

## **Diagnóstico de aflatoxinas em amostras enviadas ao centro de pesquisa e estudos avançados em saúde animal da universidade autônoma do estado do México**

### **Diagnosis of aflatoxins in samples sent to the center for research and advanced studies in animal health of the autonomous university of the state of Mexico**

DOI: 10.34188/bjaerv5n3-017

Recebimento dos originais: 06/05/2022

Aceitação para publicação: 30/06/2022

#### **Benjamín Valladares Carranza**

Doctorado en Ciencias Agropecuarias por la Universidad Autónoma de Zacatecas. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México, km 15.5 Carretera Panamericana Toluca-Atlacomulco, Toluca CP 50200, Estado de México, México

E-mail: bvalladaresc@uaemex.mx

#### **Valente Velázquez Ordoñez**

Doctorado en Ciencias Veterinarias por la Universidad Autónoma del Estado de México. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. México. Campus UAEM "El Rosedal" San Cayetano de Morelos, Municipio de Toluca, México

E-mail: vvo@uaemex.mx

#### **José Luis Carlos Bedolla Cedeño**

Maestría en Educación en Ciencias Naturales por el Instituto Michoacano de Ciencias de la Educación. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Calle Santiago Tapia No. 403 Col. Centro. Morelia. Michoacán. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. La Palma. Municipio de Tarímbaro, Michoacán. México

E-mail: bedollajl@yahoo.com.mx

#### **Lucia Delgadillo Ruiz**

Doctorado en Ciencias Agropecuarias por la Universidad Autónoma de Zacatecas. Unidad Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Zacatecas. Avenida preparatoria s/n. Colonia Hidráulica, CP. 98068, Zacatecas, Zacatecas, México

E-mail: luciadelgadillo@uaz.edu.mx

#### **Rómulo Bañuelos Valenzuela**

Doctorado en Biotecnología Ruminal por la Universidad Autónoma de Colima. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Zacatecas. Carretera panamericana Zacatecas-Fresnillo, km 31.5 Calera de Víctor Rosales, Zacatecas. México, C.P. 98500

E-mail: apozolero@hotmail.com

**Nallely Rivero Pérez**

Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Rancho Universitario Av. Universidad km 1, Ex-Hda. de Aquetzalpa, Tulancingo C.P. 43600, Hidalgo, México  
E-mail: nallely\_rivero@uaeh.edu.mx

**Adrián Zaragoza Bastida**

Doctorado en Ciencias de la Salud en el Laboratorio de Microbiología Médica y Ambiental Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Rancho Universitario Av. Universidad km 1, Ex-Hda. de Aquetzalpa, Tulancingo CP 43600, Hidalgo, México  
E-mail: adrian\_zaragoza@uaeh.edu.mx

**Cesar Ortega Santana**

Doctorado en Ciencia Veterinarias por la Universidad Austral de Chile. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México, km 15.5 Carretera Panamericana Toluca-Atlacomulco, Toluca CP 50200, Estado de México, México  
E-mail: cortegas@uaemex.mx

**RESUMO**

As micotoxinas contaminam diversos alimentos e ingredientes alimentares e são um problema atual; fatores como umidade e temperatura favorecem o desenvolvimento de fungos e a produção de suas toxinas. Com o objetivo de analisar e considerar a positividade de diferentes amostras enviadas para estudo toxicológico ao Centro de Pesquisa e Estudos Avançados em Saúde Animal (CIESA-UAEMéx), no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2019; utilizou-se o método Stoloff para determinação de aflatoxinas (teste qualitativo de cromatografia em camada delgada), e revisou-se o arquivo de diagnóstico das amostras processadas na área de toxicologia; A estatística descritiva foi utilizada para avaliação dos dados. O número de amostras processadas no período do estudo foi de 67; o tipo de amostras correspondeu a alimentos para suínos, aves, equinos e bovinos (milho em grão, palha de milho, alfafa encolhida, esterco de galinha-polinaza), além de amostras clínicas de animais mortos por causas sugestivas de intoxicação por aflatoxicose (fígado, rim, sangue total e conteúdo ruminal). Fígado e esterco de aves apresentaram o maior percentual de amostras enviadas para diagnóstico com 26,86%. Do total de amostras analisadas, 53,73% foram positivas para micotoxinas, encontrando apenas metabólitos AFG1 e AFG2 (36 e 33 amostras, respectivamente). Das 18 amostras de fígado, obteve-se uma positividade de 50% (9/18), sendo 8 para aflatoxina G1 e 9 para G2; no caso de esterco de galinha-esterco de aves de 18 amostras, 77,77% foram positivos para aflatoxinas (14/18), 14 para G1 e 11 para G2. Existem falhas no processo de produção, transformação ou conservação dos alimentos, pelo que é importante tomar medidas para garantir e conservar estes.

**Palavras-chave:** Aflatoxinas, AFG1, AFG2, amostras biológicas, diagnóstico.

**ABSTRACT**

Mycotoxins contaminate different foods and food ingredients and are a current problem; Factors such as humidity and temperature favor the development of molds and the production of their toxins. With the objective of analyzing and considering the positivity of different samples sent for toxicological study to the Center for Research and Advanced Studies in Animal Health (CIESA-UAEMéx), during the period from January 2017 to December 2019; the Stoloff method was used

to determine aflatoxins (qualitative thin-layer chromatography test), and the diagnostic file of the samples processed in the toxicology area was reviewed; Descriptive statistics were used for data evaluation. The number of samples processed in the study period was 67; the type of samples corresponded to food for pigs, poultry, horses and cattle (grain corn, corn stover, shrunken alfalfa, chicken manure-pollinaza), in addition to clinical samples of dead animals due to causes suggestive of aflatoxicosis intoxication (liver, kidney, whole blood and ruminal contents). Liver and poultry manure presented the highest percentage of samples sent for diagnosis with 26.86%. Of the total samples analyzed, 53.73% were positive for mycotoxins, finding only AFG1 and AFG2 metabolites (36 and 33 samples, respectively). Of 18 liver samples, a positivity of 50% (9/18) was obtained, 8 of them to aflatoxin G1 and 9 to G2; in the case of chicken manure-poultry manure of 18 samples, 77.77% were positive for aflatoxins (14/18), 14 to G1 and 11 to G2. There are flaws in the process of production, processing or preservation of food, so it is important to take measures to ensure and preserve these.

**Keywords:** Aflatoxins, AFG1, AFG2, biological samples, diagnosis.

## 1 INTRODUCCIÓN

Entre los aspectos de la calidad higiénica de los alimentos que son suministrados a los diferentes animales domésticos, como el caso de la alfalfa achicalada, avena, maíz (grano y ensilado), sorgo y trigo, requieren de un manejo adecuado, debido a las contaminaciones que en ocasiones suele presentarse por bacterias, actinomicetos, levaduras, mohos y sus toxinas; estos últimos producen intoxicaciones alimentarias graves, conocidas como micotoxicosis. Ningún alimento está exento de contaminarse con los mohos y sus toxinas (Cabañes, 2000).

En el desarrollo fúngico desempeñan un papel importante diversos factores dentro de los cuales se encuentran: la humedad relativa, humedad absoluta, temperatura ambiental y del sustrato, así como del factor nutritivo, mientras que para la síntesis de las toxinas es también de especial interés la capacidad genética de algunas especies de mohos. Los mohos provocan una disminución del valor nutritivo (de 25 hasta un 50%) y biológico de los alimentos, lo que se traduce en enfermedades carenciales o deficitarias en los animales que consumen alimentos con dichas características. Las toxinas elaboradas por los mohos son lanzadas al sustrato o alimento; de esa forma se agrava su calidad y aumenta el riesgo en los animales a contraer una micotoxicosis (Cabañes, 2000; Valladares-Carranza *et al.*, 2019).

Existen diferentes tipos de micotoxicosis las que reciben su nombre específico en dependencia del moho y la toxina que las produce constituyendo las micotoxicosis en términos generales. Las más estudiadas y de mayor interés son: aflatoxicosis, ocratoxicosis, ergotismo, fusariotoxicosis (F-2, T-2, Tricotecenos), Citrinina y Patulina; así como unas no tan importantes como: rubrotoxicosis, luteosquirina, rugulosa, citreoviridina, toxicosis por ácido kójico, ácido penicilínico, ácido aspergílico, ácido betanitropopanoico, ácido ciclopiazónico, toxinas tremorgénicas producidas por los *Aspergillus* y *Penicilium*, verrucarina, roridina, penitrem A,

esporodesmina, oxalatos y alcaloides producidos por roya y tisonos. Entre las toxinas de fusarium están el diacetoxiescirpenol, fusarelonan, nivalenon y neosolaniol (Roy *et al.*, 2004). Las aflatoxinas tienen una gran actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. El principal síndrome que producen es el hepatotóxico, también pueden provocar problemas renales; son inmunosupresivas ya que inhiben la síntesis proteica interrumpiendo la síntesis del ADN y ARN (Castella, 2000).

En ocasiones las concentraciones encontradas de micotoxinas no provocan una intoxicación aguda, sin embargo, concentraciones inferiores a la dosis letal traen el inconveniente de no poder alcanzar rendimientos óptimos en los diferentes índices productivos debido a: Rechazo del alimento; disminución de la tasa de crecimiento; efectos negativos sobre la reproducción; reducción de la función inmunológica; y contaminación de alimentos y otros productos de origen animal. Todas las especies de animales domésticos resultan sensibles a las aflatoxinas, solo que unas más que otras; así por ejemplo los patos, pavipollos, cerdos hasta en peso vivo de 50 kg, los terneros hasta el tercer mes de vida y los perros son de las especies más susceptibles, a las que siguen en orden descendente gansos, faisanes jóvenes y los pollos. El ovino es la especie animal más resistente (Bueno *et al.*, 2001; Vilar *et al.*, 2003).

La susceptibilidad está relacionada con la rapidez de penetración de las aflatoxinas en el hepatocito, lo cual está condicionado por la resistencia que ofrezca la membrana celular que estará dada por el balance hepatocelular, el rango y el tipo de metabolismo hepático, así como la velocidad con que sean eliminadas por el organismo. Los primeros indicios de intoxicación por aflatoxinas incluyen reducción del consumo de materia seca y posterior pérdidas de peso o disminución de la tasa de crecimiento. También se ha observado que la intoxicación disminuye la eficiencia de conversión de los alimentos, aumento de la susceptibilidad al estrés y reducción de la respuesta reproductiva. La aflatoxicosis crónica se caracteriza por piel seca, prolapso rectal, anorexia, daño hepático, y niveles elevados en sangre de colesterol y bilirrubina (Prudent, 2002; Valladares *et al.*, 2017).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la presencia micotoxinas de diferentes alimentos y muestras biológicas (tejidos y sangre completa), durante el periodo de enero 2017 a diciembre 2019, y considerar la positividad de las diferentes muestras clínicas enviadas para estudio toxicológico al Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA-UAEMéx), que ayude a disminuir la baja productividad o decesos en diferentes unidades de producción animal.

## 2 MATERIAL Y MÉTODO

Para la extracción de micotoxinas se utilizó el método de Stoloff, técnica usada para separar un producto orgánico (en este caso las micotoxinas) de una mezcla de reacción a través de diferentes solventes químicos, realizando tres repeticiones por muestra; las muestras procesadas fueron hígado, riñón, contenido ruminal, sangre; alimento concentrado, gallinaza-pollinaza, rastrojo de maíz, alfalfa y granos (maíz, trigo y cebada). Esta técnica de extracción se caracteriza por utilizar solventes altamente volátiles, provocando una separación y disolución de los metabolitos (micotoxinas), que son afines a la reacción bioquímica – estructural con las sustancias utilizadas, el desarrollo de la técnica se lleva a cabo con un manejo cuidadoso de todas las sustancias. Adicionalmente se usó información del área de toxicología (historias clínicas y el reporte emitido). Para el reporte de resultados obtenidos se utilizó estadística descriptiva.

## 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo se identificó y determino el contenido de micotoxinas en diferentes muestras remitidas para diagnóstico, y se revisó el archivo de diagnóstico de la área de toxicología, en donde se determinó que el número de muestras procesadas fue de 67; el tipo de muestras correspondieron a alimento para cerdos, aves, equinos y bovinos (maíz grano, rastrojo de maíz, alfalfa achicalada, pollinaza y gallinaza), además de muestras clínicas de animales muertos por causa sugestiva de intoxicación (hígado, riñón, sangre completa y contenido ruminal) (Cuadro 1).

El interés de los productores - remitentes de evaluar las diferentes muestras fue por la ocurrencia de problemas patológicos en sus unidades de producción, lo cual ha repercutido en baja productividad o pérdidas económicas; estando inmerso algún contaminante en cualquiera de los ingredientes de la ración.

Cuadro 1. Tipo de muestras remitidas a diagnóstico al área de toxicología para determinación de micotoxinas del periodo 2017-2019.

Tipo de muestra / Año	2017	2018	2019	Porcentaje
Alimento concentrado	4	3	-	10.44
Alfalfa achicalada	3	2	-	7.46
Contenido ruminal	2	3	-	7.46
Gallinaza-Pollinaza	-	-	14	26.86
Hígado	8	7	3	26.86
Maíz grano	4	2	-	8.95
Rastrojo de maíz	2	1	-	4.47
Riñón	-	3	-	4.47
Sangre completa	1	1	-	2.98
Total	24	22	21	

No se encontraron datos disponibles de estudios similares con los que podamos contrastar nuestros resultados, sin embargo, de manera general al diagnóstico de todo tipo de muestras, estas se deben considerar en todo momento libres de cualquier contaminante sólido, líquido o gaseoso (impregnación). Del total de muestras analizadas el 53.73 % fueron positivas a micotoxinas, encontrándose solo metabolitos de AFG1 y AFG2. A diferencia del estudio realizado por Caballero (2015), que refiere una positividad del 80%, y las principales aflatoxinas detectadas, fueron: B1, B2, G1 y G2, a través de cromatografía en capa fina con el método de Stoloff.

Se ha establecido que los diversos problemas patológicos están caracterizados por especie, siendo los principales los hepatotóxicos, nefrotóxicos, carcinógenos, y reproductivos, afección a la médula ósea y a eritrocitos, e incluso con un problema secundario pueden provocar la muerte del individuo que las consume de manera frecuente (Gimeno, 2007). Los resultados permiten observar que el hígado represento el mayor porcentaje de muestras enviadas para diagnóstico en animales muertos sugestivos de intoxicación por aflatoxinas con un 26.86% (18/67) durante el periodo evaluado, y la gallinaza.pollinaza 26.869 % (18/67). Para un diagnóstico más puntual al pretender determinar metabolitos producidos por las micotoxinas una vez que se ha producido el deceso de alguna especie animal, es la evaluación del hígado, ya que aquí es en donde se desarrolla el proceso de biotransformación, y en el cual existen diferentes receptores que pueden inferir en el control de diferentes reacciones adversas que se producen por el ingreso vía digestiva de alimentos contaminados con micotoxinas al organismo (Peña *et al.*, 2015).

En muchos casos es importante la verificación y evaluación continua de los diferentes ingredientes utilizados en la dieta de las diferentes especies animales e incluso en los que se consumen en la dieta humana; en estudio realizado por Peña *et al.*, (2015) determinaron que en un alimento no necesariamente se puede observar macroscópicamente el contenido de micotoxinas; ya que al evaluar en contenido de diferentes maíces que se cultivan en México, determinaron una alta positividad a micotoxinas del tipo G1, G2 y B1, por lo cual es imperante el valorar todos aquellos lotes de alimentos o ingredientes que puedan ser sospechosos o de interés para los productores, con la finalidad de prevenir pérdidas por el deceso o el mal desempeño productivo de las diferentes especies animales.

El efecto de las micotoxinas puede ser muy variable desde el curso o cuadro clínico; sin embargo el efecto más severo es cuando externamente no ocasiona signos clínicos evidentes o estos son imperceptibles (Valladares *et al.*, 2017); ocasionando daño hepático o renal, de ahí que el diagnóstico de laboratorio sean de interés las muestras como: hígado o el riñón, que en el caso de este estudio se procesaron 18 y 3 muestras respectivamente; con una positividad en hígado del 50% (9/18) 8 de ellas a aflatoxina G1 y 9 a la G2 (Cuadro 2).



Cuadro 2. Muestras positivas a micotoxinas G1 y G2 en el periodo 2017-2019.

Tipo de muestra / Año	2017		2018		2019		TOTAL	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2
Alimento concentrado	2	-	1	1	-	-	3	1
Alfalfa achicalada	-	-	1	2	-	-	1	2
Contenido ruminal	-	-	2	2	-	-	2	2
Gallinaza-Pollinaza	-	-	-	-	14	11	14	11
Hígado	4	3	3	4	1	2	8	9
Maíz grano	2	2	2	2	-	-	4	4
Rastrojo de maíz	2	1	-	-	-	-	2	1
Riñón	-	-	1	2	-	-	1	2
Sangre completa	-	1	1	-	-	-	1	1
Total	10	7	11	13	15	13	36	33

Cabe mencionar que en el diagnóstico de cada una de las muestras se presentan a diferentes estándares de aflatoxinas, como: B1, B2, G1, G2, HT2, Ocratoxina y Zearalenona y en donde los resultados obtenidos muestran la positividad a aflatoxina G1 en 36 muestras y 33 a G2, esto con la metodología utilizada de tipo cualitativo. Asimismo, se pueden también obtener diagnósticos de positividad a micotoxinas y de los posibles analitos de estas, ya que de una o varias de las consideradas pueden expresar a metabolitos como: B1, B2, G1 y G2 (Stoloff, 1999).

En cuanto al periodo de evaluación, la solicitud de parte de los productores fue variable, esto posiblemente en dependencia de sus actividades agropecuarias – producción, se presentan de forma aguda o crónica procesos tóxicos en las diferentes especies animales; esto quizá puede estar relacionado al tipo de alimentación y por la condicionante de almacenaje y preparación de los alimentos que son ofrecidos a los animales. Otro punto importante es considerar la calidad de los ingredientes que son utilizados en la elaboración de los alimentos; ya que las aflatoxinas pueden utilizar ciertos sustratos como pectinas, carbohidratos como polisacáridos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos para desarrollarse. Estudios han mostrado que los nutrientes y el tipo de sustrato son importantes para la producción de aflatoxinas, la cual se puede verse 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. Así como las interacciones de las aflatoxinas con los lípidos de la dieta son las responsables de ocasionar las principales manifestaciones de desórdenes digestivos por la disminución de la actividad de enzimas digestivas, lo cual se expresa en un síndrome de mala absorción, donde se observa la presencia de lípidos en heces (Williams *et al.*, 2002; Rojas y Wilches, 2009; Valladares-Carranza *et al.*, 2019).

Es recomendable que los productores revisen y adecuen los sitios en donde llevan a cabo el almacenamiento de materias primas que consumen las diferentes especies animales (maíz y otros granos, e insumos: zacate de maíz, heno de avena, alfalfa achicalada, entre otros) que minimicen el factor de riesgo y contaminación por aflatoxinas.

#### **4 CONCLUSIÓN**

El 53.73 % de las muestras analizadas fueron positivas a micotoxinas, encontrándose solo metabolitos de AFG1 y AFG2. En las muestras positivas, los metabolitos detectados fueron: G1 (36) y G2 (33).



## REFERENCIAS

- Bueno, D.J., Salvano, M., Silva, J.O., González, S.N. 2001. Micotoxins: Diagnosis and Prevention in Poultry. *Boletín micológico*. 16:23-36.
- Caballero, R.M.P. 2015. Determinación de aflatoxinas en alimento comercial para perros. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.
- Cabañes J.F. 2000. Emerging micotoxins. Introduction. *Revista iberoamericana de Micología*. 17 (2): 561-575.
- Castella, G. 2000. Mycotoxin – Producing fungi. *Revista Iberoamericana de Micología* 17 (2): 563-568.
- Gimeno A. 2007. Aflatoxicosis en Humanos Provocada por el Consumo de Alimentos Contaminados, que no son de Origen Animal. <http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/aflatoxicosis-humanos-provocada-consumo-t1662/p0.htm> (13 de Mayo de 2020).
- Peña, B.S., Valladares, C.B., Posadas, M.E. 2015. Estimation of Mycotoxin Multiple Contamination in Mexican Hybrid Seed Maize by HPLC-MS/MS. *Agricultural Sciences*, 6: 1089-1097. doi: 10.4236/as.2015.69104.
- Prudent, A. 2002. “Problemas con micotoxinas en ganado lechero”. Soofware agrícola. [http://www.e-cooprinsem.cl/softagri/Cooprinforma64/Articulo\\_2\\_3.htm](http://www.e-cooprinsem.cl/softagri/Cooprinforma64/Articulo_2_3.htm) (20 de Agosto de 2020).
- Roy, T.J., Prieto, L., Oropesa, A. 2004. Mycotoxin and reproduction in domestic animals. *Albeitar*. 77: 38-40.
- Rojas, O., Wilches A. 2009. Determinación de Aflatoxinas en Alimentos de Mayor Consumo Infantil Comercializados en la Ciudad de Pamplona, Norte de Santander. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 7(1):4-5.
- Stoloff, L. 1999. Variaciones para el establecimiento de límites y reglamentaciones de las micotoxinas. *Aditivos y contaminantes alimenticios* 8:213-222.
- Valladares, C.B., Velázquez, O.V., Ortega, S.C. 2017. Presencia de micotoxinas en la leche, aspectos a considerar para una producción sustentable. In: Brunett Pérez L *et al.* (coord.). *Sustentabilidad agropecuaria: experiencias de investigación para el desarrollo agropecuario, forestal y rural*. Colofón S.A. de C.V. ISBN: 9786078583012.
- Valladares-Carranza, B., Velázquez-Ordoñez, V., Rosales-Emeterio, J.D., Zaragoza-Bastida, A., Rivero-Pérez, N. 2019. Determinación de aflatoxina M1 en hatos lecheros del Estado de México. *Revista de Invención Técnica*, 3-9:1-8.
- Vilar, E.A., Bastos, S.T.G., Melo, R.G. 2003. Micotoxins in poultry products. *Higiene Alimentaria*. 17: 17-32.
- Williams, W.P., Gary, C., Buckley, P.M. 2002. Aflatoxin accumulation in conventional and transgenic corn hybrid infested with southern corn borer. *J. Agric. Urban Entomology*, 19, 227-236.