y la del agua pura a igualdad de temperatura. Así, el agua disponible para crecer debe ser 0,70-0,80, mientras que el agua disponible para la toxicogénesis debe ser 0,80-0,99. (Castañeda , Chirivella, & Carbonell, 2012)

Temperatura.

La gran mayoría de los hongos no crecen por debajo de 5 °C, ni por encima de 45 °C, siendo la temperatura óptima de crecimiento y producción de micotoxinas los 25-35 °C. (Castañeda , Chirivella, & Carbonell, 2012)

Ventilación o aireación.

Las corrientes de aire establecidas entre los espacios intergranulares son las que mantienen los niveles correctos de temperatura y humedad, evitando el

recalentamiento del sustrato. Sin embargo, es un factor de arrastre donde a través de sus corrientes de aire viajan esporas de ciertos hongos, incidiendo en la formación de micotoxinas. (Castañeda , Chirivella, & Carbonell, 2012)

Insectos y ácaros.

Atacan a los cereales, dañan el pericarpio liberando almidón, grasas y otros nutrientes de los granos y semillas, que sirven de alimento a los hongos. Además, su presencia y efectos aumentan la temperatura del sustrato, lo que facilita el crecimiento de los hongos y la producción de toxinas. (Castañeda , Chirivella, & Carbonell, 2012)

Tiempo de almacenamiento.

Con el envejecimiento de las materias primas y de los piensos se incrementa la contaminación, el crecimiento de los hongos y bacterias, y la producción de micotoxinas. La utilización del pienso sobrante en los silos supone en muchas ocasiones un grave riesgo de que aparezcan problemas por micotoxicosis más o menos agudos. (Castañeda , Chirivella, & Carbonell, 2012)

pH y Oxígeno

Los mohos suelen ser organismos aeróbicos que se desarrollan sobre la superficie; sin embargo, algunas especies pueden desarrollarse en medios profundos o líquidos, con una baja cantidad de oxígeno, tomando una forma gelatinosa (Leal , 2012); las colonias de hongos se produce a valores de pH entre 4 y 8, si bien prefieren un pH más bien ácido y son muy sensibles a algunos ácidos orgánicos. (Castañeda , Chirivella, & Carbonell, 2012).

CRECIMIENTO DE HONGOS PRODUCTORES DE MICOTOXINAS

Los hongos crecen mediante la producción de largos filamentos llamados hifas, los cuales son importantes para su supervivencia y reproducción. La red de hifas es la encargada de aglutinar los granos unos con otros y en el caso del cereal o alimento almacenado forma grumos de grano inseparables. Los hongos de los cereales también producen esporas las que son capaces de dispersarse por el aire y en el interior de los lugares donde es almacenado el grano o alimento y dichas esporas pueden perdurar por lapsos de tiempo prolongado. (Leal , 2012)

Existe una gran variedad de hongos en el ambiente, sin embargo, se pueden clasificar en dos grupos que encierran los principales que dentro del campo zootécnico tienen más relevancia:

- Hongos de campo: los cuales se encargan de producir micotoxinas en los cultivos. (Fusarium)
- Hongos de almacenamiento: los cuales producen micotoxinas especialmente en la postcosecha. (Aspergillus y Penicillium)

Teniendo en cuenta que esta clasificación se da debido a sus diferencias en temperatura y humedad necesaria para cada tipo de hongo; es importante resaltar que hay excepciones, debido a que en épocas de calor y sequía las especies de Aspergillus y Penicillium también causan afectación a los cultivos en su fase de crecimiento y por otra parte los hongos Fusarium producen micotoxinas en la fase de transporte y almacenamiento. (El Sitio Avícola, 2008)

A continuación, en la tabla 1 se relaciona la clasificación respectiva de los hongos por categorías.

Tabla 1. Clasificación de los hongos productores de micotoxinas por categorías.

Hongos productores de micotoxinas	Micotoxinas
Aspergillus	Aflatoxina (B1, B2, G1, G2)
	Ocratoxina (A)
	Patulina
	Ácido Ciclopiazónico
Claviceps	Alcaloides de Ergot: Clavides, Ácido Lisérgico, Amidas de Ácido Lisérgico, Ergoéptinas.
Fusarium	Fumonisinias (B1, B2, B3)
	Tricotecenos Tipo A
	Tricotecenos Tipo B
Penicillium	Zearalenona
	Ocratoxina (A)
	Citrinina
	Roquefortina
	Toxina PR
	Ácido Ciclopiazónico
	Patulina

Fuente: El Sitio Avícola, 2008.

EFFECTOS PATOLÓGICOS DE LAS MICOTOXINAS EN LOS ANIMALES

Es frecuente relacionar la sintomatología de las micotoxicosis con ciertos factores como la Receptibilidad dado que los animales monogástricos son más sensibles que los rumiantes, y de igual forma dentro de estos dos grupos unas especies son más susceptibles que otras, la cantidad de toxina ingerida ya que, en caso de ingestas grandes, los animales muestran depresión y muerte, o muertes súbitas. En los casos de menor dosis, los animales muestran la sintomatología típica de cada micotoxina, aunque la mayoría de veces se encuentran síntomas sobrepuestos por la acción de diversas micotoxinas.

Otros factores concurrentes en la manifestación patológica de una micotoxicosis están relacionados con la duración de la ingesta, el estado sanitario y de nutrición de los animales, la edad de los animales, siendo los más jóvenes más sensibles, la edad de los alimentos y/o piensos y su estado de conservación. (Alvarado, 2008)

Según la revista Iberoamericana Internacional *Nereis*, 2012, Las pruebas experimentales realizadas con micotoxinas individuales permiten conocer el cuadro patológico específico de cada micotoxina, por lo tanto, se puede generalizar una serie de síntomas que son comunes en cualquier brote de campo:

- Rechazo del alimento.
- Retraso o detención del crecimiento.
- Poca ganancia de peso vivo.
- Deficiente emplume.
- Manadas o colectivos poco uniformes.
- Disminución de las producciones, carne, huevos, leche.
- Problemas de fertilidad. Abortos. Anestros.
- Problemas de incubabilidad.
- Alteraciones de la calidad de la cáscara de los huevos.
- Efectos sobre la inmunidad.
- Gastroenteritis con vómitos y diarrea.
- Parálisis, paresias y convulsiones. Algunas micotoxinas son neurotóxicas.
- Mortalidad.

MICOTOXINAS EN LA AVICULTURA

La mayoría de los hongos tienen la capacidad de sintetizar una serie de micotoxinas que causan efectos perjudiciales a la salud y productividad animal; no obstante, con la presencia de una sola especie de hongos, es posible encontrar varios tipos de micotoxinas, ya que algunos de ellos tienen la capacidad de producir varias clases de estas moléculas, como ejemplo se tiene el *Aspergillus Flavus* que es considerado el principal productor de aflatoxinas, pero a su vez tiene la capacidad de producir otro tipo de molécula tóxica conocida como ácido ciclopiazónico.

De las micotoxinas identificadas, se presentan a continuación en la tabla 2, las que conllevan mayor incidencia sobre las aves:

Tabla 2. Micotoxinas encontradas en alimento para aves.

MICOTOXINAS	HONGOS	TEJIDOS U ÓRGANOS BLANDOS
Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	Aspergillus (<i>A. parasiticus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. nomius</i>), Penicillium sp <i>Aspergillus</i> (<i>ochraceus</i> , <i>carbonarius</i>)	Hígado
Ocratoxinas	Penicillium (<i>P. viridicatum</i> , <i>P. cyclopium</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. verrucosum</i>)	Riñón
Zearalenona	Fusarium (<i>F. graminearum</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , etc.)	Aparato reproductor
Toxina T-2	Fusarium (<i>F. tricinctum</i> , <i>F. roseum</i>)	Epitelios
Vomitoxina	Fusarium (<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>)	Aparato digestivo
Citrinina	Penicillium (<i>P. citrinum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. spinulosum</i>)	Riñón, Hígado
Fumonisinias A1, A2, B1, B2, B3, B4, C1, C2	Fusarium (<i>F. moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. nygamal</i>)	Riñón, Hígado

Fuente: Boletín Microbiológico 2001

INCIDENCIA DE LAS MICOTOXINAS EN LA SALUD AVIAR

El efecto de las micotoxinas en la salud de las aves está directamente relacionado con la estructura y los niveles de toxinas ingeridos; en casos reales de micotoxicosis, la mayoría de veces no se observa ningún comportamiento específico en las aves. Se puede observar los síntomas normales de enfermedad, en donde son característicos la apatía, plumas revueltas, en estados avanzados del proceso patológico, pero estos signos fácilmente se pueden atribuir a cualquier otra enfermedad. En algunos casos, el principal efecto de las micotoxicosis es la inmunosupresión, y esta puede acarrear infecciones bacterianas. Así que puede observarse fácilmente un incremento de lesiones como aerosaculitis y celulitis, asociadas a *E. coli*. El efecto de las micotoxinas en el rendimiento de los animales está asociado con el nivel de toxina y factores externos, como una nutrición deficiente la cual puede agravar las pérdidas productivas. (Santin, 2018)

Ocratoxina, Patulina Citrinina y Aflatoxina.

La ingesta e intoxicación ocasionan lesiones renales convirtiendo en líquido las heces e incrementa la humedad de la cama, con la presencia de uratos que caracteriza las heces blancas. En un estado más avanzado de la enfermedad el hígado se presenta friable y de coloración amarilla y la vesícula biliar muy reducida y vacía. En la histopatología se observa megalocitosis y vacuolización de los hepatocitos con proliferación de los conductos biliares. La ocratoxina tiene una DL50 más baja que la aflatoxina lo cual indica una toxicidad menor; además de afectar al hígado, también causa lesiones importantes en riñones que se presentan pálidos y muy aumentados de tamaño, con presencia de uratos en los uréteres y como consecuencia de estas lesiones, se produce un significativo retraso en el desarrollo de las aves, empeora la conversión alimenticia e incrementa el consumo de agua y la humedad de la cama. Las lesiones mencionadas siempre van acompañadas de un aumento de las enzimas AST y GGT y una reducción de los niveles de calcio y proteína en la sangre de los animales. (Santin, 2018)

Las aflatoxinas y ocratoxinas, son potentes hepatotoxinas que provocan un rápido aumento en el tamaño del hígado, causando distensión de la vesicular biliar. En aves pueden causar diarrea severa, alta mortalidad y reducción en la producción. (Bueno, Salvano, Silva, Gonzalez, & Oliver , 2009)

Fumonisin

Este tipo de micotoxinas afectan la resistencia epitelial intercelular, afectando la barrera intestinal contra patógenos y la regulación osmótica. Todos esos eventos pueden ser observados clínicamente como enteritis de severidad progresiva, con la participación final de bacterias. Se pueden ver lesiones microscópicas como una reducción en la altura de las vellosidades intestinales, y en la microscopia electrónica se detecta erosión en su ápice. (Wyatt, 1988)

Tricotecenos

En el caso de las intoxicaciones se observan lesiones orales, disminución en el consumo de alimento, disminución en la producción y tamaño de los huevos y reducción de la calidad de la cáscara. DON y T2 en el alimento disminuyen el hematocrito y el número total de células rojas en la sangre, así como de linfocitos T (CD4+, CD8+), linfocitos B y de la concentración biliar de IgA. Los tricotecenos, pueden causar lesiones necróticas por contacto en enterocitos. (Santin, 2018)

Zearalenona

Es la que menos ocasiona daño en las aves de todas las micotoxinas. Esta puede ser metabolizada en el hígado de los animales en dos distintos metabolitos, alfa o beta zearalenol. El Alfa-zearalenol tiene un efecto de 3 a 4 veces más potente que la zearalenona y el Beta es menos tóxico, en las aves, la mayor parte de la zearalenona es transformada en beta-zearalenol. Aunque en aves con concentraciones mayores a 300 ppm, afectan la bolsa de Fabricio y se manifiestan quistes en el tracto genital e hipertrofia del oviducto. (Pires & Santurio, 2005)

AFLATOXINAS

ANTECEDENTES GENERALES.

Las aflatoxinas son el residuo de los procesos biológicos de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, presentan incidencia en las leguminosas, oleaginosas y cereales contaminándolos de manera rápida si las condiciones son favorables; Son inodoras, insípidas e incoloras, tienen bajo peso molecular, son altamente ionizables, son indetectables por su estabilidad y cuentan con resistencia a altas temperaturas por lo que no son eliminadas al cocinarse. Su estudio inicio en 1960 al presentarse la muerte de un gran volumen de aves de corral en Gran Bretaña que resultó ser producto del alimento que contenía maní contaminado por el hongo. (Hesseltine, Shotwell, Ellis, & Stubblefield, 1966); son las micotoxinas más estudiadas y controladas por su gran presencia. Son de las más tóxicas y nocivas, influyen en la aparición de cáncer dentro del sistema digestivo, las mutaciones, deficiencias de desarrollo metabólico y fetal.

También son denominadas micotoxinas fluorescentes por su cualidad de emitir coloración bajo la luz ultravioleta, dicha cualidad también los cataloga como B1 y 2 (fluorescencia azul), la aflatoxina B1 en ocasiones puede responder a las bacterias de la flora intestinal de los bovinos metabolizándose en la aflatoxina M1, y G1 y 2 (fluorescencia verde) (Urrego & Diaz, 2006).

El cultivo de aflatoxina es necesario para estudios sobre sus características químicas, impactos y su toxicocinética en especial para determinar el efecto de ambos niveles altos y bajos en animales de laboratorio y de granja. El primer estudio de Aflatoxina realizado por *Sargeant 1993*, se dio a partir de un sustrato de maní no tóxico esterilizado por calor después de 7 días de incubación a temperatura ambiente, los extractos preparados a partir de las muestras del moho mostraron el mismo material encontrado en el maní contaminado y demostraron ser letales para los sujetos de prueba, dicho ensayo consiguió una aflatoxina 10 veces más potente que la original, el maní fue esterilizado sin cascara, triturado y puesto en una incubadora junto con las cepas del hongo original, contaba al igual con la presencia de agua para generar la suficiente humedad; el desarrollo del moho duro 3

semanas, al culminarlas fue separado del sustrato con el uso de metanol; el proceso de cultivo fue variando con el paso de los años buscando la manera más óptima de conseguir muestras, usando por ejemplo otros sustratos como el trigo húmedo, la soja, el arroz, harinas de maíz o incluso fermentos de avena, centeno entre otros, en ocasiones el sustrato es remojado en agua destilada para la metabolización de azúcares y proteínas; con el avance tecnológico se consiguió modificar aún más los factores como humedad relativa y temperatura lo que causó una aceleración del proceso de crecimiento y desarrollo del hongo, al igual los métodos de separación fueron modificados ante la presencia de más componentes en los sustratos pasando del básico metanol a mezclas con cloroformo, a dichas se les podía sumar distintos nitratos, sulfato de zinc entre muchos otros reactivos y soluciones otros. (Hesseltine, Shotwell, Ellis, & Stubblefield, 1966)

ESTRUCTURA

La estructura química de las aflatoxinas B1 y G1, está constituida por la fusión de un núcleo cumarínico y otro bifurano a los que se añaden una pentanona en el caso de la AF B1 y un anillo ciclohexanoico en la AF G1. La AF B2 y AF G2 son dihidroderivados de la AF B1 y AF G1 respectivamente.

La mayoría de las restantes aflatoxinas descritas proceden también de la hidroxilación en diferentes puntos de la estructura molecular de las cuatro aflatoxinas principales. Tal es el caso de la AF M1 y de la AF M2, derivados 4-hidroxilados de la AF B1 y AF B2 respectivamente. La parte más reactiva de la estructura de las aflatoxinas es el anillo lactónico. (Combata & Mildenberg, 2009)

Las características químicas elementales de las aflatoxinas se relacionan en la siguiente tabla.

Tabla 3. Características químicas de las aflatoxinas

Tipo de Aflatoxina	Formula estructural	Peso molecular (g/mol)	Punto de fusión °C
Serie 1 difuro-cumaro-ciclopentanonas			
B1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269
B2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289
G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	328	244-246
G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240
M1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299
M2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293
Serie 2 difuro-cumaro-lactonas.			
G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	328	244-246
G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240

Fuente: Rev. Fac. Medicina Universidad Nacional de Colombia. 2006

A continuación, en la figura 1 se presentan las estructuras químicas de las aflatoxinas y sus clases.

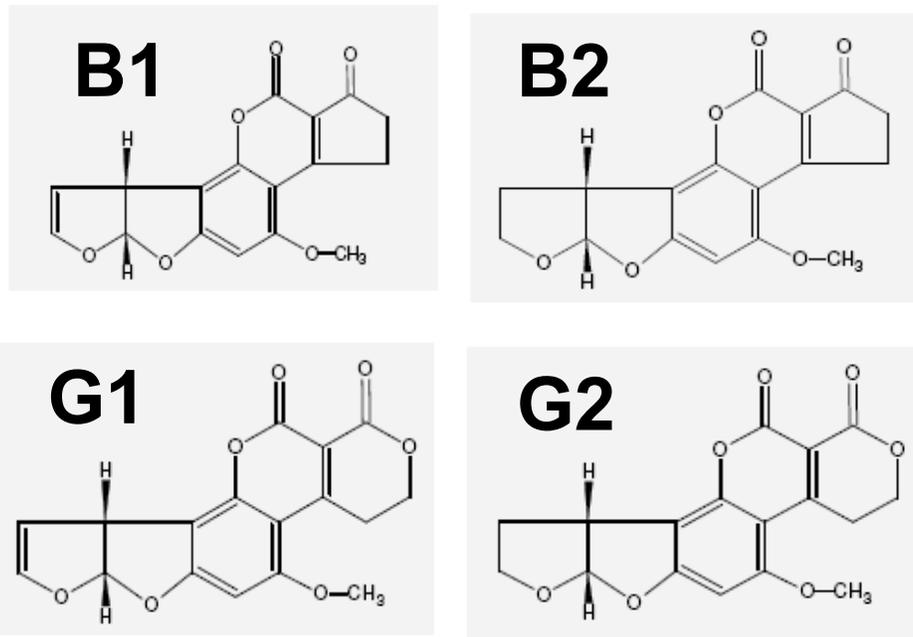


Figura 1. Estructura química de las aflatoxinas.

Fuente: Facultad de medicina Universidad Nacional de Colombia, 2006.

AGENTES PRODUCTORES

Las cepas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* son las responsables de la formación de las aflatoxinas principalmente, estos se encuentran en el suelo y crecen rápidamente sobre materia orgánica. Sus colonias por lo general son amarillas, verde amarillo, amarillo-marrones, o verdes; granulares, aterciopeladas, o algodonosas; y tienen una saliente periférica blanca y un margen distintivo. (Cornejo & Villarroel, 2012)

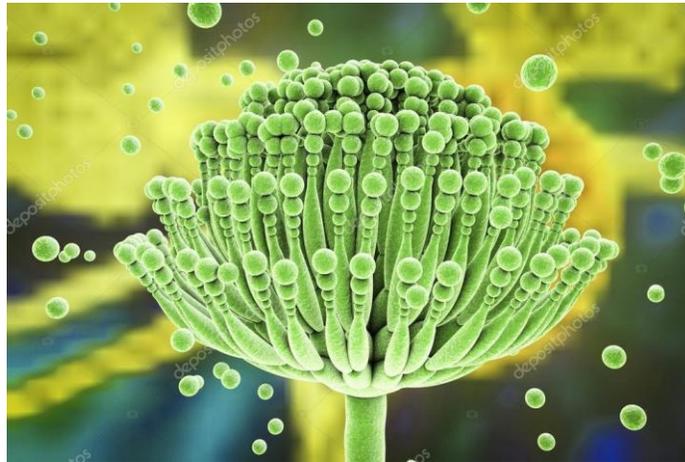


Figura 2. Cepa de *Aspergillus Flavus*
Fuente: Depositphotos, 2016

Los hongos de esta clase pueden ser de diferentes colores, con sus cabezas conidiales, globosas, radiales, columnar o claviforme. Dentro de este género existen alrededor de 200 especies, siendo las más comunes: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. clavatus*, *A. ustus*, *A. versicolor*, *A. terreus*, entre otros. (Tsang, Tang, Lau, & Woo, 2018). Estos hongos son de gran potencial biótico, son descomponedores del material orgánico por ende son de gran utilidad en la ecología; no obstante, causan enfermedades en los seres vivos a través de tres mecanismos como lo son:

- Infecciones oportunistas
- Estados alérgicos
- Micotoxicosis

Las aflatoxinas producidas por las especies del *aspergillus* son características de climas húmedos y calientes. *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* no pueden crecer o producir aflatoxinas en sustratos con actividad de agua menor de

0.7; humedad relativa menor a 70% y temperaturas por debajo de 10°C. En condiciones de stress tales como sequía o infestación por insectos, la contaminación por aflatoxinas es probablemente alta. En definitiva, el crecimiento de *Aspergillus* y la contaminación de los productos con aflatoxinas son consecuencia de la interacción entre el hongo, el anfitrión (materia prima/alimento) y el ambiente. La agregación apropiada de estos factores determina la infestación y la colonización del substrato, y el tipo y la cantidad de aflatoxina producida. (Cornejo & Villarreal, 2012)

La aflatoxina se genera como metabolito secundario, el crecimiento del hongo genera pocas o ninguna aflatoxina, después de un tiempo, los elementos necesarios para el metabolismo como el fósforo, el nitrógeno entre otros elementos son deficientes y el desarrollo se ralentiza; los metabolitos primarios se irán acumulando entre ellos, estimulando la actividad enzimática secundaria provocando síntesis de las aflatoxinas en lugar de la biosíntesis de los ácidos grasos en los hongos. (Bogantes, Bogantes, & Bogantes, 2009).

FACTORES DE INCIDENCIA.

Si bien la aparición de las cepas responsables de las micotoxinas se presenta en su mayoría durante el almacenamiento de los productos, el manejo dentro del cultivo, también influye en cierta medida el crecimiento de dichas cepas.

Los hongos que desencadenan la producción de la aflatoxina llegan a las plantas mediante los insectos, volviendo a estas plantas más susceptibles a ser portadoras si estas llegan a sufrir estrés hídrico o nutricional, daños en los órganos o invasión de otro hongo, así como la humedad y temperatura existente, estos factores aplican dentro de los parámetros de la siembra y el desarrollo de la planta (Bogantes, Bogantes, & Bogantes, 2009).

La temperatura óptima para el desarrollo del hongo está entre los 36 a 38°C, sin embargo, son termo tolerantes por lo que resisten temperaturas de hasta 46°C y mínimas de 6°C, el metabolito es producido óptimamente en las temperaturas entre 27 a 30°C y con humedad relativa de 80 a 85% (Hesseltine, Shotwell, Ellis, & Stubblefield, 1966), los silos y otros puntos de acopio no cuentan con las

adecuaciones para controlar medidas de humedad y temperatura, puesto que dentro de los mismos se crean puntos de concentración de calor por la aglomeración del grano, esto junto con una inadecuada limpieza del lugar de acopio dan paso al ataque fúngico en algún porcentaje del producto.

La micotoxina puede aparecer básicamente en cualquier producto agrícola, en especial granos, frutos secos o bajo proceso de fermentación, pues el hecho de que una espora colonice, se desarrolle y crezca lo suficiente puede generar una contaminación considérela dentro de un mismo campo o espacio; además de contar con la cualidad de producir agua durante su crecimiento proporcionando así la humedad necesaria para su propagación (Mallmann, Hummes, & Giacomini, Factores de formación de las micotoxinas y sus formas de control, 2007)

El cambio climático también tiene una participación importante en el riesgo de aparición de esta toxina en las diferentes cosechas, ya que el aumento de la temperatura, el aumento de dióxidos y óxidos en la atmósfera, constituye factor que favorece el ambiente óptimo para su establecimiento. (Hernandez, 2017) .

ALIMENTOS SUSCEPTIBLES A LA ACUMULACIÓN DE AFLATOXINAS.

De las aflatoxinas principales (B1, B2, G1 y G2), la que se observa regularmente en mayores concentraciones es la B1, considerándose como el compuesto biológicamente con más actividad en la familia de las aflatoxinas y se presenta en un número importante en alimentos para animales y humanos. (Viquez, Castell-perez, Shelby, & Brown, 1994)

El pericarpio de la semilla es una barrera física que protege y aísla el interior de los granos y semillas. Los daños que se producen durante la cosecha dan paso a granos rotos; igualmente, la acción de insectos y ácaros perfora y rompe los granos, liberando el almidón y el gluten, que son los que proporcionan una fuente de energía y nutrientes para los hongos. A su vez, en la fase de molienda se deja todos los nutrientes al servicio de los hongos (Cast, 2003).

Algunos estudios han mostrado que los nutrientes y el tipo de sustrato son importantes para la producción de aflatoxinas, la cual se puede ver estimulada por un alto nivel de carbohidratos y un bajo nivel de proteínas; los carbohidratos proveen

los dos carbonos precursores para la síntesis de la toxina. El maíz, es de esta forma un buen sustrato para la producción de aflatoxinas debido a su alto contenido de carbohidratos y bajo contenido de nitrógeno. (Viquez, Castell-perez, Shelby, & Brown, 1994)

A continuación, se realiza la descripción de los productos que tienen más riesgo de presentar aflatoxinas:

Cereales.

El maíz es el cereal más afectado por su humedad, por la edad y por la frecuencia con que aparecen granos rotos y almidón libre, polvo, etc. Le siguen la cebada, el trigo y el sorgo. La calidad micológica de estas materias primas varía entre 0 y 20.000 ufc/gr, aunque el exceso de humedad y la presencia de materias extrañas como la tierra facilitan la germinación de las esporas. (Castañeda , Chirivella, & Carbonell, 2012)

Leguminosas.

La forma de presentación habitual de la soja es la de una harina un poco fina, de modo que cuando su humedad es superior al 12% suele recalentarse en los silos, formando masas apelmazadas que permanecen pegadas sobre las paredes internas del silo durante un tiempo variable, constituyendo focos importantes de enmohecimiento y germinación de esporas. (Castañeda , Chirivella, & Carbonell, 2012)

En la Tabla 4 se muestran algunos de los productos alimenticios más comunes contaminados con aflatoxinas.

Tabla 4. Alimentos afectados por las Micotoxinas.

Micotoxinas	Materia prima alimenticia
Aflatoxina	Sorgo, soja, maíz, trigo, cebada, avena, maní
Ocratoxina	Cebada, avena, trigo, centeno
Tricotecenos	Cebada, avena, sorgo, soja, maíz, trigo
Fumonisinias	Maíz, soja, sorgo
Zearalenona	Cebada, sorgo, maíz, trigo, ensilaje
Alcaloides de Ergot	Centeno, trigo, sorgo
Toxinas de la Festuca: Lolinas, Peramina, Alcaloides de Ergot, Lolitrems	Festuca (<i>Festuca arundinacea</i>) y otros pastos (<i>Festuca pratensis</i> , <i>Festuca ovina</i> , <i>Festuca rutra</i> y <i>Lolium perenne</i>)
Roquefortina	Ensilajes (pasto, maíz, leguminosas)
Citrinina	Cebada, trigo, avena, maíz
Ácido Ciclopiazónico	Maíz, trigo
Patulina	Ensilajes (pasto, maíz, leguminosas)

Fuente: Quirarte, 2017.

AFLATOXINAS DETECTADAS EN ALIMENTO EN COLOMBIA Y ALGUNOS PAISES DE AMERICA LATINA.

Las aflatoxinas han sido detectadas como agentes contaminantes naturales en gran número de productos agrícolas, confirmándose su presencia en parcialmente todas las zonas del mundo, en casi todos los alimentos de primera necesidad, en mayor o menor grado de concentración. A continuación, se presenta una tabla resumen sobre las aflatoxinas detectadas en diferentes alimentos para consumo humano y animal en Colombia y algunos países latinos. (Martinez, Vargas, & Gomez, 2013)

Tabla 5. Incidencia de aflatoxinas en alimentos en Colombia y algunos países latinos.

Alimentos	País	Incidencia (%)	Aflatoxinas	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Maní tipo japonés, nueces, jengibre, comino, semilla, sésamo, curri semillas de lupino, maní salado y maní pelado	Chile	10,5%	Totales	23 - 173,3
Harina de maíz.	Ecuador	26	B1	4,34 - 11,26
Maíz y Arroz	Colombia	12,5%	Totales	9,2
Maíz blanco	Colombia	16,6% - 33,3%	B1	3 – 10
		16,7%	B1	> 10
		16,7%	B2	3 – 10
		33,3%	Totales	3 – 10
		16,7%	Totales	> 10
Arepas de maíz blanco	Colombia	1,8%	B1	3 – 10
		1,8%	Totales	3 - 10
Maíz amarillo	Venezuela	16,6%	Totales	20
Trigo, harina de maíz, harina de soya, maíz amarillo y sorgo	Venezuela	43%	Totales	0,25 – 34,2
Maíz	México	56%	Totales	-
Maíz	Argentina	8,23%-15,52%	Totales	9,72 – 15,52
Maíz	Perú	82%	Totales	4,2
Maíz	México	33,1%	Totales	1 - 18
Leche	Colombia	20%	M1	15,6
Queso	Colombia	67%	M1	240
Alimentos de consumo infantil.	Colombia	10	B1	18,42 – 71,25
Maíz	Panamá	2,8%	B1	1290

Maíz, cereal, arroz, semillas y snacks y cereales para el desayuno	Colombia	8,9%	Totales	12,6
Maíz	Guatemala	28,57%	Totales	-
Maíz	Colombia	100%	B1	15,2 – 282,6

Fuente: Biosalud. 2013.

EFFECTOS DE LAS AFLATOXINAS.

Las aflatoxinas son de las micotoxinas más perjudiciales en la salud de los animales, al ser ingeridas debido a su alta liposubilidad se absorben por el tracto gastrointestinal, se activan y metabolizan por efecto de la mucosa, luego son procesados por el hígado que finalmente realiza la biotransformación de la toxina; el proceso dentro de cada organismo es distinto puesto que el sistema puede ser más complejo en algunos casos, como en los bovinos y por ende son los menos susceptibles. (Guzman de Peña, 2007)

Para que la acción tóxica de la aflatoxina ocurra es necesario que ésta tenga un cambio metabólico, el cual ocurre cuando la AFB₁ llega al hígado de los seres que la ingieren. La aflatoxina B1 se metaboliza en dos fases la primera es a través de los citocromos p450 microsomales hepáticos 3A3, 1A2, 3A7 y extrahepáticos 3A4 estos son los bioactivadores que dan inicio a todo el proceso, también se encontró que una ingesta de menor concentración por un periodo extenso puede ser más riesgoso que una en altas concentraciones ya que los activadores procesan con más eficacia las concentraciones bajas que las altas. La fase II del metabolismo por su parte conlleva las reacciones de conjugación enzimática estos procesos dan como consecuencia la formación de aflatoxina Q₁, aflatoxina P₁ y en especial se encuentran el B1 8-9 igual de tóxico y con repercusión cromosómica; el Aflatoxicol es un componente bastante nocivo y tóxico dentro del organismo y de los más comunes. Esta micotoxina al ser ingerida y procesada por animales mediante alimentos contaminados, genera repercusión en su salud, así como la

contaminación de los productos procedentes de ellos, implicando que al ser consumidos por los humanos estos podrían desarrollar enfermedades mayores. (Bogantes, Bogantes, & Bogantes, 2009).

Aflatoxinas en aves

Las aves son de las especies más susceptibles a desarrollar complicaciones por la micotoxina, esto se refleja en que la primera epidemia de este tipo fue vista en aves, debido a la facilidad y velocidad con la que el sistema digestivo de las aves de corral la asimila y absorben; dentro de las afecciones que se pueden presentar se encuentran desde problemas dérmicos y de rendimiento hasta enfermedades graves como hematopoyéticas y cancerosas, todo esto dependiendo de la edad del animal puesto que influye directamente en la susceptibilidad, ya que los ejemplares más jóvenes tienden a ser más afectados que los animales más adultos, así como la cantidad de toxina ingerida y el tiempo que lleva consumiéndolo. (Perez, Mogollon, Suarez, Salas, & Bernal, 2014)

Para determinar el efecto de la aflatoxina en los diferentes productos avícolas se han realizado pruebas y experimentos tanto de campo como de laboratorio, en dichos experimentos se toman por lo general dos grupos quienes son alimentados con un producto contaminado y el otro no, para finalmente evaluar características según sea el fin del ave. (Biomim, 2015)

Pavos

Desde un principio se pudo establecer que los pavos es una de las aves más susceptibles a la aflatoxina ocupando el segundo lugar pues los patos por su resistencia de 1 mg/kg del peso del animal se llevan el primero. (Guzman de Peña, 2007); un estudio demostró que durante los primeros 42 días, los pavos presentan una sensibilidad a la intoxicación cerca de 4 a 6 veces mayor que las demás aves. Se alimentó diferentes grupos de pavos con dietas de concentraciones de 0 a 1000 ppb de aflatoxinas, los animales que recibieron los alimentos con mayor concentración tuvieron una ganancia de peso frente al resto de individuos, sin embargo, los grupos intoxicados sufrieron mortalidad de un 37% aproximadamente (Mallmann, Dilkin, Zanini, Hummes, & Pereire, 2007). Las aflatoxinas causaron

déficit en todo el sistema inmune dejando al animal sin defensas para con otras enfermedades, cáncer de hígado y bazo a quienes se les atribuye la gordura por la inflamación de los órganos, transferencia a tejidos y huevos volviendo su carne peligrosa y engendrando crías débiles, el rechazo del alimento, más la reducción de la absorción de proteínas por parte del intestino dejan al pavo con riesgo de desnutrición. (Michele, 2019)

Tabla 6. Efectos de aflatoxinas en pavos.

Aflatoxinas en Pavos	
Rendimiento	Alta mortalidad, carne y huevos contaminados
Patológicos	Hígado graso, Cáncer en hígado y bazo
Teratogénicos	Crías vulnerables
Inmunosupresión	Déficit de sistema inmune

Fuente: El Autor

Gallinas ponedoras y reproductoras:

Las características más relevantes para estas aves son la calidad del huevo, fertilidad, porcentaje de postura, sanidad de polluelos y por último el peso de la gallina, una vez esta cumpla su ciclo reproductivo.

En uno de los experimentos publicados por la *revista Mexicana de ciencias pecuarias* como emulación de ensayos ya realizados, se pudo observar una disminución en el porcentaje de postura en aves que consumían el alimento que contenía 23 ppm de la aflatoxina pues dejaron de poner huevos a los 13 días, mientras las que consumían alimento con 5 ppm lo hicieron a partir del día 16, la postura o ceso completamente pues aun ovopositaban esporádicamente entre unos dos huevos en el lapso del experimento (21 días). Las aves retomaron la postura aproximadamente 10 días después de que se retiraron las dietas infectadas y se les dio la dieta normalizada. En cuanto a la calidad del huevo, las gallinas con la dieta

contaminada tendían a producir huevos de menor peso, pero sin daño estructural y sin presencia de la toxina en la yema. Los polluelos producto del experimento tampoco demostraron toxicidad alguna ni problemas en su nacimiento y desarrollo; por último respecto al peso de las aves, se observó un aumento por ave en la dieta testigo y una disminución de 44,0 g por ave en el tratamiento 2 (5 ppm) y de 255.5 g en el tratamiento 3 (23 ppm). (Cuca, Lopez, & Lopez, 2010)

Por su parte *Alberti Gimeno* publicó en 2012 otra investigación la cual afirmaba que gallinas alimentadas con una dieta que contenía entre 5000 y 10000 ppb de aflatoxina presentaban serias complicaciones reflejadas tanto en su salud como en su productividad, presentando variabilidad de resultados dependiendo la especie y/o edad del animal. Los animales reaccionaron con pérdida en la postura, no inmediata, debido a la reducción en los niveles de proteína y lípidos, esto después de unas semanas de su consumo, deficiencia reproductiva ya que los pocos huevos que lograron depositar fueron afectados igualmente por la toxina, incidiendo en su tamaño ya que se encontraba por debajo del promedio, de igual manera una reducción en su yema y clara, no obstante, la cascara no sufrió reducción, esta se engrosa lo que causó problemas al embrión por el poco intercambio de gases y al momento de eclosionar, la resistencia que esta pudo generar.

La mortalidad embrionaria también es afectada por la presencia de aflatoxina, puesto que al ser metabolizada por el hígado se expulsa del organismo a través de la yema del huevo, de donde el embrión toma energía, esto genera una incubabilidad y muerte posterior del embrión durante el final de la incubación ya que en este punto la toxina tiene mayor concentración. Los polluelos que logran germinar poseen un estado inmune muy deficiente, son muy susceptibles a contraer enfermedades y corren el riesgo de morir a temprana edad, esta probabilidad aumenta si son alimentados con la misma comida que sus madres. (Mallmann, Dilkin, Zanini, Hummes, & Pereire, 2007). En ocasiones también pueden desarrollar algunas enfermedades más directas a la intoxicación del sistema.



Figura 3. Mortalidad en pollos por Aflatoxicosis.
Fuente: Enfermedades de las aves, 2011.

Tabla 7. Efectos de la aflatoxina reproductoras

Aflatoxinas en Gallinas Reproductoras	
Rendimiento	Baja postura, menor tamaño de huevo, pérdida de peso, incubabilidad.
Patológicos	Hígado graso, agrandamiento en la molleja
Teratogénicos	Pollos vulnerables a enfermedades

Fuente: El Autor

Pollos de sacrificio o engorde.

Se ha sugerido que la alimentación de pollos de engorde con alimentos que contengan bajas concentraciones de AFB1 puede causar hepatotoxicidad e inducir aflatoxicosis crónica. Igualmente, se ha sugerido que hay diferencia de los impactos en la salud por aflatoxinas entre diferentes razas humanas ocasionados por exposición crónica a estas toxinas. (Martinez, Vargas, & Gomez, 2013)

Para el estudio realizado en aves con propósito de sacrificio se usaron 80 animales de raza Ross, con tan solo un día de edad, estos fueron separados en grupos a quienes se le asignó una alimentación específica con un contenido de aflatoxina entre los 0 y la 340 ppb y uno de los piensos contenía aflatoxina junto con la ocratoxina, el experimento se llevó a cabo durante 21 días se evaluó característica como peso al momento del sacrificio, estado de los órganos y su consumo de alimentos.

Los resultados mostraron que la ingestión de aflatoxina produce congestión difusa y hemorragias en el hígado debido a alteraciones en las vacuolas, los riñones presentaron degradación y necrosis en la zona tubular, los glomérulos se engrosaron en la membrana basal, el ventrículo por su parte sufrió de algunas erosiones e infiltración de linfocitos causando degradación en el sistema. Los órganos como el bazo, molleja e intestinos no presentaron cambios relevantes, el timo por su parte solo evidenció reducción en su peso. En la ganancia de peso se notó una reducción frente a los ejemplares testigo, que si bien no es una diferencia considerable es necesario tener su registro, así como la disminución en la ingesta de alimento. (Utt Patel, y otros, 2014)

Con el pienso combinado de las dos micotoxinas se presentaron daños parecidos en las mismas zonas, el hígado sufrió de esteatosis difusa producto de las vacuolas con la diferencia de no presentar hemorragias, en riñones se degeneraron las zonas de los túbulos, al igual que necrosis, aumento en las células de tejidos produciendo dilatación en el órgano, los glomérulos tuvieron un engrosamiento en la membrana, en el ventrículo al igual que con la aflatoxina individual se produjo una infiltración de linfocitos multifocal sin embargo no tuvo erosiones en la zona del recubrimiento. Los órganos como el bazo y el timo

mantuvieron el peso estándar durante las evaluaciones sin embargo el hígado y el riñón sufrieron un aumento considerable tanto en tamaño como en peso. El consumo de alimento y ganancia de peso por semana se vio mucho más impactado que con la aflatoxina única estando un 57% aproximadamente por debajo del peso de muestra. (Fierro, 2008)

A su vez siete veterinarios de la universidad central de Venezuela realizó un ensayo experimental con el fin de determinar efectos de la toxina en una concentración de 0,075mg/kg en los alimentos, para esto utilizaron 120 pollos híbrdos Hubbard, los cuales fueron separados en 4 grupos con 4 tipos de dietas, una libre de toxina, las demás con 0,05 mg, 0,07 mg y 0,075 mg/kg; el 2kilogramos de pienso fue contaminado de manera artificial con aflatoxina B1 para posteriormente integrarlo al resto del alimento; el día de culminación del experimento (día 42) se escogieron 6 ejemplares de cada grupo para examinarlos y determinar los efectos de la toxina frente al grupo no intoxicado, lo mismo ocurrió el día 21 del experimento. (Arrieta, y otros, 2008)



Figura 4. Efectos de la Aflatoxina en el hígado de Pollos de engorde.
Fuente: Enfermedades de las aves, 2011

El hígado de los tratamientos con 0,07 y 0,05 mg no varió significativamente su peso relativo al igual que no presentaron lesiones o problemas físicos o estructurales, por otro lado, ejemplares que recibieron dietas con niveles de aflatoxina de 0,075 mg/kg sufrieron de incremento considerable del tamaño del órgano. No obstante, todos los ejemplares que consumieron el pienso toxico

sufrieron lesiones microscópicas en el hígado, en específico en las vacuolas, también se presentó de manera moderada incremento del número de agregados linfoides, espacios portales engrosados con leve proliferación y dilatación de los conductos biliares. La actividad enzimática también se vio afectada durante el proceso, pues los resultados arrojan que la aflatoxina cumple como inhibidor del proceso la síntesis de proteínas en pollos, lo que influye directamente en la ganancia de peso, conversión del alimento y toda la nutrición en general del ave. (Arrieta, y otros, 2008)

Tabla 8. Efectos de la aflatoxina en pollos de engorde.

Aflatoxinas en Pollos de Engorde	
Rendimiento	Carne contaminada, pérdida de peso.
Patológicos	Hemorragias hepáticas, túbulos dañados en riñones, dilatación de órganos.
Teratogénicos	No síntesis de proteínas, bajo sistema inmune.

Fuente: El Autor

PREVENCION, ANALISIS Y DESTOXIFICACION DE LA AFLATOXINA

Teniendo en cuenta los efectos y daños que presenta el consumo de la toxina en animales y humanos es necesario establecer precauciones. Para mantener un control se debe primero establecer un plan de manejo, para ello es necesario conocer los aspectos de lo que se quiere controlar como la incidencia, condiciones o temporadas, para así generar un plan de contingencia. (Mallmann, Hummes, & Giacomini, Control, monitoreo y manejo de micotoxinas en explotaciones avícolas, 2010)

Prevención

La profilaxis es más eficiente ya que evita directamente la aparición de la contaminación y consiga el ataque. La profilaxis recibe el nombre de “trazabilidad del producto”, este básicamente consta de dos etapas y tres elementos.

1^{ra} etapa.

Se refiere a la fase de campo, siembra y recolección donde se aplica el elemento de las BPA (Buenas Prácticas Agrícolas) que buscan evitar el crecimiento de hongos que producen las toxinas con procesos como: Limpieza del terreno de siembra, Uso de semillas resistentes a variedades de hongos micotoxigénicos, dosificación para los productos químicos utilizados en cultivo, cosechas oportunas, no aglomerar durante cosecha entre otros. (Arrieta, y otros, 2008)

2^{da} etapa.

Esta comprende almacenamiento en centro de acopio y transporte donde se aplica el elemento de las BPAM (Buenas Prácticas de Almacenamiento y Manufactura) quienes se ocupan de controlar variables que puedan afectar el ambiente óptimo para el producto mediante medidas adecuadas de saneamiento en las estructuras, impedir el acceso de animales perjudiciales, asegurar almacenamiento óptimo por ejemplo los sacos deben estar sobre estibas, procurar una ventilación constante y muchos otros.

El último elemento es el sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control que de hecho está presente durante todo el proceso, este debe garantizar que los demás elementos cumplan todos los estándares requeridos. (Arrieta, y otros, 2008)

Análisis

Si bien la prevención es una medida bastante útil no se garantiza un 100% de eficacia por lo que a pesar de realizar este proceso es posible que se presente incidencia en el producto, es por eso que aplican métodos de análisis para verificar la presencia de hongo generadores de aflatoxina. (Gimeno A., 2002)

Lo primero al realizar el análisis, es extraer la muestra limpia para ello se emplean disolventes orgánicos, puesto que la aflatoxina es hidrófoba, como el etilo,

acetonitrilo, acetato, metanol, hexano y posiblemente la mezcla de varios de ellos. Las formas de extracción más usadas son en fase sólida, con columnas de intercambio iónico y con columnas de inmutioafinidad entre otros. Seguido a esto se debe descartar las muestras con posibles resultados negativos, inexactos o alterados por ello pasan por el screening o exploración los biosensores y los inmunoensayos son técnicas que se usan para este propósito; en el primero de ellos se usan agentes biológicos que dan respuestas químicas una vez detectan el componente en cuestión, estos funcionan como un anticuerpo que busca, marca e inmutioaliza, por otra parte los inmunoensayos son más complejos, haciendo uso de enzimas específicas, anticuerpos y muestras marcadas radioactivamente determina la presencia mediante cálculo según las emisiones y reacciones se obtengan de la prueba. (Gimeno A., 2002)

La metodología más específica, precisa y confiable para el diagnóstico de las aflatoxicosis, es aquella que se obtiene con el empleo de procesos químicos; estos procedimientos corresponden a la cromatografía en capa delgada y la líquida de alta resolución.

La cromatografía en Capa Delgada o TLC.

Es una técnica económica debido a su característica de analizar simultáneamente un gran número de muestras, también su uso se popularizó por ofrecer resultados cuantitativos. El proceso inicia con la homogenización de la muestra y posteriormente se toman 50gr del material molido, se adicionan una mezcla de 250 ml de metanol-agua, 100 ml de hexano y 4 g de cloruro de sodio, posteriormente se agitan durante 10 minutos; al terminar el proceso, se filtra con un embudo y papel de filtro, se separan las dos fases, y se recuperan 25 ml de la fase acuosa. Por último, la fase orgánica se recupera en un vaso de precipitados, adicionando sulfato de sodio anhidro, después se seca con rotavapor a una temperatura de 80°C. El residuo se suspende en 200 µl de benceno-acetonitrilo y se siembran 10 µl en una placa de sílice con base de aluminio.

Para llevar una muestra testigo de concentración conocida, se siembran patrones de la aflatoxina depurada del producto inicial, y se desarrolla el mismo proceso de cromatografía, utilizando cloroformo-acetona como disolvente de

corrida. Una vez retirada la placa de la cámara, se deja secar y se procede a observarla bajo una lámpara de luz UV. Las placas cromatografías llevan un indicador fluorescente que permite la visualización de los compuestos activos a la luz ultravioleta. La presencia de un compuesto activo en el UV evita que el indicador absorba la luz en la zona en la que se encuentra el producto, dejando así la visualización de una mancha sin color en la placa que indica la presencia del compuesto. En casos donde los compuestos no absorben luz UV, la visualización del cromatograma se realiza a la inversa, es decir, se requiere el uso un agente revelador este tiene que reaccionar con los productos adsorbidos dando así un coloreado en las placas que indican la presencia de los compuestos. (Prado, 2018)

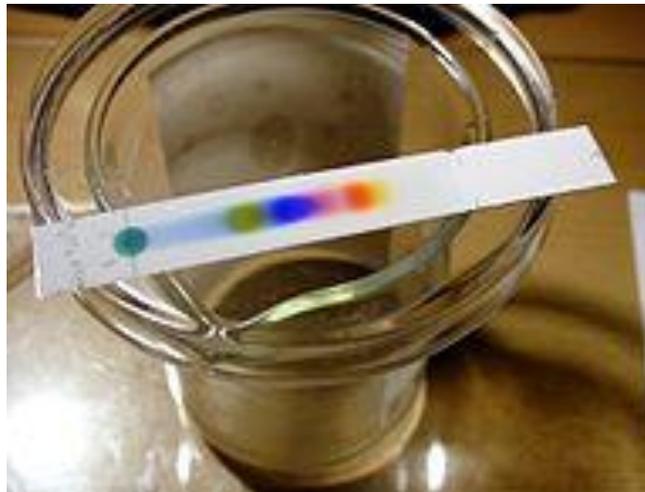


Figura 5. La cromatografía en Capa Delgada
Fuente: El sitio Avicola, 2008.

Cromatografía líquida de alta presión o HPLC.

Es la más utilizada en la industria para la detección, sin embargo, su realización es de elevados costos lo que la vuelve poco asequible, existen numerosos protocolos para el análisis. En la gran mayoría de los protocolos se realiza una pre-purificación de la muestra con columna de extracción en fase sólidos y la separación por HPLC posteriormente. Los métodos para la aplicación de la HPLC se clasifican según la fase estacionaria del proceso, se encuentran la cromatografía de absorción, realizada en solido-liquido, su separación es mediante desorción y absorción; la cromatografía de reparto, se basa en la separación por un reparto de soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria; como su nombre lo indica,

la cromatografía de intercambio iónico se da cuando los grupos ionizados de la fase estacionaria retienen a los de la contraria; por último la cromatografía de exclusión molecular usa la fase estacionaria como un filtro, mediante un material de poro controlado se seleccionan las moléculas de mayor tamaño y se deja paso a las de menor para el análisis. (Museo Nacional de Ciencia Naturales, 2005)

La cromatografía líquida actual consta de 5 componentes básicos para su realización:

- **Bomba.** Su función es suministrar un caudal constante y libre de pulsos de la fase móvil, pues podría interferir con la columna de la fase estacionaria; manejar una adecuada presión en cabeza de columna, ya que ésta puede obstruir las líneas de conducción. De igual forma se manejan los sistemas de mezclado, se utiliza una bomba para cada disolvente, que llegaran a la cámara de mezclas para volverse el eluyente, otra forma de mezclar es usando conexiones de “T” en las salidas de las bombas. El mayor inconveniente de este sistema de mezcla, es en casos donde se requieran numerosos diluyentes, pues se necesitaría de numerosas bombas y eso equivaldría a un alto coste. (Museo Nacional de Ciencia Naturales, 2005)
- **Sistema de inyección.** Cumple con introducir la muestra en la columna con la mayor finura posible para evitar obstrucciones en tuberías y cámaras. existen dos tipos de inyector, la jeringa que introduce el eluyente en la columna por medio de una aguja entra a través de una membrana, y deposita la muestra en la parte superior columna. Mientras el sistema de inyección por válvula, siendo el más utilizado por su practicidad, consta de dos puntos y 6 vías, dos de las cuales están conectadas entre sí por medio de una espira. Esta espira es un tubo de volumen conocido, cuya misión es la de contener la muestra antes de efectuarse la inyección; en la primera etapa se realiza a presión atmosférica, y consiste en cargar la muestra (eluyente) con ayuda de una jeringa dentro de la espira; en la segunda, mediante un giro de la válvula, se hace pasar el eluyente a través de la espira hasta la columna. (Museo Nacional de Ciencia Naturales, 2005)

- **Conexiones del sistema.** Son de vital importancia pues ensamblan los demás componentes, comunican y transportan toda la fase móvil; si presentan defectos pueden generar un volumen muerto lo que complicaría los resultados y la integridad del cromatógrafo. El tubo utilizado mayormente es de acero inoxidable o titanio, ya que éste debe ser inerte frente a la fase móvil y a las sustancias a separar; las conexiones pueden ser, uniones del mismo calibre donde se conectan tubos del mismo diámetro, y las reducciones que se emplean para modificar el diámetro de la conducción se dan únicamente en los extremos de las columnas. (Museo Nacional de Ciencia Naturales, 2005)
- **Columna.** Es en efecto el elemento fundamental de todo el cromatógrafo, puesto en ella recae toda la separación de componentes; por lo tanto, resulta fundamental una correcta elección, ya que con una columna inadecuada no obtendrán resultados verídicos. Las columnas más utilizadas en cromatografía son las de relleno; consisten en un tubo de acero, que se rellena de material poroso según la fase estacionaria adecuada al tipo separación que se pretende llevar a cabo. Las dimensiones estándar de los tubos para cámaras son de 2 a 60 mm para su diámetro y su longitud varía entre 5 y 30 cm. (Museo Nacional de Ciencia Naturales, 2005)
- **Detector.** Este dispositivo que permite registrar y medir, las propiedades y composición del eluyente. La detección en cromatografía se realiza, en la salida de la cámara estacionaria una vez se haya realizado la separación. Se puede hacer una división de los detectores en dos grupos, los que registran información estructural, de menor uso, y las que no las aportan, quienes, debido a sus datos de mayor relevancia industrial, son mayormente utilizados. Los pertenecientes al segundo grupo son los detectores de índice de refracción, electroquímica, conductividad eléctrica, radiación ultravioleta y fluorescencia. (Museo Nacional de Ciencia Naturales, 2005)

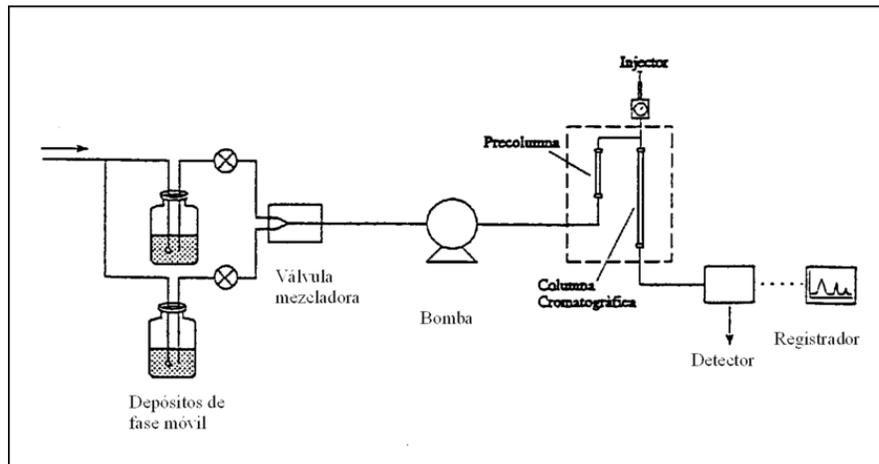


Figura 6. Componentes básicos de un sistema para HPLC.
Fuente: Casas, 1994.

Aplicación de la HPLC en Colombia.

Para determinar la presencia de aflatoxinas se emplea como detector la fluorescencia. Debido a la propiedad de generarla bajo ciertas condiciones controladas mediante la cromatografía. (Museo Nacional de Ciencia Naturales, 2005)

En 2009 el departamento de microbiología de la Universidad de Pamplona llevó acabo un experimento para determinar la presencia de los diferentes tipos de aflatoxinas en los alimentos en el departamento de Norte de Santander, Pamplona.

Fue adaptada la técnica de oficial de la HPLC, el proceso que se llevó a cabo fue el siguiente: En un recipiente de vidrio se mezclaron 50 g de muestra con 100 ml de acetonitrilo-agua, se homogenizaron durante 3 minutos en una licuadora. Posteriormente, se filtraron a través de papel filtro y se colectaron 5 ml de filtrado en un tubo de ensayo de 10 ml; Se insertó el extremo con el tapón de caucho en una columna 2006 en el tubo de ensayo, presionando lentamente hasta obtener cerca de 250 µl de extracto purificado. Se transfirieron cuantitativamente 200 µl de extracto purificado a un vial de 4 ml de capacidad con tapa de teflón; posteriormente se adicionaron 700 µl de reactivo de derivatización (ácido trifluoroacético/ácido acético/agua; 2:1:7). El contenido se calentó a 65° C (derivatización) durante 10 minutos en baño termostatado y se dejó enfriar a temperatura ambiente. El derivatizado se filtró a través de membrana de 0.45 µm de diámetro de poro y se

inyectan 50 μL en el cromatógrafo de líquidos. Los extractos derivatizados de la aflatoxina como la B2 y la G2 son estables en congelación durante 8 a 14 días sin pérdida significativa de fluorescencia. Los resultados mostraron que el 10% de las muestras presentaron niveles detectables de aflatoxina B1, los cuales oscilaban entre 18.42 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 71.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, con una media de 4.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$. El nivel más alto hallado de la micotoxina fue de 71.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$. (Rojas & Wilches, 2009)

Por otra parte, la Universidad Nacional de Colombia, realizó durante el 2011, un estudio de la presencia de aflatoxinas en el arroz y maíz, en donde determinaron mediante una prueba piloto los niveles de contaminación de los productos en cinco departamentos de la costa atlántica. Se inició con un muestreo donde se colectaron plantas de proceso, especialmente en las zonas de empaque y áreas destinadas al almacenamiento de producto terminado, también en centros de abasto y puntos de comercialización de las principales ciudades de cada departamento. Cada muestra se conformó de unos 5 kg del producto, a partir de tantas subunidades como correspondiera hasta lograr obtener 5 kg, dependiendo de la presentación comercial del producto final. Las muestras se tomaron correspondientes al mismo lote en diferentes puntos de las zonas de almacenamiento. En caso de productos a granel almacenados se colectaron las muestras utilizando los dispositivos “toma de muestras” propios de los establecimientos, en diferentes puntos de las tolvas o silos. Las muestras fueron homogenizadas mediante mezcla y se sometieron a molino estándar acoplado a motor. La primera fracción de molido correspondiente a la purga del dispositivo se descartó en cada caso. Posteriormente se seleccionó cerca de un kilogramo de producto molido y se dividió en dos submuestras de aproximadamente 500 g cada una, para el análisis y contramuestra respectivamente. (Morris, 2011)

El paso siguiente fue el análisis, que se empleó usando el estandarizado para las HLPC que consta de extracción, purificación, separación, derivatización post-columna y cuantificación por espectrometría de fluorescencia. A partir de la submuestra para análisis, se realizó una extracción de una fracción correspondiente a 50 gr adicionando una mezcla de 100 ml de acetonitrilo-agua y por agitación en vaivén durante una hora. El extracto se dejó reposar durante 5 minutos.

Posteriormente se filtraron aproximadamente 5 ml del extracto a través de papel de filtro cualitativo, en un tubo de ensayo. El extracto se purificó mediante columna multifuncional, insertando el extremo con el tapón de caucho de la columna de separación en el tubo de ensayo hasta obtener cerca de 250 μL de extracto purificado. Se transfirieron 200 μL del extracto purificado a un vial de vidrio, se adicionaron 600 μL de agua cromatográfica y se homogenizó el contenido en agitador de vórtice. De esta mezcla se inyectaron 10 μL en el cromatógrafo de líquidos. La separación de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 se llevó a cabo mediante una columna cromatográfica de fase reversa, usando como eluyente en la fase móvil agua-metanol-acetonitrilo y como es habitual un detector de fluorescencia. (Morris, 2011)

Los resultados mostraron que, en el arroz de los cinco departamentos, ninguno mostró niveles detectables de aflatoxinas de ningún tipo. Sin embargo, es de resaltar que el muestreo no fue puntual, sistemático o permanente, por lo que factores como las condiciones ambientales de cada sector pueden variar los resultados, además la alta demanda nacional de este producto reduce el almacenamiento del producto lo que evita la proliferación de los hongos. Por parte, en el maíz los resultados evidenciaron un 12,5% a la presencia de aflatoxinas B1, con valores encontrados entre 2,4 y 12,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ con una media de 7,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$; los resultados de aflatoxinas B2 totales se encontraron entre 2,4 y 14,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, con una media de 9,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ la cual se encuentra por debajo de los valores de referencia. En el maíz se encontró una marcada fluctuación en los departamentos, encontrando incidencias fuertes en unos y en la mayoría incidencia nula, sin embargo, no se debe tomar como generalidad. Esto refleja que aun en diferentes regiones, en diferentes épocas y años, se encuentran porcentajes de ocurrencia similares con medias superiores a los valores máximos tolerables, principalmente en centros de acopio con poca concurrencia o una enorme oferta, dejando ver que el manejo del grano continúa con deficiencias en sus condiciones, especialmente en el almacenamiento, donde habitualmente se produce la contaminación con B1 y B2. Esta característica resalta la necesidad de contar con políticas de inocuidad más efectivas para este tipo de productos y contaminantes. (Morris, 2011)

Otro de los métodos para la detección de aflatoxina es la técnica de ELISA. La FAO indica que para la detección de micotoxinas se puede utilizar esta técnica por el medio directo por medio del conjugado enzima-micotoxina o por el método indirecto de proteína-micotoxina y un anticuerpo secundario con el cual una enzima ha sido conjugada ya sea fosfatasa alcalina o β -galactosidasa. El procedimiento consiste en, después de que la micotoxina en cuestión, en este caso las aflatoxinas, es extraída de una muestra con algún disolvente generalmente metanol, se muele el producto de donde se obtuvo y se pesan 5 gramos de ésta y se colocan con 25 ml de disolución extractora, luego esta se agita vigorosamente durante 5 min y se filtran con papel filtro, lo obtenido del filtrado se diluye con agua. Se extrae una porción del extracto de la muestra y una porción de la aflatoxina depurada del producto inicial, la enzima conjugada se mezcla y después se añaden a los pocillos de micro-titulación recubiertas de anticuerpos. Se le deja competir a la aflatoxina con la micotoxina-conjugada por los sitios de unión de los anticuerpos. Después los sustratos se lavan, y se añade el sustrato de la enzima que desarrollara un color azul. La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de mico- toxina en la muestra. Una solución de neutralización se le es añadida posteriormente para detener la reacción enzimática. La intensidad del color de la solución en los pocillos de micro-titulación se mide ópticamente usando un filtro de absorbancia. Las densidades ópticas de las muestras se comparan con las densidades ópticas de los estándares para realizar el cálculo correspondiente a cada micotoxina y determinar su concentración de manera cuantitativa. (Prado, 2018)

Este método se llevó a cabo por parte de estudiantes de Microbiología Industrial de la Universidad Javeriana 2009, donde a través de este método determinaron los niveles de aflatoxina M1 presentes en las leches frescas comercializadas en el Valle del Cauca; en este caso tuvieron lugar 8 muestras de productores. Una vez realizado el método se determinó que los niveles de la aflatoxina M1 no sobrepasaron los límites, por lo tanto, se concluyó que los productores de leche mantenían en condiciones óptimas su producto. (Combita & Mildenberg, 2009)

Sin embargo, el método ELISA, a pesar de ser sencillo, manejable y de bajo costo, no es muy exacto, es aconsejable reconfirmar por alguno de los métodos señalados anteriormente cuando se encuentren resultados positivos mediante este método, ya que utiliza anticuerpos policlonales que pueden dar falsos positivos. El diagnóstico diferencial es bastante difícil ya que otras micotoxinas pueden presentarse junto a las Aflatoxinas, por lo que se sugiere realizar pruebas de laboratorio extensivas y diferenciarlas. (Escalona, Figueredo, Ramayo, & Ramos, 2005)

Descontaminación y detoxificación.

Cuando la aflatoxina ya está contaminando un producto usualmente se opta por someterla a procesos de limpieza procurando reestablecer la integridad; los métodos de descontaminación y detoxificación buscan eliminar y reducir la toxicidad de la aflatoxina respectivamente.

Para la descontaminación se busca no generar una toxicidad mayor a la existente, no dañar las propiedades organolépticas ni las nutricionales, para este proceso se utilizan tres métodos los cuales permiten restituir las condiciones favorables al alimento.

Métodos físicos

En estos métodos se tiene: adsorción, extracción con solventes, inactivación por calor e irradiación.

- **Absorción:** Los agentes adsorbentes son aquellos que tienen la capacidad de quemar las micotoxinas, lo cual permite reducir su disponibilidad. Estos agentes se unen a las micotoxinas que se encuentran en el alimento, evitando su disociación en el tracto digestivo del animal. Los agentes adsorbentes se clasifican como adsorbentes minerales entre los que están arcillas, carbón activado, tierra de diatomeas y adsorbentes orgánicos tales como fibras de plantas, extractos de paredes celulares de levadura y bacterias. (Martinez, Vargas, & Gomez, 2013)
- **Extracción:** Consiste en separar la micotoxina del producto mediante disolventes orgánicos, es muy eficaz, sin embargo, a gran escala es limitada por los altos

costos y disposición final de los residuos tóxicos. se ha usado para remover aflatoxinas en semillas oleaginosas, maní y semillas de algodón que a su vez pueden solo ser usadas para alimentación animal. (Soriano del Castillo, 2007)

- Calor: Las aflatoxinas tienen altas temperaturas de descomposición que van desde 237°C a 306°C. Se ha logrado usar calor para inactivar las aflatoxinas en alimentos contaminados, pero esto puede generar diversas repercusiones en las cualidades organolépticas y nutricionales en éstos. Es importante tener en cuenta en estos tratamientos, no solo la temperatura es importante, sino el tiempo de aplicación a la cual se ven sometidos, ya que conlleva a una mayor efectividad en el proceso de descontaminación. (Arrieta, y otros, 2008)
- Irradiación: es una de las últimas técnicas físicas empleadas, sin embargo, no destruye las micotoxinas y su mutagenicidad. Las aflatoxinas son sensibles a los rayos UV. AFB1 absorbe luz UV a 222, 265 y 362 nm, lo cual puede llevar a la formación de más de 12 productos de fotodegradación que son menos tóxicos. (Soriano del Castillo, 2007)

Métodos químicos.

Los estudios realizados han enfatizado en que los alimentos contaminados por aflatoxinas pueden ser detoxificados mediante el uso de sales inorgánicas y ácidos orgánicos, amonificación y el uso de los agentes aglutinantes de la AFB1. (USAID, 2009)

- Sales y ácidos: Los productos como carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de amonio, demostraron ser efectivos en la degradación de la aflatoxina en los granos de maíz; el ácido cítrico también reduce la presencia de la aflatoxina un 97% en los granos de arroz contaminado. (Arrieta, y otros, 2008)
- Amonificación: El amoníaco en su estado gaseoso es el químico con mejores resultados, sumando a la facilidad de acceso y uso, debe ser aplicado sobre el producto agrícola en un lugar sellado, esto garantizara por 2 semanas aproximadamente una limpieza en los granos. (Arrieta, y otros, 2008). Esta práctica normalmente hace que los productos inseguros para consumo se conviertan en seguros para el animal por la disminución de los niveles de

aflatoxinas. Estudios realizados en dos grupos de pollos lo demostraron: un grupo fue alimentado con maíz contaminado con aflatoxinas, y otro se alimentó con maíz contaminado con aflatoxinas que había sido tratado con amoníaco. Después de 6 semanas, el primer grupo mostró una tasa significativa de aflatoxicosis en comparación con el segundo grupo. (Prado, 2018)

- Nixtamalización: o hidrólisis alcalina es un proceso precolombino de tratamiento del maíz para la obtención de una masa que se emplea en la fabricación de las tradicionales tortillas mexicanas. Ha sido ampliamente postulado que durante el proceso de la nixtamalización se reduce del 75 al 90% del contenido de aflatoxinas del grano (Valdivia, Quezada, Ortiz, & Martinez de Anda, 2011)
- Ozonificación: La aplicación de ozono provee de un 80 a un 93% de reducción en el contenido de aflatoxina, mediante la reacción a través de los dobles enlaces 8, 9 del anillo de furano que poseen las aflatoxinas provocando un ataque electrofílico, que causaría la formación de ozónidos primarios seguido por transposición en derivados de monozónido tales como aldehídos, cetonas y ácidos orgánicos acabando así con la toxina. (Valdivia, Quezada, Ortiz, & Martinez de Anda, 2011)

Métodos biológicos

Se caracteriza por el uso de hongos y microorganismos directamente en cultivo o almacenamiento evitando el crecimiento del hongo problema, por lo general son usados organismos del mismo género o familia para mayor efectividad, en los microorganismos se usa principalmente *Flavobacterium aurantiacum* así como los probióticos *Lactobacillus* y *Propionibacterium*; las enzimas biotransformadas son partículas que modifican la aflatoxina y la derivan en compuestos menos tóxicos o sin ninguna propiedad toxica dejando así de ser un problema; y finalmente las plantas modificadas son realmente infusiones y extractos obtenidos de plantas medicinales con propiedades destoxicadoras que suponen una degradación de la toxina hasta lograr no ser metabolizada o siquiera absorbida en el tracto intestinal, las plantas *Trachyspermum ammi* son los principales componentes en los extractos logrando una respuesta de 46 a 65% de degradación de la aflatoxina. (Martinez, Vargas del Rio, & Gomez, 2013)

LEGISLACIÓN INTERNACIONAL Y NACIONAL.

Dentro del campo de las micotoxinas, las aflatoxinas son las más importantes para los países debido a su alta incidencia en el alimento y toxicidad, por lo cual se dedica mayor atención a su control, tanto en matrices alimenticias para humanos como para animales.

Legislación internacional

Los rangos de concentraciones permisibles de aflatoxinas en alimentos cambian de acuerdo a los países y su forma de legislar. Entre estos se encuentra la Unión Europea, La Asociación de Naciones del Sudeste de Asia y el Mercado Común del Sur (MERCOSUR). Dichos grupos han armonizado sus normativas para facilitar el comercio entre naciones. (Martinez, Vargas, & Gomez, 2013)

La legislación europea declara cuanto contenido de los diferentes tipos de aflatoxina (B1, B2, G1, G2, M1 y la presencia de todos ellos) está permitido dentro de ciertos productos agrícolas. (Diaz, 2017)

Tabla 9. Niveles permisibles en alimentos por la Unión Europea.

PRODUCTO (a)	CONTENIDO MAXIMO (µg/ kg o ppb)		
	B ₁	B ₁ + B ₂ + G ₁ + G ₂	M ₁
1. Cacahuets y otras semillas oleaginosas (j) que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios, con la excepción de: -los cacahuets y otras semillas oleaginosas que vayan a molerse para la producción de aceite vegetal refinado	8 (b)	15 (b)	
2. Almendras, pistachos y huesos de albaricoque que vayan a someterse a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios	12 (b)	15 (b)	
3. Avellanas y nueces del Brasil que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios	8 (b)	15 (b)	
4. Frutos de cáscara arbóreos, salvo los indicados en los puntos 2 y 3, que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios	5 (b)	10 (b)	
5. Cacahuets y otras semillas oleaginosas (j) y sus productos transformados destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes en los productos alimenticios, con la excepción de: - aceites vegetales crudos destinados a ser refinados - aceites vegetales refinados	2 (b)	4 (b)	
6. Almendras, pistachos y huesos de albaricoque destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios (k)	8 (b)	10 (b)	
7. Avellanas y nueces del Brasil destinadas al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios (k)	5 (b)	10 (b)	
8. Frutos de cáscara arbóreos, distintos de los indicados en los puntos 6 y 7, y sus productos transformados destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios	2 (b)	4 (b)	
9. Frutas desecadas, distintas de los higos secos, destinadas a ser sometidos a un proceso de selección u otro tratamiento físico, antes del consumo humano o de su uso como ingredientes de productos alimenticios	5	10	
10. Frutas desecadas, distintas de los higos secos, y productos derivados de su transformación, destinadas al consumo humano directo o a ser usados como ingredientes en los productos alimenticios	2	4	
11. Todos los cereales y todos los productos a base de cereales, incluidos los productos derivados de la transformación de cereales, a excepción de los productos alimenticios enumerados en los puntos 12, 15, y 17	2	4	
12. Maíz y arroz que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios	5	10	
13. Leche cruda (i), leche tratada térmicamente y leche para la fabricación de productos lácteos			0,050
14. Los siguientes tipos de especias: - Capsicum spp. (frutos desecados, enteros o triturados, con inclusión de los chiles, el chile en polvo, la cayena y el pimentón) - Piper spp. (frutos, con inclusión de la pimienta blanca y negra) - Myristica fragans (nuez moscada) - Zingiber officinale (jengibre) - Curcuma longa (cúrcuma) Mezclas de especias que contengan una o varias de estas Especies	5	10	
15. Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad (c) (d)	0,10		
16. Preparados para lactantes y preparados de continuación, incluidas la leche para lactantes y leche de continuación (e) (f)			0,025
17. Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales (g) (h) dirigidos específicamente a los lactantes	0,10		0,025
18. Higos secos	6	10	

Fuente: Secretaría de estado de turismo y comercio 2007

El 31 de mayo del 2006 se llevó a cabo la reglamentación para los límites máximos de aflatoxinas presentes en los alimentos por parte de los países latinoamericanos asociados a MERCOSUR, donde se estableció en el decreto 155/006, en el artículo número 2 son presentados de manera general los productos y niveles admisibles que rige el decreto, sin embargo en el anexo punto tres se expone la reglamentación de manera más específica. (Mercosur, 2006)

Tabla 10. Niveles permisibles por Mercosur.

ALIMENTO	AFLATOXINA	LIMITE
1. Leche		
1.1 Leche Fluida	M1	0,5 ug/kg
1.2 Leche en polvo	M1	50 ug/kg
2. Maíz		
2.1 Maíz en grano B1+B202+G1+G2 ug/kg (entero, partido, aplastado, mondado)	B1+B202+G1+G2	20 ug/kg
2.2 Harinas o semolas de maíz		
3. Maní		
3.1 Maní B1+B202+G1+G2 ug/kg (sin descascarar, descascarado, crudo o tostado)	B1+B202+G1+G2	20 ug/kg
3.2 Maní en pasta (pasta de maní o manteca de maní)		

Fuente: MERCOSUR, 2006

Así como los métodos de muestreo para la aceptación de los productos, en este caso los utilizados para la producción de alimento avícola son:

Maíz y maní: En el maíz, la muestra de 5kg es molida en malla 20, se homogeniza en pasta y es llevada a análisis de rutina. El maní por su parte también es molido y hecho pasta sin embargo al molerlo se usa una malla de 14, es horneado y dividido para muestras. Los dos productos son puestos en envases con humedad relativa de 60% y temperatura no superior a 25 grados. (Mercosur, 2006)

Harina de maíz: Se tomará el 1% del lote según bultos conformen el lote, después serán fraccionados y de cada unidad serán extraídos mínimo 50g. Una vez homogenizados las submuestras se divide una vez más en 3 las cuales irán al análisis de rutina. (Mercosur, 2006)

Los lotes serán aceptados si se determina la presencia de 20 ug/kg o menos, si el primer resultado es rechazado se puede efectuar el análisis de la segunda muestra y de presentar discordancia entre ambos resultados se hará el tercer y último análisis cuyo resultado es inapelable. (Mercosur, 2006)

Legislación Colombiana de micotoxinas.

Colombia carecía de interés en la prevención de la incidencia de las micotoxinas, pues no existían programas eficientes de monitoreo, control de calidad o laboratorios capaces de realizar estudios o análisis correspondientes, sin legislación nacional que reglamentara la situación de las micotoxinas, este problema era pasado por alto y causaba repercusiones en la sanidad de animales y el humano. (Duarte & Villamil, 2006)

Sin embargo, en el 2013 se instauró la resolución número 4506 para determinar los niveles máximos de contaminantes en los alimentos, así como el organismo responsable del control para el cumplimiento de este decreto, que corresponde al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). (Duarte & Villamil, 2006)

En Colombia, existen actualmente normas técnicas de aplicación voluntaria que establecen los requisitos para el muestreo y análisis de aflatoxinas totales en alimentos como:

- El maíz en grano para consumo (NTC 366). (ICONTEC, 2015)
- Cereales, leguminosas secas y sus productos molidos. muestreo de lotes estáticos (NTC 271). (ICONTEC, 2012)
- Arepas de maíz refrigeradas. especificaciones de producto (NTC 5372). (ICONTEC, 2007)
- Método de análisis de aflatoxinas de ocurrencia natural (B1, B2, G1 y G2) (NTC 1232). (ICONTEC, 1996)

A continuación, se presenta la tabla 9, donde se describen los niveles máximos permisibles en el alimento, considerando únicamente la aflatoxina.

Tabla 11. Niveles permisibles en los alimentos asociados con la avicultura en Colombia.

MICOTOXINA	PRODUCTO	NIVELES MAXIMOS PERMISIBLES
Suma de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2	Maní y otras semillas oleaginosas	15,0 ug/kg
	Maní procesado o sus derivados	10,0 ug/kg
	Cereales derivados y productos a base de ellos	4,0 ug/kg
	Maíz, arroz y sus harinas	10,0 ug/kg

Fuente: El Autor

CONCLUSIONES

En Colombia se ha encontrado una gran incidencia de aflatoxinas, en especial la AFB1, en diversos productos agrícolas como el maíz, arroz, maní y sorgo entre otros, lo que confirma que las aflatoxinas siguen siendo contaminantes naturales ampliamente distribuidos en alimentos y piensos de consumo humano y animal.

Actualmente se ha avanzado en gran manera a cerca de las investigaciones de las micotoxinas, se han identificado más de 500 conocidas y se cree que aún faltan más por descubrir; no obstante, solo a algunas de estas se han logrado determinar sus componentes, la influencia de factores ambientales en su aparición, razones de su activación en el organismo, los efectos que ocasionan tanto en el alimento como en los seres vivos y alternativas de prevención, control y detoxificación.

Las enfermedades asociadas con la ingesta de alimentos que contienen aflatoxinas se dan principalmente en el hígado y los riñones, órganos que sufren de un crecimiento o inflamación anormal, lo cual afecta el desarrollo general del animal, y a su vez si el consumo de este alimento contaminado es considerable podría conllevar a adquirir enfermedades crónicas como cáncer o hepatitis.

Las técnicas empleadas para el pre y post de la acción de la aflatoxina se basan específicamente en el buen cuidado del producto alimenticio, en emplear procesos oportunos de prevención y establecer un ambiente que evite el crecimiento de hongos, de igual forma que establecer mecanismos que permitan combatir y destruir esta toxina.

La legislación colombiana con respecto al tema de toxinas en alimentos es más rígida en cuanto a la cantidad de las concentraciones admisibles, en comparación con la legislación internacional, sin embargo, esta normativa no realiza separación o discriminación de los distintos tipos de micotoxinas, ignorando así el problema que estas pueden ocasionar individualmente.

RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta que Santander es uno de los departamentos de mayor producción avícola, se debe llevar a cabo un programa coordinado de controles, con el objeto de verificar la concentración de las aflatoxinas en los piensos de las aves de corral.

Dado que la concentración de esta micotoxina varía de un año a otro, es conveniente recopilar datos correspondientes a años consecutivos para crear un histórico que permita predecir su comportamiento y crear nuevas alternativas de prevención.

Se recomienda que para otras investigaciones más profundas y específicas sobre el tema, tenga como base esta monografía.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, C. (2008). Micotoxinas en nutrición animal. Obtenido de http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/Micotoxicosis/86-micotoxinas.pdf
- Arrieta, D., Perez, M., Gomez, C., Molero, G., Novoa, E., Rincon, H., & Ascanio, E. (Enero de 2008). Efecto del alimento contaminado con aflatoxina sobre la morfología hepática y actividad enzimática sérica en pollos de engorde. *Revista científica*, 39-47.
- Asquid, S. (2014). *Natural Occurrence of Mycotoxins in Food and Feed: Pakistan Perspective*. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1541-4337.12122>
- Biomin. (2015). *Micotoxina*. Obtenido de Biomin: <https://www.biomin.net/es/especies/aves/micotoxinas/>
- Blandon, J., & Denli, M. (2008). *La presencia de las micotoxinas en el pienso y su impacto en la producción avícola. Actualización*. Obtenido de http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1161831538a.pdf
- Bogantes, P., Bogantes, D., & Bogantes, S. (2009). *Aflatoxinas*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022004000400004
- Bueno, D., Salvano, M., Silva, J., Gonzalez, S., & Oliver, G. (2009). *Micotoxinas: Diagnóstico y prevención en aves de corral. Actualización*. (Vol. 16). Argentina. Obtenido de <https://micologia.uv.cl/index.php/Bolmicol/article/view/457/421>
- Carrillo, L. (2007). *Los hongos de los alimentos y forrajes*. Obtenido de <http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files.pdf>
- Carrillo, L. (2009). *Microbiología Agrícola. Modificado*. Argentina. Obtenido de <https://www.international-food-safety.com/pdf/Mycotoxins%20-%20Risks%20in%20Plant,%20Animals%20and%20Human%20Systems.pdf>

- Cast. (2003). *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal,*. Obtenido de <https://www.international-food-safety.com/pdf/Mycotoxins%20-%20Risks%20in%20Plant,%20Animals%20and%20Human%20Systems.pdf>
- Castañeda , R., Chirivella, J., & Carbonell, E. (2012). Micotoxicosis derivadas de la nutrición animal. Revisión del tema. *Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación*, 51-61.
- Cesár, D. (2007). Micotoxinas. *Plan agropecuario actualizado*, 46-50. Obtenido de http://planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R101/R101_46.pdf
- Combata , A., & Mildenberg, S. (2009). Detección de aflatoxina M1 en leches frescas comercializadas en la zona del Valle del Cauca (Colombia) mediante la técnica Eliza. *Pontificia Universidad Javeriana*. Bogota.
- Cornejo, J., & Villarroel, O. (2012). *Antecedentes generales sobre las aflatoxinas y otras micotoxinas y elementos a tener en cuenta para el diseño de practicas correctas de cultivo y elaboración de nueces*. Chile. Obtenido de <https://www.minsal.cl/portal/url/item/72fd6274dad8792ee04001011f0109e4.pdf>
- Cuca, M., Lopez, L., & Lopez, R. (2010). Efecto de las aflatoxinas sobre gallinas en postura. *Revista mexicana de ciencias pecuarias. Modificada.*, 28-32.
- Diaz, A. (Marzo de 2017). *Legislación de la union europea sobre contenidos maximos de micotoxinas en productos alimenticios*. Obtenido de Secretaria de estado de turismo y comercio: <http://plaguicidas.comercio.es/Micotox.pdf>
- Duarte, S., & Villamil, J. (2006). Micotoxina en la salud publica. *Revista de salud publica.*, 129-135.
- El Sitio Avícola. (2008). *Compendio de micotoxinas*. Obtenido de <http://www.elsitioavicola.com/focus/biomin/2607/compendio-de-micotoxinas-informacion>
- Escalona, A., Figueredo, M., Ramayo, Y., & Ramos, O. (2005). *Revista Cientica. Micotoxinas*. Obtenido de Revistas Cientificas-Publicaciones: <http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEEFyZVkAIQqVRsQj.p hp>
- Fierro, J. (Diciembre de 2008). *Toxicidad de la alfatoxina B1 Y ocratoxina A en pollo de engorda*. Obtenido de Engormix:

<https://www.engormix.com/avicultura/articulos/toxicidad-aflatoxina-ocratoxina-pollo-t27747.htm>

Gimeno, A. (Junio de 2012). *Metodos para el analisis de las micotoxinas*. Obtenido de Engormix: www.engormix.com/micotoxinas/articulos/metodos-analisis-micotoxinas-t2601.htm

Gimeno, A. (2012). *Micotoxicosis en gallinas reproductoras*. Obtenido de <https://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11485/articulos-aves-archivo/micotoxicosis-en-gallinas-reproductoras.html>

Guzman de Peña, D. (2007). La exposicion a la aflatoxina B1 en animales de laboratorio y su significado en la salud publica. *Salud publica Mexico*, 52-73. Obtenido de Scielo.

Hernandez, J. (Septiembre de 2017). *La enfermedad que broto de los pavos*. Obtenido de Juventud rebelde: <http://www.juventudrebelde.cu/suplementos/en-red/2017-05-07/la-enfermedad-que-broto-de-los-pavos>

Hesseltine, Shotwell, Ellis, & Stubblefield. (1966). *Aflatoxin Formation by Aspergillus flavus*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC441016/pdf/bactrev00194-0096.pdf>

ICONTEC. (1996). *NTC 1232. Metodo de analisis de Aflatoxinas de ocurrencia natural (B1, B2, G1, G2)*. Obtenido de <https://www.icontec.org/Sec/Paginas/Agr.aspx>

ICONTEC. (2007). *NTC 5372. Arepas de maiz refrigeradas. Especificaciones de producto*. Obtenido de <https://www.icontec.org/Sec/Paginas/Agr.aspx>

ICONTEC. (2012). *NTC 271. Cereales, leguminosas secas y sus productos molidos. Muestreo de lotes estáticos*. Obtenido de <https://www.icontec.org/Sec/Paginas/Agr.aspx>

ICONTEC. (2015). *NTC 366. El maiz en grano para consumo*. Obtenido de <https://www.icontec.org/Sec/Paginas/Agr.aspx>

Khalloub, P., Diab, S., Licoff, N., Bengolea, A., Lázaro, L., Canton, G., & Odriozola, E. (2009). Efecto del consumo de *Claviceps purpurea* en bovinos en engorde.

Revista de Medicina Veterinaria, 68-72. Obtenido de http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/intoxicaciones/128-Claviceps_purpurea.pdf

Leal , J. (2012). *Efectos de las principales micotoxinas presentes en la ración total mezclada en ganado lechero en alta producción*. Obtenido de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7259/JOSE%20ALFREDO%20LEAL%20RAMIREZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Mallmann, C., Hummes, R., & Giacomini, L. (Noviembre de 2007). *Factores de formación de las micotoxinas y sus formas de control*. Obtenido de Engormix: <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/factores-formacion-micotoxinas-sus-t27383.htm>

Mallmann, C., Hummes, R., & Giacomini, L. (2010). *Control, monitoreo y manejo de micotoxinas en explotaciones avícolas*. Obtenido de Nutritime: www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/Artigo50_20060515_explotaciones.pdf

Mallmann, Dilkin, P., Zanini, L., Hummes, R., & Pereire, C. (Noviembre de 2007). *Micotoxinas en ingredientes para alimento balanceado de aves*. Obtenido de Engormix: <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/micotoxinas-ingredientes-alimento-balanceado-t27382.htm>

Martinez, M. M., Vargas, L., & Gomez, V. (2013). Aflatoxinas: Incidencia, impactos en la salud, control y prevención. *Biosalud*, 89-109. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n2/v12n2a08.pdf>

Martinez, M., Vargas del Rio, L., & Gomez, V. (2013). Aflatoxinas: Incidencia, impactos en la salud, control y prevención. *Biosalud*, 89-109.

Mercosur. (Junio de 2006). *Decreto N° 155/006-Mercosur. Reglamento tecnico sobre limites maximos de aflatoxinas admisibles en leche, mani y maiz. Se declara aplicable al derecho interno*. Obtenido de El derecho digital: <http://www.elderechodigital.com.uy/notas/PPLA12.html>

Michele, M. (Enero de 2019). *Impacto de las micotoxinas en los pavos*. Obtenido de Engormix: <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/impacto-micotoxinas-pavos-t43131.htm>

- Morris, L. (2011). *Determinación de aflatoxinas en muestras de maiz (Zea mays) y arroz (Oryza sativa) para consumo humano en cinco departamentos de la Costa Caribe Colombiana mediante cromatografía de alta eficiencia durante seis meses en 2011*. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia: <file:///F:/aflatoxina%20pdf.pdf>
- Museo Nacional de Ciencia Naturales. (2005). *Cromatografía líquida de alta eficacia*. Obtenido de MNCN- Repositorio: http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_liquida_de_alta_eficacia.pdf
- Organización Mundial de la Salud. (2018). *Micotoxinas*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>
- Perez, J., Mogollon, F., Suarez, A., Salas, R., & Bernal, J. (2014). Intoxicación por micotoxinas en pollos de engorde: reporte. *Revista citecsa*, 49-57. Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/1078/1/>
- Pires, A., & Santurio, j. (2005). *Mycotoxins on poultry production*. Obtenido de http://www.vtd.org.tr/siteimages/meeting7/17-rosa-mycotoxins_on_poultry_production.pdf
- Prado, R. (2018). *Revisión sobre las aflatoxinas en Avicultura*. Obtenido de Universidad de ciencias aplicadas y ambientales: <file:///F:/Revisi%C3%B3n%20sobre%20las%20aflatoxinas%20en%20Avicultura%20final.pdf>
- Quirarte, M. (2017). *Micotoxinas. El lado oscuro de los cereales*. Obtenido de <http://ganaderiadiversificada.blogspot.com/2017/>
- Rojas , O., & Wilches, A. (2009). *Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander*. Obtenido de Universidad de Pamplona: http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallG/home_10/recursos/general/pag_contenido/publicaciones/bistua_revista_ciencias_basica/2009/23022010/art_15.pdf
- Santin, E. (2018). *Conociendo el impacto de las micotoxinas en Avicultura*. Obtenido de <http://www.wpsa->

aeca.es/aeca_imgs_docs/conociendo_el_impacto_de_las_micotoxinas_en_avicultura_-_santin,_e.pdf

- Soriano del Castillo, J. (2007). *Mitocoxinas en alimentos*. (Dias de santos, Ed.)
Obtenido de <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788087.pdf>
- Tapia , C., & Amaro, J. (2014). *Género Fusarium*. Obtenido de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n1/art12.pdf>
- Tsang, C., Tang, J., Lau, S., & Woo, P. (2018). Taxonomy and evolution of Aspergillus, Penicillium and Talaromyces in the omics era – Past, present and future. Hong Kong. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6039702/>
- Urrego, J., & Diaz, G. (Junio de 2006). *Aflatoxinas: mecanismos de toxicidad en la etiología de cancer hepatico celular*. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112006000200006
- USAID. (2009). *Aflatoxin: A Synthesis of the Research in Health, AGRICULTURE AND TRADE*. United States : Agency for International Development. Obtenido de https://www.danya.com/portfolio/aflatoxin_report.pdf
- Uttpatel, R., Santos, C., Alexandre , P., Forgiarini, R., Londero, A., Todelo, T., . . . Pontin, K. (Junio de 2014). *Efectos de la aflatoxina en reproductoras y pollos de engorde*. Obtenido de El sitio vicola: www.elsitioavicola.com/articles/2562/efectos-de-aflatoxinas-en-reproductoras-y-pollo-engorde/
- Valdivia, A., Quezada, C., Ortiz, R., & Martinez de Anda, A. (2011). Implicaciones de la contaminación de alimentos por Aflatoxinas. *Investigación y ciencia. Actualización*, 2-8. Obtenido de <https://investigacion.uaa.mx/RevistalyC/archivo/revista23/Articulo%201.pdf>
- Viquez, O., Castell-perez, E., Shelby, R., & Brown, G. (1994). Aflatoxin Contamination in Corn Samples Due to Environmental Conditions, Aflatoxin-Producing Strains, and Nutrients in Grain Grown in Costa Rica. *J. Agric. Food*

Chem, 42, 2551- 2555. Obtenido de
<https://eurekamag.com/pdf/008/008117615.pdf>

Whitlow, L., & Hagler, M. (2008). *Mycotoxin Effects in Dairy Cattle*. Obtenido de
<http://www.dairyweb.ca/Resources/4SDNMC2006/Whitlow.pdf>

Wyatt, R. (1988). Las micotoxinas en el pienso, un peligro para la salud de las aves.
Vineland Update. Obtenido de
https://ddd.uab.cat/pub/selavi/selavi_a1989m5v31n5/selavi_a1989m5v31n5p142.pdf