



Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos

Alberto Gimeno
Maria Ligia Martins



3° edición

SPECIAL NUTRIENTS, INC.
El especialista en micotoxinas

Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos

Alberto Gimeno

Maria Lígia Martins

Tercera Edición

© 2011 by **SPECIAL NUTRIENTS, INC.**
2766 SW Douglas Road, Miami, FL 33133 USA.
Tel.: (305) 857-9830
Fax: (305) 857-6973
worlwide@specialnutrients.com
www.specialnutrients.com

Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada o transmitida en manera alguna, ni por ningún medio, ya sea eléctrico, químico, mecánico, óptico, de grabación o de fotocopias, sin permiso previo del autor.

PRESENTACIÓN

SPECIAL NUTRIENTS, Empresa de Estados Unidos de América, patrocinadora del presente manual y pionera a nivel mundial en la investigación aplicada de detoxificantes de micotoxinas, tiene el placer de hacerles una breve presentación de los autores.

Alberto Gimeno, Ingeniero Industrial Químico, trabajó como Director Técnico (en varias Empresas de España y Portugal) especialista en el control de calidad de materias primas y alimentos compuestos para animales con especial incidencia en el área de las micotoxinas y en las pruebas de campo sobre el efecto toxicológico de las mismas y relacionado con la nutrición animal.

Orientó varias tesis doctorales sobre micotoxinas. Especialista en la investigación aplicada de fungistáticos y antioxidantes.

Durante 5 años fue Asesor Técnico de la Comisión para Normalización de Métodos de Análisis del Ministerio de Agricultura Español en Madrid. Su técnica de multidetección de micotoxinas (publicada en el Journal Association of Official Analytical Chemists de USA) aplicada al análisis de aflatoxinas fue oficial en España durante 6 años.

Durante 14 años colaboró con International Agency for Research on Cancer (World Health Organization) en Mycotoxin Check Sample Survey.

Realizó un total de 146 conferencias sobre micotoxinas, entre los países de España, Portugal, Egipto, Tailandia, Malasia, Indonesia, Austria, Brasil, Chile, Perú, Italia, Republica Checa, Cuba, México, Ecuador, Costa Rica, Guatemala, Republica Dominicana y Estados Unidos de América.

Realizó un total de 15 cursos sobre el control de calidad de alimentos para animales y micotoxicología alimentar y 11 conferencias sobre nutrición animal, entre los países de España y Portugal.

Publicó 73 artículos sobre el control analítico de micotoxinas y micotoxicología alimentar en varias revistas científicas, técnicas, libros de Simposio, libros y paginas web, tales como: J. AOAC (Journal Association of Official Analytical Chemists) (USA). Food Additives and Contaminants (UK). Revista Portuguesa de Ciencias Veterinárias (Portugal). Cunicultura (España). Selecciones Avícolas (España y Portugal). Albéitar (España y Portugal). Suis (España). Nuestra Cabaña (España). Proceedings Book de IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (Austria). Proceedings Book de FDA (Food and Drug Administration) y NRC (National Research Centre of Cairo) (Egipto). Sociedad Ibérica de Nutrición Animal (España). WPSA (World Poultry Science Association) (España y Portugal). Foodborne Illness (Portugal). Los Porcicultores y su entorno (México) y la Revista Portuguesa de Alimentación Animal de IACA. Un artículo en el libro titulado "Enfermedades del Conejo" (España). Publicó un manual en portugués con el título "Micotoxicoses en Avicultura - Controlo e Prevenção". Publicó en español y en inglés un manual titulado "Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos" (1ª Edición) y "Mycotoxins and Mycotoxicosis in Animals and Humans".

Publica en las paginas web: www.mycotoxin.com (USA) y www.engormix.com (Argentina) (ir a: micotoxinas y ver Artículos técnicos de Alberto Gimeno. Listado completo de artículos técnicos. Secciones en Español, Portugués y en Inglés).

Consultor Técnico de varias empresas en el área de micotoxinas y micotoxicología alimentaria.

Maria Lígia Martins, Licenciada en Medicina Veterinaria, Investigadora Principal. Especializada en el control de calidad de hongos y micotoxinas en la alimentación animal y humana.

Trabajó 30 años en el Laboratorio Nacional de Investigação Veterinária de Lisboa, Portugal. Durante 14 años colaboró con International Agency for Research on Cancer (World Health Organization) en Mycotoxin Check Sample Survey. Colaboró también en el European Programme for Monitoring and Assessment of Dietary Exposure for Potentially Hazardous Substances (GEMS/Food -EURO). Participó como vocal das comisiones técnicas de la Asociación de Laboratorios Acreditados (RELACRE). Colaboró como "Referee" en trabajos científicos.

Orientó 15 cursos de prácticas sobre el análisis de hongos y micotoxinas en la alimentación animal y humana. Participó con la presentación de 42 trabajos y conferencias sobre micología, micotoxicología y análisis de hongos y micotoxinas en Congresos Internacionales, entre los países de Portugal, España, Republica Checa, Hungría, Polonia, Italia, Alemania, Inglaterra, Finlandia y Noruega. Realizó un total de 17 cursos de Pos-Graduación en micología médica y "Master" en producción animal en Portugal.

Participó en 4 proyectos comunitarios sobre micotoxinas. Publicó 61 artículos sobre micología, micotoxicosis y análisis de hongos y micotoxinas en varias revista científicas, técnicas, libros de Simposio, libro y paginas web, tales como: J. AOAC (Journal Association of Official Analytical Chemists) (USA). Food Additives and Contaminants (UK). Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias (Portugal). Food Protection. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science (Brasil). Revista Iberoamericana de Micologia. International Journal of Food Microbiology. Food Chemistry. Albéitar (España). Cunicultura (España). Proceedings Book de IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (Austria). Un artículo en el libro titulado "Enfermedades del Conejo" (España). Publica en la pagina web: www.mycotoxin.com (USA) y en la pagina web: www.engormix.com (Argentina) (ir a: micotoxinas. Sección en Español y en Inglés).

Alberto Gimeno

Ingeniero Industrial Químico

Consultoría Técnica en Micotoxinas y Micotoxicología Alimentaria.

Rua Maria Lalande, 8-4 Dto,

1500-437 Lisboa, Portugal.

Consultor Técnico de SPECIAL NUTRIENTS, INC

2766 SW Douglas Road, Miami, Florida, 33133 USA.

gimenoalberto@hotmail.com

Maria Lígia Martins

Licenciada en Medicina Veterinaria

Consultoría Técnica en Micotoxinas y Micotoxicología Alimentaria.

Rua Maria Lalande, 8-4 Dto,

1500-437 Lisboa, Portugal

gimenoalberto@hotmail.com

Los autores dedican este manual a sus pequeñas y muy queridas nietas Beatriz e Ines y a sus estimados hijos Carla y yerno Carlos.

INDICE

Presentación	3
Introducción	13
Micotoxinas de <i>Aspergillus</i>	18
Aflatoxinas.....	18
Ocratoxinas.....	28
Micotoxinas de <i>Fusarium</i>.....	23
Zearalenona	23
Fumonisinias.....	25
Micotoxinas tricotecenas	26
Micotoxinas y micotoxicosis más significativas en algunas especies animales	31
Aflatoxina B1	31
Ocratoxina A.....	38
Zearalenona	40
Fumonisina B1	45
Vomitoxina o deoxinivalenol.....	48
Toxina T-2.....	50
Diacetoxiscirpenol.....	53
Monoacetoxiscirpenol, Triacetoxiscirpenol, Escirpentriol	56
Sinergismos y/o asociaciones de micotoxinas	58
Micotoxinas y micotoxicosis más significativas en humanos	66
Aflatoxinas.....	67
Ocratoxina A.....	73
Fumonisinias.....	76
Vomitoxina o deoxinivalenol.....	77
Recomendaciones atenuantes para un problema de micotoxicosis	84
Estrategias y practicas a utilizar en la prevención, descontaminación, detoxificación e inactivación de micotoxinas.....	86
Disponibilidad de métodos de análisis de micotoxinas.	
La zearalenona y la vomitoxina como biomarcadores	96
Deoxinivalenol y Zearalenona glucósidos.....	97
Comentarios, Información y Consideraciones.....	100
Bibliografía.....	111



The background is a solid green color. It features faint, repeating silhouettes of people and animals (cows, sheep, chickens) in a lighter shade of green. Overlaid on this are several molecular structures. One is at the top, another in the middle left, and a large, complex one in the bottom right corner. The molecular structures consist of spheres (atoms) connected by lines (bonds). The spheres are in various shades of green, blue, and white.

1

INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

Micología es una rama de la biología que tiene como objetivo el estudio de los hongos (mohos y levaduras). Miosis es el nombre con el que se conocen a las enfermedades ocasionadas por los hongos en el hombre y en los animales.

Micotoxicosis es el nombre que se da al grupo de enfermedades y trastornos originados en el hombre y en los animales, por unos metabolitos secundarios tóxicos llamados micotoxinas y que son producidos por cepas toxicogénicas de especies de algunos géneros de mohos.

Los hongos son vegetales carentes de clorofila pertenecientes al grupo de las talofitas. Esta carencia de clorofila no es solo una característica que distingue a los hongos de los otros vegetales, si no que también es un condicionante importante en la actividad biológica de estos vegetales. El hecho de carecer de clorofila provoca el que ellos no son capaces de sintetizar materia orgánica utilizando la luz solar como fuente energética, por este motivo deben desarrollarse sobre un sustrato que contenga materia orgánica. Este factor condiciona los lugares de crecimiento. Así pues cada producto alimentario es un sistema ecológico especial en el que la interacción de factores químicos, físicos y biológicos tienen un papel fundamental en el deterioro del alimento debido a un crecimiento y proliferación fúngica.

Clasificaciones más modernas incluyen a los hongos en el reino protista (intermedio entre plantas y animales), sin embargo y visto que los hongos se alimentan por vía de absorción se considera que los hongos no son ni plantas ni animales pero sí un dominio diferente llamado reino "Fungi".

Los hongos tienen gran capacidad para infectar tejidos vegetales vivos, con un gran poder de invasión, diseminación y deterioro de productos almacenados. A todo esto debemos añadir los problemas de miosis que pueden ocasionar y la capacidad genética que algunos de ellos tienen para producir metabolitos secundarios tóxicos denominados micotoxinas con la consecuente posibilidad de producir micotoxicosis en los animales y en los humanos que consumen el alimento contaminado. Este conjunto de factores hace que los hongos formen un grupo importante dentro de la microbiología alimentaria.

Destacaremos los géneros de mohos y levaduras de más interés:

MOHOS: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Monilia*, *Geotrichum*, *Gleosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Sporotrichum*, *Trichotecium*, *Absidia*, *Thamnidium*.

LEVADURAS: *Candida*, *Rhodotorula*, *Mycoderma*, *Torulopsis*.

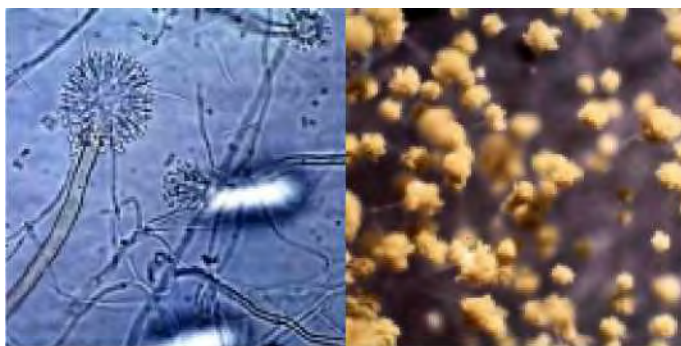


Fig.0.- A izquierda, *Aspergillus flavus*. A la derecha, *Aspergillus ochraceus*.

Como ya hemos dicho, las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por cepas toxicogénicas de especies de algunos géneros de mohos. Las micotoxinas son compuestos policetónicos resultantes de las reacciones de condensación que tienen lugar cuando en determinadas condiciones físicas, químicas y biológicas se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos realizada por los mohos. Estos ácidos grasos son metabolitos primarios utilizados por los mohos como fuente de energía. Las micotoxinas se suelen formar al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del moho.

Se han identificado hasta ahora más de 200 Micotoxinas, sin embargo las que se pueden encontrar de una forma más frecuente como contaminantes naturales en los alimentos para animales y para humanos, son: aflatoxinas, ocratoxinas, zearalenona, fumonisinas, toxinas tricotecenas (toxina T-2, diacetoxiscirpenol, deoxinivalenol o vomitoxina, nivalenol, monoacetoxiscirpenol, triacetoxiscirpenol, escirpentriol), citrinina, patulina, ácido penicílico, sterigmatocistina, toxinas de alternaria (alternariol, alternariol monometil eter, alténuene, alténisol, etc.), alcaloides del cornezuelo del centeno (ergotamina, ergotoxina, ergometrina), toxinas tremorgénicas (penitrem A y B), rubratoxinas A y B, luteoskirina, islanditoxina, rugulosina y citreoviridina. Todas ellas reportan en mayor o menor grado una serie de cuadros clínicos patológicos, trastornos y efectos tóxicos en los animales y en los humanos de forma a ocupar un lugar muy importante en el mundo de los alimentos.

Para el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas existen tres factores fundamentales que son condicionantes, a saber:

a.- Físicos (humedad o agua libre y actividad de agua, aw; temperatura; zonas de microflora; integridad física de los granos).

b.- Químicos (pH; composición del sustrato; nutrientes minerales; potencial de oxi-reducción, O₂/CO₂).

c.- Biológicos (presencia de invertebrados; cepas específicas).

Una descripción detallada de esos tres factores puede ser consultada en (Gimeno, 1999; Gimeno, 2000). Sin embargo nos gustaría brevemente dejar bien claro el concepto de actividad de agua (aw), llamada también algunas veces, agua disponible, o sea: La cantidad de agua existente en el ambiente y en los sustratos es uno de los factores importantes para el desarrollo de los hongos y para la producción de micotoxinas. Sin embargo no sólo influye la cantidad de agua sino también la forma de presentación de la misma, así pues, el agua se encuentra en forma libre y en forma combinada. El agua libre existe dentro y alrededor de los tejidos vegetales o de las células y puede ser eliminada sin interferir seriamente con los procesos vitales. La forma combinada está presente en los tejidos vegetales y animales, formando parte integrante de las células que los componen y en unión con las proteínas y glúcidos.

Para la germinación de las esporas de hongos, es necesario que el agua se encuentre en forma libre. Al agua libre se le llama comúnmente, humedad. Existen dos grandes unidades

relacionadas con el agua libre (humedad), a saber:

a.- Humedad relativa de equilibrio (HRE): es la cantidad de agua de la que disponen los microorganismos una vez alcanzado el equilibrio entre el agua libre del sustrato y el vapor de agua existente en el medio ambiente que lo rodea. La HRE se expresa en tanto por cien y varía de unos alimentos a otros conforme su riqueza en glúcidos o en materia grasa.

b.- Actividad de agua (a_w): es la relación existente entre el agua libre (humedad) en los alimentos y la capacidad de los microorganismos para allí proliferar. La a_w nos indica cuál es la cantidad de agua disponible para el desarrollo de los microorganismos una vez se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema - alimento/medio ambiente. La a_w se expresa en tanto por uno. Si la humedad del alimento está en equilibrio con la humedad relativa de equilibrio (HRE) de la atmósfera que lo rodea, la a_w en el alimento es numéricamente equivalente a esta, ($a_w = \text{HRE}/100$).

Tengamos en cuenta que la HRE se refiere a la atmósfera en equilibrio con el producto y la a_w se refiere al propio producto. El agua pura tiene una a_w de 1 y está en equilibrio con una atmósfera de 100% de HRE. La a_w de un alimento es siempre menor que 1.

Tal como anteriormente ya indicamos, la HRE varía de semilla para semilla, conforme ésta sea amilácea o bien oleaginosa. A 25°C de temperatura, el maíz (amilácea) con 13,5% de agua libre (humedad) pueden estar en equilibrio con una HRE de 70% (dentro de un silo vertical), la a_w será pues de 0,70. La soja integral (oleaginosa con 19-20% de aceite), a esa misma temperatura y con un 13,5% de agua libre (humedad) puede estar en equilibrio con una HRE de 75% (dentro de un silo vertical), la a_w será pues de 0,75. El girasol integral (oleaginosa con 41% de aceite), a esa misma temperatura y con un 13,5% de agua libre (humedad) puede estar en equilibrio con una HRE de 85% (dentro de un silo vertical), la a_w será pues de 0,85. Las oleaginosas son más difíciles de conservar mismo con valores de humedad (agua libre) relativamente bajos ya que el medio lipídico facilita la evaporación del agua y su paso a la atmósfera que rodea las partículas del alimento. Así pues, se alcanza mejor y más rápidamente el equilibrio hídrico.

En general, con una actividad de agua a 25°C del 0,85 que aproximadamente puede corresponder a un 15-16% de humedad o agua libre en el sustrato, las esporas fúngicas germinan en 5 a 12 días. En cambio con una actividad de agua de 0,75 (que correspondería aproximadamente al 13-14% de humedad en el sustrato) a la misma temperatura, las esporas fúngicas tardan en germinar de 4 a 12 semanas. Sin embargo, las cosas pueden variar significativamente a depender del tipo de sustrato (amiláceo o bien oleaginoso) y tal como hemos visto anteriormente.

Así pues, dentro de los valores de temperatura anteriores, los granos de cereales (maíz, trigo y sorgo) mantenidos en estado de equilibrio a un nivel de humedad de 12,5% o menos (lo que correspondería a un estado de equilibrio con una HRE del 65%, o sea una actividad de agua

de 0,65), se pueden almacenar con seguridad durante bastante tiempo. Lo mismo no se puede decir para la soja integral en estas mismas condiciones y mucho menos para el girasol integral, donde un 12,5% de humedad en estado de equilibrio correspondería a una HRE de casi 82%. Cualquier alimento almacenado en estado de equilibrio con una HRE por debajo de 65% ($a_w = 0,65$), está muy seguro de no ser invadido por hongos que después tendrán oportunidad de crecer y proliferar.

Cuando se trata de silos horizontales al aire libre el problema es el mismo, solo que este ocurre esencialmente dentro de la masa alimentar visto que el aire que rodea las partículas de sustrato queda encerrado en el interior de esa masa, de aquí las recomendaciones que muchas veces se dan de intentar remover la masa alimentar para efectuar una liberación y renovación del aire que rodea las partículas de sustrato, o bien las de introducir aire frío y seco (de abajo hacia arriba) en los silos verticales de cara a los mismos fines, además de reducir la temperatura del alimento.

A pesar de todas las micotoxinas anteriormente mencionadas, seleccionaremos aquí las que más significativamente pueden representar riesgos de micotoxicosis en algunas especies animales (pollos, gallinas, patos, pavos, cerdos, vacas lecheras y conejos) y en humanos, así pues, nos referiremos a micotoxinas de *Aspergillus* (aflatoxinas y ocratoxina A), de *Fusarium* (zearalenona, vomitoxina o deoxinivalenol, fumonisinas, toxina T-2, diacetoxiscirpenol, monoacetoxiscirpenol, triacetoxiscirpenol y escirpentriol) y de *Penicillium* (patulina).

***MICOTOXINAS DE
ASPERGILLUS***

2.- MICOTOXINAS DE *ASPERGILLUS*

El *Aspergillus* es un moho que fundamentalmente pertenece a la flora de almacenamiento. En general, la temperatura mínima necesaria para desarrollarse y producir micotoxinas es de 10-12°C. La actividad de agua (aw) necesaria para iniciar su desarrollo y para producir micotoxinas es, a partir de 0,75 y de 0,83, respectivamente. *Aspergillus* crece y puede producir micotoxinas de una forma óptima a 25°C, con una actividad de agua de 0,95. Sin embargo, existen cepas de *Aspergillus flavus* que en sustratos tales como el arroz, crecen entre 6 y 45°C con un óptimo a 37°C y la producción de micotoxinas se efectúa entre 11 y 36°C con un máximo de producción a 30°C (Hesseltine, 1976).

En sustratos tales como cacahuete, arroz, sorgo, trigo y maíz, las cepas de *Aspergillus parasiticus* NRRL 3000 y NRRL 2999, tienen un rendimiento de producción de aflatoxinas de 107, 107, 72, 72, 53 mg/kg (ppm) y de 104, 185, 88, 19, 47 mg/kg, respectivamente. En cambio la producción de aflatoxinas en soja es baja, del orden de 19 y 2,8 mg/kg, respectivamente.

La cepa NRRL 3145 tiene un rendimiento de producción en cacahuete, arroz, sorgo, trigo y maíz de 8,50; 10,60; 57,60; 7,10 y 5,50 mg/kg, respectivamente, la producción de aflatoxinas en soja es significativamente más baja, del orden de 0,06 mg/kg. Dentro de unas condiciones de temperatura y actividad de agua (aw) óptimas, podemos ver que la cepa y la composición del sustrato están muy ligados a la producción de la micotoxina. Las cepas de *Aspergillus flavus* NRRL 3251, 3357, 3517 y 3353 son productoras de aflatoxinas, sin embargo la cepa NRRL 1957 no produce aflatoxinas (Hesseltine, 1976).

Las principales micotoxinas producidas por *Aspergillus* son las aflatoxinas y las ocratoxinas. Otras micotoxinas como la patulina y el ácido penicílico también pueden ser producidas por algunos *Aspergillus*. Sin embargo las que vamos a tratar y que deben tenerse en cuenta para los riesgos de micotoxicosis en especies animales tales como: pollos, gallinas, patos, pavos, cerdos, vacas lecheras, conejos y en la especie humana, son las dos primeras. La patulina es también una micotoxina a tener en cuenta en lo que se refiere al riesgo que representa para los humanos, sin embargo faltan aún más estudios como para que esta micotoxina sea considerada verdaderamente de riesgo, a pesar de que la Unión Europea (UE) ya tenga una legislación rigurosa al respecto de la patulina, esencialmente en zumos de frutas y derivados de éstas. La patulina está más encuadrada en las micotoxinas del moho *Penicillium*.

2.1.- Aflatoxinas

Producidas esencialmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Existen hasta el momento, 18 tipos de aflatoxinas de las cuales la más tóxica es la aflatoxina B1 (AFB1) y la aflatoxina M1 (AFM1) siendo ésta el metabolito hidroxilado de la aflatoxina B1 y que proviene del metabolismo de algunos animales, la AFM1 se encuentra normalmente en la leche y en la orina.

Siguen después en orden de mayor a menor toxicidad, las aflatoxinas G1 (AFG1), M2

(AFM2), B2 (AFB2) y G2 (AFG2) (siendo la aflatoxina M2, un derivado metabólico de la aflatoxina B2 y que procede del metabolismo animal, pudiéndose encontrar también en la leche y en la orina).

Las aflatoxinas se pueden encontrar como contaminantes naturales en los cereales (esencialmente en el maíz, trigo, sorgo y arroz) y subproductos de cereales, turtós de oleaginosas (algodón, cacahuete, colza, coco, girasol y otros), mandioca y toda una serie de alimentos para humana de los que destacamos productos de cereales, frutos secos, productos de salchichería, especias, vinos, leguminosas, frutas, leche y derivados.

Las aflatoxinas tienen una gran actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. El principal síndrome que producen es el hepatotóxico (Fig.1 y 2), pudiendo también provocar problemas renales. Los principales órganos afectados son: el hígado, riñón y cerebro (Hesseltine, 1976; Edds, 1979).

Las aflatoxinas son inmunosupresivas ya que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica (los anticuerpos son proteínas) interrumpiendo la síntesis del ADN, ARN y proteínas en el ribosoma. La absorción de los aminoácidos se ve alterada y la retención hepática de éstos aumenta. (Sharma, 1993).



Fig. 1.- Hepatotoxicosis provocada por Aflatoxina B1. (Alberto Gimeno).



Fig.2.- Lesiones hepáticas provocadas por la aflatoxina B1. (Dr. Horacio López Bonilla. Laboratorio AVIMEX de México).

De una forma indirecta a través de la inmunosupresión, las aflatoxinas pueden perjudicar la reproducción. El efecto inmunosupresivo predispone al organismo animal para que sea invadido por microorganismos patógenos, algunos de los cuales pueden dar lugar a problemas de mastitis, agalactia y metritis. Parece ser que estas micotoxinas pueden producir alteraciones espermáticas en verracos, con una disminución en la concentración y supervivencia de los espermatozoides y un aumento de éstos anormales (Picha *et al.*, 1986)

2.2.- Ocratoxinas

Producidas esencialmente por *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum* y *Penicillium cyclopium*. Existen 7 tipos de ocratoxinas, sin embargo la más tóxica es la ocratoxina A (OTA).

La ocratoxina A puede encontrarse como contaminante natural en los cereales (esencialmente la cebada y arroz), subproductos de cereales, harina y turrón de cacahuete y en una serie de alimentos para humanos como son, granos de café crudo, legumbres, quesos, carnes ahumadas (jamón, tocino, embutidos), vinos y otros géneros alimenticios.

El principal síndrome que produce es el nefrotóxico (Fig. 3) pero también se producen trastornos en el hígado dando lugar a una acumulación de glucógeno en los tejidos hepático y muscular. Los órganos afectados son: el hígado y el riñón (Carlton, 1979; Gimeno y Martins, 1982). Las ocratoxinas son inmunosupresivas (Sharma, 1993).



Fig.3.- Lesiones renales provocadas por una contaminación con ocratoxina A. (Dr. Douglas Zaviezo. SPECIAL NUTRIENTS de USA).

En cerdos, la ocratoxina A puede afectar la calidad del semen del verraco y la producción espermática. Durante la espermatogénesis, la micotoxina altera la estabilidad de la membrana del espermatozoide debido a su potente acción inhibidora de la síntesis proteica (Solti *et al.*, 1999). Otros estudios revelan que la OTA puede disminuir el volumen del eyaculado y producir una alteración en la motilidad y viabilidad del espermatozoide (Biro *et al.*, 2003).



3

MICOTOXINAS DE FUSARIUM



3.- MICOTOXINAS DE FUSARIUM

El *Fusarium* es un género de moho que forma parte de la flora de campo (sustratos fitopatógenos, plantas vivas) y de la flora intermedia (sustratos de cereales recién recogidos y aun húmedos). Este moho crece entre 6 y 40° C con un óptimo entre 18 y 30°C. Es aerobio y necesita en general de una actividad de agua (aw) superior a 0,88 para crecer y proliferar y superior a 0,91 para producir micotoxinas. En lo que se refiere a la temperatura hay casos como el *Fusarium roseum* que necesita de un mínimo de 15°C para desarrollarse con un óptimo entre 24 y 27°C y que en cambio, una de las micotoxinas que puede producir como es el caso de zearalenona, solo la producirá a temperaturas entre 10-14°C. No obstante hay variedades de *Fusarium roseum* como es el caso de *Fusarium roseum* "gibbosum" y *Fusarium roseum* "semitectum" que son capaces de producir en un sustrato de sorgo a 25°C, cantidades de zearalenona equivalentes a las producidas a una temperatura de 10°C.

El *Fusarium* es uno de los grupos de mohos con más capacidad genética para producir micotoxinas cuando se tienen las condiciones físicas, químicas y biológicas adecuadas para ello.

El *Fusarium* contamina el cereal en el campo y posteriormente cuando este cereal es sometido a procesos de secado y otros, el moho puede morir y no obstante la micotoxina permanecer en el sustrato. Así pues, no es de extrañar que en los análisis micológicos y de micotoxinas que se realicen posteriormente al cereal almacenado, se encuentre la micotoxina y no el *Fusarium*. Por otro lado también no es extraño que se encuentre *Fusarium* en ese cereal almacenado, o bien porque el tratamiento del cereal fue insuficiente para matar totalmente a ese moho o bien como consecuencia de recontaminaciones posteriores debidas por ejemplo, a vectores transportadores como son el aire y los insectos.

Las micotoxinas de *Fusarium* más importantes en cuanto a problemas de micotoxicosis y de las que vamos a tratar son: zearalenona (**ZEN**), vomitoxina o deoxinivalenol (**DON**), fumonisina B1 (**FB1**), toxina T-2, diacetoxiscirpenol (**DAS**), monoacetoxiscirpenol (**MAS**), triacetoxiscirpenol (**TAS**) y escirpentriol (**STO**), en especies animales tales como, pollos, gallinas, patos, pavos, cerdos, vacas lecheras y conejos. En lo que se refiere a los humanos, la vomitoxina o deoxinivalenol y la fumonisina B1 son micotoxinas muy importantes a tener en consideración por los riesgos de micotoxicosis que se pueden presentar con el consumo de alimentos contaminados con éstas.

3.1.- Zearalenona

La zearalenona (ZEN) es producida esencialmente por *Fusarium roseum*, *F. tricinctum*, *F. roseum*, "*Culmorum*", *F. roseum* "*Equiseti*", *F. roseum* "*Gibbosum*", *F. roseum* "*Graminearum*", *F. oxysporum* y *F. moniliforme*. El *F. roseum* es el que produce zearalenona en mayor concentración

(3000-15000 mg/kg) mientras que el *F.moniliforme*, sintetiza pequeñas cantidades (1-19 mg/kg).

Existen unos 16 derivados de la zearalenona de los cuales el más importante es la zearalenona y después el alfa y beta-zearalenol.

La zearalenona puede encontrarse como contaminante natural en maíz y subproductos, cebada, trigo, avena, sorgo, semilla de sésamo, heno y ensilados.

El principal síndrome de la zearalenona es el estrogénico dando lugar a casos muy significativos de hiperestrogenismo con vulvas dilatadas y enrojecidas (vulvovaginitis y edemas de vulva) (Mirocha y Christensen, 1974; Mirocha, 1977; Christensen, 1979). Las cerdas son muy sensibles a la zearalenona (Fig. 4 y 5) en especial las cerdas jóvenes y prepúberes.



Fig. 4.- Dilatación y enrojecimiento de vulva en una cerda adulta provocada por una contaminación con zearalenona. (Dr. Pedro Barreiros. PROVIMI de Portugal).



Fig. 5.- Principio de dilatación de vulva en lechonas (lechona del centro), provocada por una contaminación con zearalenona.

El mecanismo de acción de la zearalenona es semejante al de los estrógenos. La zearalenona inhibe la maduración folicular y la ovulación por la reducción de la concentración de la FSH (hormona folículoestimulante) ya que la micotoxina, a pesar de la diferencia estructural, puede adoptar una configuración semejante al 17- Beta-estradiol y otros estrógenos naturales que permite la unión con los receptores estrogénicos, dando lugar como antes referíamos, esencialmente en cerdas sexualmente inmaduras, a cuadros de hiperestrogenismo con tumefacción e hipertrofia de la vulva, útero, glándula mamaria y pezones.

Se produce también una significativa atrofia ovárica (Gbodi y Nwude, 1988). Pueden ocurrir prolapsos vaginales y rectales. Como alteraciones microscópicas destacamos que el miometrio y el endometrio sufren una hiperplasia e hipertrofia dando lugar a aun engrosamiento y edema del útero.

En las hembras cíclicas, se producen fallos en la concepción, pseudogestación y aborto, la función del cuerpo lúteo se ve alterada y el intervalo entre celos consecutivos se prolonga (Roy *et al.*, 2005). En las cerdas gestantes, uno de los signos clínicos más significativos es la mortalidad embrionaria. El anestro y pseudogestación son signos clínicos observados en cerdas no gestantes (Roy *et al.*, 2005). En los verracos jóvenes puede haber una reducción de la producción de espermatozoides, peso de los testículos y la libido (McEvoy *et al.*, 2001).

3.2.- Fumonisin

Las fumonisin son producidas esencialmente por *Fusarium moniliforme*. Existen 6 tipos de fumonisin, la B1, B2, B3, B4, A1 y A2 (Marasas, 1995; Visconti *et al.*, 1995). Sin embargo, las que suelen encontrarse con más frecuencia y las más importantes por su toxicidad son la fumonisin B1 (FB1) y la fumonisin B2 (FB2).

La FB1 y FB2 pueden encontrarse como contaminantes naturales en los cereales (de preferencia en el maíz y subproductos del maíz).

Los principales síndromes que producen son: neurotóxicos (leucoencefalomelancia), nefrotóxicos, edema pulmonar y cerebral, hepatotóxicos y lesiones cardíacas. Los órganos afectados son: el cerebro, pulmón, hígado, riñón y corazón. Estas micotoxinas inhiben la biosíntesis de los esfingolípidos e interfieren con el metabolismo de la esfingosina y esfinganina dando lugar a una perturbación en el metabolismo de los esfingolípidos, éstos son constituyentes del hígado y de las lipoproteínas (Prelusky *et al.*, 1974; Marasas, 1995; Visconti *et al.*, 1995; Merrill *et al.* 1995; Merrill *et al.*, 2001; Lino *et al.*, 2004).

Los esfingolípidos tienen una gran importancia en la regulación de las células y en el control de proteínas a nivel de membrana celular visto que están presentes en ésta, ellos son los mediadores del crecimiento celular y la diferenciación y muerte de las células. En los mamíferos, la concentración de esfingosina es, por lo general, de 3 a 5 veces más elevada

que la de esfinganina. La esfinganina N-aciltransferasa y la esfingosina N-aciltransferasa (ceramida sintetasa) son enzimas fundamentales en el metabolismo de la biosíntesis de los esfingolípidos. Las fumonisinas pueden alterar la concentración y la proporción entre la esfinganina y la esfingosina de forma que pueden disminuir la biosíntesis de la esfingosina con la consecuente acumulación de esfinganina. Esas micotoxinas pueden bloquear la biosíntesis de los esfingolípidos complejos en células eucarióticas. Esos esfingolípidos complejos son la base de formación de mensajeros secundarios que controlan los diferentes procesos entre células en los que se incluyen la activación y desactivación de proteínas específicas y la expresión genética (Lino *et al*, 2004).

En los cerdos, la inhibición parcial o total de la esfingosina y de la enzima N-aciltransferasa es la responsable por los problemas de hepatotoxicosis y ese aumento en la concentración de esfinganina y/o esfingosina, altera, aumentando, esa relación esfinganina/esfingosina. Esa alteración ya fue indicada para servir de biomarcador de intoxicación por fumonisinas (Mallmann y Dilkin, 2007). Sin embargo, actualmente se sabe que otras micotoxinas también pueden alterar la relación entre esos dos esfingolípidos (Mallmann y Dilkin, 2007).

3.3.- Micotoxinas tricotecenas

Producidas esencialmente por *Fusarium tricinatum*, *F.nivale*, *F.roseum*, *F.graminearum*, *F.solani*, *F.oxysporum*, *F.lateritium*, *F.sporotrichioides*, *F.rigidiusculum*, *F.episphaeria* y *F.poeae*. Otros mohos también pueden producir toxinas tricotecenas, a saber, *Cephalosporium crotocigenum*, *Myrothecium verrucaria*, *Stachybotrys atra*, *Calonectria nivalis*, *Trichoderma viride*, *Tricotecium roseum* y *Gibberella saubineti*.

Existen más de 40 derivados de tricotecenos, sin embargo los que se han encontrado más significativamente como contaminantes naturales, son por el momento: toxina T-2, diacetoxiscirpenol (**DAS**), vomitoxina o deoxinivalenol (**DON**) y nivalenol (Abdelhamid *et al.*, 1992; Marasas, 1995). Otras que también referiremos en este artículo son: monoacetoxiscirpenol (**MAS**), triacetoxiscirpenol (**TAS**) y escirpentriol (**STO**).

Los tricotecenos reciben este nombre por poseer en su molécula el esqueleto tetracíclico, 12,13-epoxitricotec-9-eno.

Las toxinas tricotecenas pueden encontrarse como contaminantes naturales en los cereales (maíz, cebada, sorgo, avena, trigo, arroz, centeno, mijo) y subproductos de cereales.

El principal síndrome que provocan es el gastroentérico y los sistemas y órganos afectados son, el sistema digestivo, nervioso, circulatorio y la piel.

Es característico de la vomitoxina el provocar vómitos y rechazo del alimento. Para más detalles, podemos citar las características toxicológicas generales de estas micotoxinas (a depender de la especie animal), a saber (Smalley y Strong, 1974; Bamberg, 1976; Ohtsubo y Saito, 1977; Pathre y Mirocha, 1977; Sato y Ueno, 1977; Ueno, 1977; Mirocha, 1979; Betina, 1989):

- a.- Vómitos, taquicardia, diarrea.
- b.- Hemorragias, edemas, necrosis cutánea.
- c.- Hemorragias de la mucosa epitelial del estómago e intestino.
- d.- Destrucción de los tejidos hematopoyéticos.
- e.- Disminución de los glóbulos blancos y plaquetas circulantes.
- f.- Meninges hemorrágicas (cerebro).
- g.- Alteración del sistema nervioso.
- h.- Rechazo del alimento.
- i.- Lesiones necróticas en diferentes partes de la boca.
- j.- Degeneración patológica de las células de la médula ósea, nódulos linfáticos, e intestino.

Las micotoxinas tricotecenas tienen una potente actividad inmunosupresiva (Sharma, 1993). Estas se dividen en dos grupos, o sea: macrocíclicas y no-macroscíclicas. La toxicología de las micotoxinas macrocíclicas (roridins, verrucarins, satratoxins y otras) en los animales esta poco estudiada. Por el contrario, la toxicología de las micotoxinas no-macroscíclicas esta mucho más estudiada.

Las micotoxinas tricotecenas no-macroscíclicas se dividen en dos grupos, A y B. Las micotoxinas del grupo A son más tóxicas para las aves que las del grupo B. Algunas de las micotoxinas del grupo A son: toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS), monoacetoxiscirpenol (MOS), triacetoxiscirpenol (TAS), escirpentriol (STO) y HT-2 toxina. Algunas del grupo B son: fusarenona-X, vomitoxina o deoxinivalenol (DON) y nivalenol (NIV).

Fundamentalmente y a nivel celular, el principal efecto tóxico de las micotoxinas tricotecenas consiste en la inhibición de la síntesis proteica seguida de una interrupción secundaria de la síntesis del ADN y ARN. Se produce también una división de células tales como en aquellas que forman parte de la membrana del tracto gastrointestinal, piel y células linfoides y eritrocíticas (Leeson, 1995).

La acción tóxica de las micotoxinas tricotecenas consiste en una necrosis extensiva de la mucosa de la piel y de la boca cuando hay contacto con la micotoxina. Se producen problemas agudos a nivel del tracto gastrointestinal, degeneración de la medula ósea y una inhibición muy significativa del sistema inmunitario. Se dan lugar a hemorragias de la mucosa epitelial del estómago e intestino con una destrucción de los tejidos hematopoyéticos. Pueden surgir lesiones graves en la molleja de las aves. Las típicas lesiones orales en las aves consisten en una proliferación de placas blanco amarillentas caseosas (sustancia albuminoidea) que tienen lugar en la parte superior e inferior del pico, mucosa del paladar, boca y lengua. Las erosiones bucales son patentes (Fig. 6 y 7). Evidentemente que la gravedad de las lesiones se incrementa con el tiempo de exposición a la micotoxina (Leeson, 1995).

Los pollos afectados pueden tener problemas de atraso en el crecimiento, plumaje anormal, regresión de la bolsa de Fabricio y anemia. En gallinas ponedoras se producen lesiones orales y

una disminución de la ingesta, producción de huevos y deficiencias en la calidad de la cáscara con un significativo apareamiento de huevos blandos (Leeson, 1995).



Fig.6.- Lesiones orales provocadas por una contaminación con toxina T-2. Las lesiones provocadas por el diacetoxiscirpenol son semejantes. (Laboratorio AVIMEX de México).



Fig.7.- Lesiones y úlceras de molleja provocadas por una contaminación con toxina T-2. Las lesiones provocadas por el diacetoxiscirpenol son semejantes. (Laboratorio AVIMEX de México).

Respecto a las lesiones orales provocadas, en especial, por la toxina T-2 y el diacetoxiscirpenol, se argumentan dos hipótesis diferentes. La primera es que, el alimento contaminado se adhiere más en la región bucal debido a ésta ser muy húmeda y como éstas micotoxinas son extremadamente alcalinas esta alcalinidad provoca esas lesiones. La segunda es que, después de la absorción de estas micotoxinas del tracto gastrointestinal, son posteriormente eliminadas por la saliva, siendo de la misma forma, la alcalinidad de éstas, la causa primaria de las lesiones orales (Ademoyero & Hamilton, 1991a).

En lo que se refiere a los problemas de emplume provocados por estas micotoxinas, se argumentan como causas, la necrosis provocada en la epidermis y el folículo de la pluma así como la inhibición de la síntesis proteica (Hoerr *et al.*, 1981 y 1982).

MICOTOXINAS Y MICOTOXICOSIS MAS SIGNIFICATIVAS EN ALGUNAS ESPECIES ANIMALES



4. - MICOTOXINAS Y MICOTOXICOSIS MAS SIGNIFICATIVAS EN ALGUNAS ESPECIES ANIMALES

En los animales, existen toda una serie de factores que pueden influenciar (aumentando o disminuyendo) la toxicidad de las micotoxinas, factores tales como:

La especie y raza de los animales; La concentración de micotoxina y duración de la contaminación (tiempo que los animales están ha ingerir el alimento contaminado); La nutrición y salud de los animales; La edad y el sexo; Las infecciones bacterianas, virales o parasitarias, endotoxinas y enterotoxinas; Las condiciones inadecuadas de "hábitat" de los animales (temperatura, humedad, ventilación, manejo y otras); Los fármacos suministrados; Vacunaciones; La presencia de otras micotoxinas y sinergismos o asociaciones entre ellas.

Debemos tener en cuenta que la mayoría de los casos de toxicidad que se van ha presentar corresponden a pruebas experimentales donde los animales están en las condiciones más óptimas posibles y en donde se cuida que algunos de los factores antes mencionados no tengan influencia en la prueba en cuestión, así pues y con esto queremos decir que los casos que se presentaran no son las situaciones diversas que en la práctica diaria se encuentran en el campo y en las granjas. Es por ese motivo que queremos destacar, que se pueden encontrar en la práctica concentraciones de contaminación más bajas que las que aquí se expondrán y ser también causa de problemas porque alguno de los factores antes mencionado está influenciando la toxicidad y la agrava, por ejemplo, el estado de salud del animal como consecuencia de algún problema patológico o el "estrés" provocado por condiciones deficientes de manejo y de "hábitat". Así pues queremos resaltar que es muy arriesgado decir que existen niveles de contaminación con micotoxina que son seguros de no provocar problemas, a lo sumo podríamos decir que existen niveles de contaminación que son "mas seguros".

4.1.- Aflatoxina B1

4.1.1.- Pollos

Contaminaciones con aflatoxina B1 (AFB1) de 75 a 800 ppb (microgramos/kg) en alimentos compuestos, suministrados a pollitos de 1 día de vida en periodos de 3 a 10 semanas, provocaron una inhibición del desarrollo con las concentraciones más bajas y lesiones hepáticas graves y muertes con las concentraciones más altas (Allcroft, 1965; Doerr *et al.*, 1983).

Con 500 ppb de contaminación en pienso y a las 3 semanas se observaron también problemas de hígado graso y aumento de su tamaño (Asplin y Carnaghan, 1961).

Con 308 y 610 ppb de contaminación, las mortalidades fueron de 8 y 11%, respectivamente, entre las 0 y 9 semanas (Gimeno y Martins, 2000). Sin embargo, cuando dietas contaminadas con 2500 y 5000 ppb de AFB1 fueron dadas a pollos de 23 días de edad durante 32 días, no se observaron mayores problemas que los de un hígado ligeramente friable y una reducción de la

concentración de calcio en el suero, las lesiones histológicas fueron una vacuolización de los hepatocitos y una infiltración grasa (Fernandez *et al.*, 1994). Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores (Lanza *et al.*, 1980). Con la edad, los pollos son más resistentes a la acción tóxica de las aflatoxinas (Gimeno *et al.*, 2003).

Pollitos de 1 día de vida a consumir durante 3 semanas un alimento compuesto con 20% de proteína bruta y con 5000 ppb de AFB₁, sufrieron una reducción de peso del orden de 20% comparado con el control. Sin embargo, cuando la proteína bruta fue aumentada para 30% con el mismo nivel de contaminación, la reducción de peso fue solo de un 5,4% (Gimeno y Martins, 2000). Tal como hemos referido antes, la aflatoxicosis altera la digestión de las proteínas y la absorción de los aminoácidos, la retención hepática de éstos aumenta y se reduce la síntesis de ADN, ARN y proteínas en el ribosoma. Todo esto provoca un aumento de las necesidades proteicas de las aves y conduce a un retraso en el crecimiento. Parece ser que un aumento de la proteína para un 30%, ayudó a reducir esos efectos (Gimeno y Martins, 2000; Gimeno *et al.*, 2003).

Contaminaciones con AFB₁ de 250 a 500 ppb en alimento compuesto, suministrados a pollitos de 1 día de vida durante 3 semanas, provocaron resistencia a la inmunización contra *Pasteurella multocida* (Edds, 1979; Gimeno *et al.*, 2003) y contaminaciones de 200 ppb durante 29 días provocaron un aumento de susceptibilidad a la coccidiosis por *Eimeria tenella* y una reducción en la actividad del coccidiostático utilizado (Edds, 1976; Gimeno *et al.*, 2003). Con otras dietas contaminadas, los pollos tuvieron un incremento de susceptibilidad a la salmonelosis y candidiasis (Hamilton y Harris, 1971; Pier *et al.*, 1978).

La interferencia de la AFB₁ con la función hepática normal, reduce posiblemente la síntesis de las sero-inmunoglobulinas, lo cual tiene una gran influencia en la patogénesis y morbilidad (Gimeno y Martins, 2000).

4.1.2.- Gallinas

Concentraciones de 100 ppb de AFB₁ en alimento compuesto durante 6 semanas, provocaron en gallinas reproductoras problemas de nacimiento de los pollitos y huevos blandos (Gimeno, 1999; Gimeno, 2000).

Concentraciones más elevadas del orden de 610 ppb durante 33 semanas provocaron en gallinas ponedoras hepatotoxicosis, bajas de puesta y muertes (Edds, 1979).

4.1.3.- Patos

Concentraciones de AFB₁ en el alimento compuesto comprendidas entre 300 a 600 ppb suministradas a patitos de 1 a 7 días de vida, durante 7-14 días, provocaron lesiones hepáticas graves y muertes significativas (Gimeno, 1999; Gimeno, 2000).

Una contaminación correspondiente a 305 ppb de AFB1 y 20 ppb de AFG1 en alimento compuesto suministrado a patitos de 1 día de vida durante 42 días, provocó en lotes de 30 patos un 43,33 y un 90% de mortalidad a los 19 y 42 días, respectivamente (Gimeno, 1988). Los patos afectados presentaban atrasos en el crecimiento, hiperqueratosis de la córnea y mucosa bucal, malformaciones y fragilidad ósea, parálisis de las extremidades, edema inflamatorio de los párpados, plumaje escaso y dermatitis. Los patos sufrían de una avitaminosis masiva y de una deficiencia en la absorción del calcio, fósforo y manganeso (Figs. 8).



Figs. 8.- Patos con graves problemas de aflatoxicosis. (Alberto Gimeno).

Las aves necropsiadas presentaban un hígado aumentado de tamaño, graso y friable, pálido-amarillento, necrosis masiva, ictericia y cirrosis. Había atrofia de la bolsa de Fabricio y del Timo. El hígado y algunos músculos presentaban hemorragias petequiales y focos necróticos. Había una degeneración de las células hepáticas con fibrosis e hiperplasia de los conductos biliares. La superficie de algunos hígados era granular y había nódulos linfáticos diseminados (Fig. 9 y 10).



Fig. 9.- Hepatotoxicosis provocada por una contaminación con Aflatoxina B1. (Alberto Gimeno).



Fig. 10.- Hígados con problemas de hepatotoxicosis provocada por la aflatoxina B1. (Alberto Gimeno).

4.1.4.- Pavos

Contaminaciones del orden de 100 a 800 ppb de AFB1 en alimentos compuestos suministrados durante 35 días a pavos de 14 días de vida, provocaron problemas significativos de reducción de la ganancia de peso vivo y lesiones hepáticas. Una concentración de 500 ppb redujo significativamente la eficacia de la vacuna contra la enfermedad de Marek (Gimeno, 1999; Gimeno, 2000).

4.1.5.- Cerdos

Contaminaciones con AFB1 en alimento compuesto del orden de 230 ppb durante 4 días provocaron en lechones recién nacidos hígado friable, anemia y atrasos en el crecimiento. En lechones de 15 a 20 kg de peso vivo, unas contaminaciones con AFB1 comprendidas entre 400 a 800 ppb durante 3 a 9 semanas, provocaron una significativa reducción del crecimiento, hepatotoxicosis y una marcada susceptibilidad a la salmonelosis (Edds, 1979).

En tres grupos de cerdas, se suministraron alimentos compuestos contaminados con 800 ppb de AFB1 (Grupo 1), 800 ppb de AFG1 (Grupo 2) y 400 ppb de AFB1 + 400 ppb de AFG1 (Grupo 3) durante los periodos de gestación y lactación. A los 5 y 25 días después del parto se

encontró en la leche de las cerdas, AFB1 y AFB1 en el Grupo 1, AFG1 en el Grupo 2 y AFB1, AFB1 y AFG1 en el grupo 3. Aunque las concentraciones de aflatoxinas en la leche fueron 1000 veces más bajas que en el alimento compuesto, hubo un aumento de estas concentraciones después de los 25 días del parto y los lechones tuvieron graves problemas inmunotoxicológicos (Silvotti *et al.*, 1997)

4.1.6.- Vacas lecheras

A vacas lecheras Holstein (en la mitad del periodo de lactación) fueron suministradas dosis correspondientes a 13 mg de AFB1/vaca/día durante 7 días, esto significaría una ración final contaminada con 433 ppb de AFB1 considerando un consumo de 30 kg de ración final/vaca/día. Algunas vacas recibieron la AFB1 en forma pura y otras en forma impura procedente de cultivos de *Aspergillus parasiticus* que además contenían otras aflatoxinas junto con metabolitos de éstas. El consumo de alimento y la producción de leche disminuyeron significativamente. El recuento de células somáticas no fue afectado de una forma apreciable y las concentraciones de aflatoxina M1 encontradas en la leche oscilaron entre 1,05 y 10,58 ppb (microgramos/Litro). No se encontró aflatoxina M1 en la leche después de 4 días de suspender el suministro de la AFB1. Sin embargo, parece ser que los problemas fueron más graves en las vacas recibiendo aflatoxina impura versus pura (Applebaum *et al.*, 1982; Gimeno y Martins, 2002).

A vacas lecheras en periodo de lactación les fue inducida una infección mamaria con *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus hyicus*. Posteriormente recibieron una dosis oral de AFB1 correspondiente a 0,3 mg/kg p.v.(peso vivo)/día durante periodos de 12 a 14 días. Considerando una vaca de 550 Kg de peso vivo y con un consumo de 30 kg de ración final (base húmeda)/día, esto correspondería a una contaminación de AFB1 en la ración final del orden de 5500 ppb. Signos clínicos de micotoxicosis y de mastitis fueron estudiados, antes, durante y después del periodo de administración de la micotoxina. Las vacas tuvieron problemas de inapetencia, pérdida de peso y disminución en la producción de leche, hubo variaciones enzimáticas significativas durante 1 a 3 semanas después de la ingesta de AFB1. No hubo signos de mastitis aguda, sin embargo, la tasa bacteriana en la leche aumentó durante el consumo de la micotoxina. Los testes de mastitis realizados fueron esencialmente elevados en el periodo posterior a la última administración de la micotoxina. Fue encontrada aflatoxina M1 en la leche dentro de las 3 a 6 horas después del consumo de la AFB1 y persistió durante 72 horas después de haber dado la última dosis de micotoxina. Las aflatoxinas B1 y M1 fueron encontradas en la orina seis horas después del consumo de AFB1 y persistieron durante 72 a 120 horas después de haber dado la última dosis de micotoxina (Brown *et al.*, 1981; Gimeno y Martins, 2002).

Concentraciones de AFB1 en la ración final, del orden de 2000 a 2400 ppb suministradas a vacas de 2 años de edad durante 7 meses, provocaron graves problemas de hepatotoxicosis

y reducción significativa en la producción lechera (Mirocha *et al.*, 1977; Brown *et al.*, 1981; Applebaum *et al.*, 1982; Gimeno y Martins, 2002).

4.1.7.- Conejos

Una de las características principales en las micotoxicosis del conejo, es que el consumo de alimento puede disminuir de una forma muy marcada. Así pues, con niveles de AFB1 comprendidos entre 100 y 150 ppb, el consumo disminuyó entre el 20 y 60%. El menor consumo provoca retrasos importantes del crecimiento y menor producción. Esto influye sobre las defensas inespecíficas del animal, que a su vez se ven afectadas por algunas micotoxinas. Por ejemplo, la AFB1 interfiere el metabolismo de las vitaminas del grupo B y los aminoácidos, a partir de dosis bajas: 5-8,5 microgramos/kg peso vivo (p.v.)/día. Dosis de AFB1 de 50 microgramos/kg p.v./día interfieren en la vacunación contra *Bordetella bronchiseptica* (Gimeno y Martins, 2000a).

En las micotoxicosis podemos observar cuadros patológicos propios de la intoxicación y también intercurrentes, por ejemplo enteritis-diarrea en gazapos lactantes, enteritis mucoide en gazapos recién destetados, con consumos de pienso contaminado conteniendo 50 ppb de AFB1. Se ha sugerido que la AFB1 puede actuar como un factor de predisposición para el problema de la enteritis mucoide, permitiendo la proliferación de microorganismos como *Clostridium perfringens* y *Escherichia coli*.

Las micotoxicosis incluyen cuadros patológicos agudos y crónicos, dependiendo de la micotoxina, la concentración, tiempo de actuación, efecto acumulativo, sinergismos y estadio fisiológico del conejo. En casos graves provocan la muerte de los conejos, en especial jóvenes. También se pueden dar casos de aborto en reproductoras y muertes por efectos de una micotoxicosis (Gimeno y Martins, 2000a).

Se han descrito casos de aflatoxicosis espontánea en conejos, con diversos niveles de aflatoxina B1 en el alimento: 33 ppb, 44 ppb, 90 ppb, 110 ppb, 540 ppb y 10400 ppb. Los conejos afectados mostraron anorexia, incoordinación, pérdida peso y tuvieron una marcada ictericia poco antes de morir. La tricofagia es un signo clínico observado en la micotoxicosis. El cuadro de lesiones está formado por hepatopatías: el hígado está congestivo y tiene una estructura similar al corcho. También puede haber congestión renal, esplénica y pulmonar. Las muertes ocurren a los 3-4 días después de aparecer los signos clínicos. En algunos casos la mortalidad es elevada, del orden del 58,6% (Gimeno y Martins, 2000a).

Concentraciones de aflatoxina B1 en el alimento compuesto tan bajas como 15 ppb son suficientes para provocar trastornos (Lebas y Perez, 1998).

Consumos de alimento contaminado con 300 ppb de AFB1, pueden producir marcadas hipertrofias de hígado y bazo a la vez que una tendencia de los conejos a comerse el pelo.

(Gimeno y Martins, 2000a).

La LD50 es de 0,300 mg/kg p.v. Esto significa que los conejos son más sensibles que los patos de 1 día de vida (0,335 mg/kg p.v.) (Butler, 1974).

Con ingestas comprendidas entre 0,050 y 0,0625 mg de AFB1/kg p.v./día durante 24 días, se encontraron las siguientes alteraciones: anorexia, reducción de la ganancia de peso vivo, estados letárgicos, deshidratación, ictericia y muertes. A nivel hemático la proteína total del plasma disminuyó y el tiempo de coagulación aumentó. Bilirrubina, alanina y aspartato aminotransferasa también aumentaron. Estudios posteriores conducen a resultados semejantes. Un aumento en los niveles de glucosa, colesterol del suero, recuento de plaquetas, tiempos de protrombina y tromboplastina y una disminución en la actividad de fibrinógeno, factor IX, VIII y V, son indicados también en estos estudios (Clark *et al.*, 1986; Sahoo *et al.*, 1993).

Esta misma concentración de 0,050 mg de AFB1/kg p.v./día durante 10 días, provocó en las glándulas mamarias de conejas un incremento de fibrosis y deposición de colágeno. Concentraciones inferiores, del orden de 0,035 mg de AFB1/kg p.v./día durante 30 días, provocaron en conejas problemas de anorexia, apatía y adelgazamiento además de una marcada atrofia y muertes en conejos recién nacidos cuyos hígados se presentaban con las siguientes alteraciones a nivel histopatológico: cambios en los hepatocitos de las áreas centrolobulillares, con cambios hidrópicos y grasos, además de zonas focales de necrosis (Gimeno y Martins, 2000a)

Un alimento compuesto contaminado con 100 ppb de cada una de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, provocó en conejos, significativos aumentos de peso del hígado, riñones, corazón y glándulas suprarrenales. A nivel hemático, el contenido de hemoglobina, porcentaje de hematocrito, velocidad de sedimentación, nitrógeno y transaminasa glutámico oxalacética, estaban disminuidos. Los valores de calcio, fósforo inorgánico, colesterol, fosfolípidos y transaminasa glutámico piruvica, estaban aumentados. Fue encontrado un alto porcentaje residual de aflatoxinas en músculos, suero, hígado, corazón y riñones. Solo el 1,42% del total de la aflatoxina ingerida fue excretada por las heces. Estos efectos fueron substancialmente mas moderados en conejos que consumieron el mismo pienso contaminado pero con la adición del 0,25% de carbón activo. Hemos de pensar que el efecto absorbente del carbón actuó como antídoto contra las aflatoxinas (Gimeno y Martins, 2000a).

Una contaminación semejante a la anterior (100 ppb) pero solo de AFB1 provocó después de los 17 días de ingesta, un aumento en sangre de glucosa, urea, colesterol y bilirrubina a la vez que hígado, riñones y corazón sufrieron necrosis y cambios degenerativos (Gimeno y Martins, 2000a).

4.2.- Ocratoxina A (OTA)

4.2.1.- Pollos

En pollitos de 1 día de vida que estuvieron a consumir durante 2-3 semanas alimentos compuestos contaminados con 200, 500, 800 y 1600 ppb de OTA, se observó que para todas las concentraciones de la micotoxina hubo una lentitud de crecimiento y reducción de la ganancia de peso vivo. Para las concentraciones más elevadas: el buche, páncreas, hígado y riñones estaban aumentados de tamaño y edematosos, el peso de la bolsa de Fabricio estaba disminuido, la mortalidad fue alta así como también la fragilidad ósea y el tiempo de protrombina y tiempo de recalcificación en sangre estaban aumentados. La nefropatía era muy significativa y la pigmentación fue deficiente. Con concentraciones de 500 ppb de OTA ya hubo problemas de linfocitopenia e inmunosupresión. (Tucker y Hamilton, 1971; Doerr *et al.*, 1974; Huff *et al.*, 1974; Huff y Hamilton, 1975; Huff *et al.*, 1975; Chang *et al.*, 1979; Hamilton *et al.*, 1982).

Una contaminación con 140 ppb de OTA asociada a una microflora del alimento compuesto en que el 85% estaba formada por *Scopulariopsis spp*, provocó en unos 8800 pollitos, una significativa reducción de la ganancia de peso vivo y problemas graves de nefritis, enteritis necrótica y mortalidad. Se piensa que el principal responsable fue el hongo y no la micotoxina en la concentración antes referida (Abramson *et al.*, 1983).

Los problemas de nefrotoxicosis surgen muchas veces asociados con el síndrome hemorrágico caracterizado por las típicas petequias musculares. Sin embargo en una aflatoxicosis o bien durante y después de la enfermedad de Gumboro, también se pueden observar estos problemas de petequias (Gimeno *et al.*, 2003).

4.2.2.- Gallinas

Pollitas blancas Leghorn de 1 día de vida y gallinas ponedoras blancas Leghorn de 26 semanas de vida que estuvieron a consumir alimentos compuestos contaminados con 300 a 1000 ppb de OTA y con 500 a 4000 ppb de OTA, respectivamente, durante 341 y 42 días, respectivamente, tuvieron lesiones renales graves, cambios microscópicos en hígado y alteraciones histopatológicas en lo que se refiere a las pollitas. Respecto a las gallinas ponedoras hubo una disminución en la producción de huevos, peso del huevo, consumo de pienso y peso vivo. El tiempo de protrombina se incrementó y la proteína sérica total se vio reducida (Carlton y Krogh, 1979; Gimeno *et al.*, 2003).

Concentraciones de contaminación en el alimento comprendidas entre 500 a 1000 ppb de OTA provocaron en gallinas ponedoras blancas Leghorn una significativa reducción de la producción de huevos, cáscaras de huevo manchadas y los niveles de ácido úrico en suero se incrementaron. (Page *et al.*, 1980; Gimeno *et al.*, 2003).

4.2.3.- Patos

Una dieta contaminada con 2000 ppb de OTA fue dada a patos Khaki Campbell desde el nacimiento hasta los 18 días de edad. Los patos tuvieron problemas de atrasos en el crecimiento, aumento del tamaño de hígado y riñones y regresión del Timo. Microscópicamente fue observada una acumulación de glucógeno en el hígado y una infiltración de células linfoides en el riñón (Burns y Maswell, 1987).

4.2.4.- Pavos

Alimentos compuestos contaminados con 0, 1000, 2000, 4000 y 8000 ppb de OTA fueron suministrados a pavos desde el nacimiento hasta las 3 semanas de edad. Los pavos tuvieron problemas de atrasos en el crecimiento, aumentos de tamaño del proventrículo y la molleja y una regresión del Timo. Con la concentración de micotoxina más elevada el índice de conversión paso de 1,63 (control) a 2,07. La mortalidad fue significativa. Con 4000 y 8000 ppb de OTA, el consumo de agua y la concentración de ácido úrico en plasma aumentaron, con esas concentraciones de contaminación fue observada una leucocitopenia que inicialmente era una linfocitopenia (Chang *et al.*, 1981).

Una concentración de OTA correspondiente a 4000 ppb suministrada a pavos desde el nacimiento hasta las 10 semanas provocó graves problemas de osteoporosis (Duff *et al.*, 1987).

Otros estudios nos refieren que la OTA en pavos puede provocar el rechazo del alimento, efecto tal que no ocurre en pollos (Burditt *et al.*, 1984).

4.2.5.- Cerdos

Contaminaciones en alimentos compuestos del orden de 200 a 4000 ppb de OTA suministrados a cerdos durante 3-4 meses en el periodo de los 20 a 90 kg de peso vivo, provocaron atrasos en el crecimiento, aumentos en el consumo de agua y lesiones renales detectables microscópicamente (Carlton y Krogh, 1979).

En cerdas jóvenes de 20 kg de peso vivo, un consumo de alimento compuesto contaminado con 2500 ppb de OTA durante 35 días, dio lugar a problemas de inmunosupresión (Harvey *et al.*, 1992).

4.2.6.- Vacas lecheras

No tenemos datos significativos sobre la acción tóxica de la OTA en vacas lecheras, probablemente esta escasez de datos sea debida a las diferentes capacidades de la microflora protozoaria del rumen para metabolizar fácilmente la OTA e hidrolizarla a ocratoxina-alfa que no es tóxica y no se degrada. Capacidades tales que varían, ya que esta microflora se ve afectada según el tipo de alimento que la vaca está a consumir.

En las vacas lecheras puede ocurrir lo mismo que ocurre en las ovejas. Hay estudios donde

se constata que el tipo de dieta tiene una gran influencia en la metabolización de algunas micotoxinas. Así pues, una dieta a base de 100% de heno lleva el fluido ruminal a un pH de 7,1 y micotoxinas tales como la ocratoxina A (OTA) se hidroliza a ocratoxina-alfa (no toxica) en solo 0,6 horas. Si disminuimos el porcentaje de heno (70% heno) y aumentamos el de granos o de pienso concentrado (30%), el pH del fluido ruminal pasa a 6.5 y la hidrólisis de la OTA tarda más tiempo (1,3 horas). Si es un 100% de granos o de concentrado en la ración final, esta hidrólisis tarda 3,6 horas a un pH de 5,7 del fluido ruminal (Xiao *et al.*, 1991; Hohler *et al.*, 1999; Gimeno y Martins, 2002). Esto se podría aplicar a las vacas lecheras tal como algunos autores refieren (Muller *et al.*, 1998; Gimeno y Martins, 2002a).

Se considera al fluido ruminal el primer sistema de defensa contra ciertas micotoxinas, éste tiene acción sobre la zearalenona, ocratoxina A, toxina T-2 y diacetoxiscirpenol, sin embargo, este fluido no tiene acción sobre la aflatoxina B₁ ni sobre la vomitoxina o deoxinivalenol (Kiessling *et al.*, 1984; Gimeno y Martins, 2002a). Sin embargo, hay autores que nos indican que una parte de la aflatoxina B₁, si se degrada en el rumen dando lugar al aflatoxicol que es tóxico (Upadhaya *et al.*, 2010; Fink-Gremmels, 2008). Otros autores nos refieren que una incubación anaeróbica de vomitoxina con el fluido ruminal de la vaca produce el metabolito **de-epoxi-deoxinivalenol (DOM-1)**, el cual se puede considerar prácticamente que no es tóxico (Hedman y Pettersson, 1997) ya que, concretamente es 500 veces menos tóxico que el deoxinivalenol (Scientific Report, 2009).

Sin embargo debemos destacar que el fluido ruminal transforma la zearalenona en los isómeros alfa y beta-zearalenol que son tanto o más estrogénicos como lo es la propia zearalenona, lo cual no se puede considerar como una verdadera reacción de detoxificación. El alfa-zearalenol es de 3 a 4 veces más estrogénico que la zearalenona

Para las micotoxinas tricotecenas como la toxina T-2 y el diacetoxiscirpenol, estos procesos de biotransformación deben ser irreversibles y llegar hasta la forma química final DEEPOXI, que es la forma no tóxica. Si quedan residuos de los compuestos intermedios que se forman en estas biotransformaciones, estos residuos pueden ser tanto o más tóxicos que la micotoxina original (Gimeno, 2009; Gimeno, 2011).

4.2.7.- Conejos

Conejos jóvenes que comieron un pienso contaminado con 10000 ppb de OTA durante 90 días, tuvieron problemas de alteración total y diferencial en el recuento de glóbulos blancos con los inherentes problemas de inmunosupresión (Verma y Mathew, 1998).

4.3.- Zearalenona (ZEN)

4.3.1.- Pollos.

Contaminaciones con ZEN en el alimento compuesto, comprendidas entre 1000 a 30000

ppb (microgramos/kg), no provocaron problemas en pollitos que estuvieron a consumir el alimento compuesto contaminado durante 7-8 semanas (Bacon y Marks, 1976).

Otras contaminaciones más elevadas, del orden de 300000 a 600000 ppb con consumos durante 4 días, provocaron en pollitos un aumento de peso en la bolsa de Fabricio y un aumento de quistes en el tracto genital (Christensen, 1979).

La LD50 (administración oral, dosis única) en pollitos es muy elevada y se sitúa en los 15000 mg/kg p.v. (Mirocha *et al.*, 1978; Christensen, 1979).

4.3.2.- Gallinas

Las gallinas son también bastante resistentes a la zearalenona ya que no hubo problemas con alimentos compuestos contaminados con 25000 y 100000 ppb de ZEN suministrados a gallinas Leghorn de 20 y 42 semanas de vida durante 17 y 7 semanas, respectivamente. Incluso el porcentaje de producción de huevos/gallina/día fue superior en las gallinas que consumieron el alimento compuesto con ZEN (5,9 y 7,9% más, respectivamente) (Marks y Bacon, 1976).

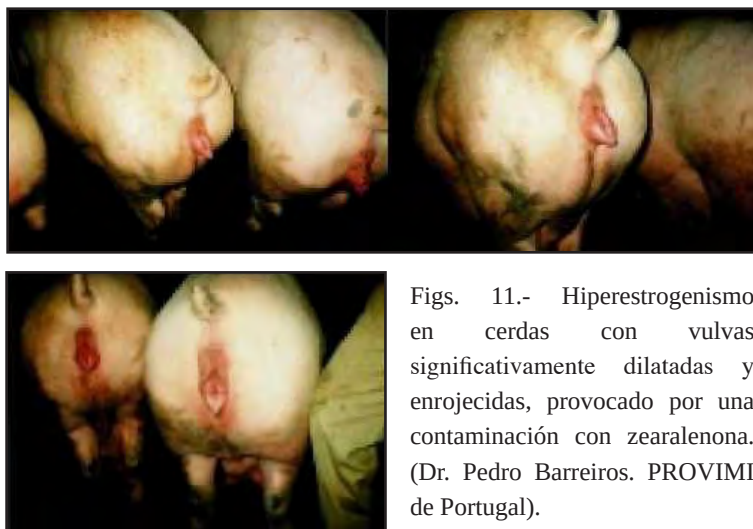
4.3.3.- Cerdos

Cerdas de 10 a 12 semanas de edad con un peso de 27 a 31 kg estuvieron a consumir durante 4 días y más, alimentos compuestos contaminados con 1000 a 5000 ppb de ZEN. La concentración más baja de 1000 ppb de ZEN ya causó problemas de vulvovaginitis al 4º día de consumo del alimento contaminado (Mirocha y Christensen, 1974).

En cerdas de 70 días de edad, concentraciones de contaminación comprendidas entre 1500 a 2000 ppb de ZEN, provocaron problemas de dilataciones y enrojecimientos de vulva al 7º día de consumo del alimento contaminado (Rainer *et al.*, 1990)

Parece ser que la ingesta diaria de zearalenona que puede ya causar problemas estrogénicos, se sitúa en 1000 microgramos de ZEN/cerda/día, por lo menos en cerdas jóvenes (Mirocha y Christensen, 1974; Gimeno y Martins, 2003).

Así pues, y a partir de estos datos, podríamos decir que, piensos contaminados con 500 ppb y 335 ppb de ZEN, podrán ya provocar problemas estrogénicos en cerdas en gestación que estén a consumir de 2 a 3 Kg de pienso por día. Para una cerda en lactación que esté a consumir entre 5 y 6 kg de pienso por día, unas contaminaciones de pienso correspondientes a 250 ppb y 167 ppb de ZEN, ya pueden causar problemas. Evidente que todo esto está relacionado con la duración de la ingesta del alimento contaminado y la sensibilidad de las cerdas según la raza (Figs. 11), pudiendo haber casos en donde alguna de estas concentraciones no afecten significativamente (Gimeno, 1987; Gimeno, 2002; Gimeno y Martins, 2003; Gimeno y Martins, 2006). A pesar de que las cerdas jóvenes son las más sensibles, hemos visto problemas de estrogenismo en cerdas gestantes y lactantes con las concentraciones de contaminación con ZEN anteriormente indicadas.



Figs. 11.- Hiperestrogenismo en cerdas con vulvas significativamente dilatadas y enrojecidas, provocado por una contaminación con zearalenona. (Dr. Pedro Barreiros. PROVIMI de Portugal).

Se han dado casos de muertes en lechones en el momento del parto (Fig.12) y de prolapsos rectales en cerdas que consumían alimento contaminado con ZEN (Fig. 13).



Fig. 12.- Muerte de un lechón provocada por una contaminación con zearalenona en el alimento consumido por la cerda. (Dr. Pedro Barreiros. PROVIMI de Portugal).



Fig. 13.- Prolapso rectal originado por una contaminación con zearalenona. (Dr. Pedro Barreiros. PROVIMI de Portugal).

En cerdas reproductoras adultas, además del característico edema de vulva se produce también un edema de las glándulas mamarias el cual puede dar lugar a la muerte de los lechones recién nacidos por provocar la retención o bien la ausencia de leche (Eich, 1990). La tasa de fertilidad y de concepción disminuye y consecuentemente el peso y tamaño de las camadas. Es característico el aumento de retornos al celo. Se producen problemas de vulvas dilatadas y enrojecidas en lechonas recién nacidas en donde la cerda está ha ingerir alimento contaminado con ZEN. Muchas veces en las cerdas no aparecen los típicos síntomas clínicos que produce la zearalenona y esto se puede ver justificado porque las concentraciones de contaminación con la micotoxina están muy por debajo de las que realmente provocan problemas. Se piensa muchas veces que la causa del problema en las lechonas sea debida a una transmisión de la zearalenona o alguno de sus metabolitos (alfa y/o beta zearalenol) a las lechonas desde la cerda y a través de la placenta o/y la leche, sin embargo la relación causa-efecto no esta aún suficientemente aclarada. La zearalenona y sus metabolitos pueden encontrarse en la leche, 42-44 horas después de la ingestión del alimento contaminado y pueden permanecer de 4 a 5 días (Veterinary News, 1996) (Fig. 14).



Fig. 14.- Lechonas recién nacidas con problemas de dilatación y enrojecimiento de vulva provocados probablemente por zearalenona transmitida a través de la cerda. (Dr. Pedro Barreiros. PROVIMI de Portugal).

Alimento contaminado con ZEN en 1000 ppb y consumido en el periodo correspondiente a los 7-10 días después de la cubrición, origina efectos adversos en el desarrollo embrionario (Long *et al.*, 1992). Los signos clínicos, como el edema de vulva y mortalidad perinatal, desaparecen cuando el animal deja de comer alimento contaminado por un periodo de 3-4 semanas (Mallmann e Dilkin, 2007). Cuando los consumos de alimento contaminado con zearalenona, se efectúan durante los periodos de gestación y de lactación, se da lugar a una tendencia para aumentar la mortalidad de los lechones en las dos primeras semanas de vida (Echave *et al.*, 2008).

Algunos autores indican que, concentraciones de zearalenona de 20-50 ppb en el alimento compuesto para cerdos, pueden ya provocar problemas. Así pues, estos autores consideran que los niveles máximos de zearalenona en alimento compuesto para cerdas y lechones, deben ser inferiores a 10 ppb (Ewald *et al.*, 1991).

4.3.4.- Vacas lecheras

A nivel de observaciones de campo parece ser que en vacas lecheras, contaminaciones con ZEN en la ración final superiores a 250 ppb, pueden ya provocar problemas estrogénicos, abortos, disminución del consumo de alimento compuesto y de la producción lechera, vaginitis, secreciones vaginales, deficiencias en la reproducción y un aumento del tamaño de las glándulas mamarias en novillas vírgenes (Jones *et al.*, 1994-2007; Gimeno, 1999; Gimeno, 2002). Se han observado problemas de prolapsos rectales en vacas a consumir alimentos contaminados con ZEN (Fig. 15).



Fig. 15.- Prolapso rectal en vacas originado por una contaminación del forraje con zearalenona. (Dr. Rúben Rivera. Laboratorio AVIMEX de México).

4.3.5.- Conejos

Con una ingesta de 1 mg de zearalenona/kg p.v./día, durante 12 días, lo que equivale a la ingestión de un alimento contaminado con 7000 ppb de la micotoxina, el tamaño del útero aumentó hasta un 50% (Lebas y Perez, 1998; Gimeno y Martins, 2000). Esta micotoxina altera por tanto la fertilidad y viabilidad embrionaria, a pesar de que la aceptación es buena (efecto estrogénico), ya que la tasa de folículos preovulatorios aumenta.

Los análisis de las secreciones uterinas son útiles para apreciar la influencia de la zearalenona en la reproducción. Con esta micotoxina, se observaron cambios en el contenido en aminoácidos y micro elementos con consumos de 11,5 mg de zearalenona/kg. p.v./día durante 10 días (Osborn *et al.*, 1988; Gimeno y Martins, 2000).

Cuando los conejos (con 4 meses de edad) empezaron a ingerir alimento contaminado se observó un efecto anabolizante. El porcentaje de hemoglobina, hematocrito, calcio, fósforo y vitamina C en suero, grasa del hígado y densidad ósea, aumentó. Se produjeron cambios histopatológicos en hígado, riñón, pulmón, corazón, adrenales, bazo y útero después de ingerir alimentos contaminados con 500 y 1000 ppb de zearalenona durante 18 días (Abdelhamid *et al.*, 1992; Gimeno y Martins, 2000; Gimeno *et al.*, 2001).

En un lote de 350 conejas que estaban a consumir un alimento compuesto contaminado con ZEN en una concentración correspondiente a 200 ppb, hubo un descenso en la producción de las hembras, además de un aumento de mortalidad en cebadero. Las conejas aceptaban bien al macho, pero el porcentaje de las gestaciones era bajo. Además hubo abortos y diarrea amarilla en los gazapos lactantes. Las heces de las hembras estaban mal formadas y se observaron muchos cecotrofos debajo de las jaulas. La mortalidad en cebadero era elevada con un cuadro de enteritis-diarrea. El consumo de alimento compuesto disminuyó significativamente de forma que una cuba de pienso duró casi el doble de lo normal (Gimeno y Martins, 2000).

4.4.- Fumonisin B1 (FB1)

4.4.1.- Pollos

Contaminaciones en alimentos compuestos con FB1 de 10000, 30000, 75000, 300000 y 525000 ppb suministrados a pollitos de 2 días de vida en periodos que oscilaron entre 6 y 21 días, provocaron una disminución de peso vivo y de los pesos absolutos del hígado, bazo y bolsa de Fabricio, alteraciones en el sistema enzimático y en parámetros hematológicos. Hubo variaciones en los niveles de esfinganina libre y en la relación esfinganina/esfingosina (Weibking *et al.*, 1993; Espada *et al.*, 1994).

4.4.2.- Gallinas

Las concentraciones en alimento compuesto que provocaron diarreas y bajas de puesta fueron de 8000 a 16000 ppb (Espada *et al.*, 1994).

4.4.3.- Patos

Concentraciones muy elevadas de FB1 en alimentos compuestos, del orden de 100000, 200000 y 400000 ppb fueron suministrados a patos blancos Pekín desde 1 a 21 días de edad. El consumo de alimento compuesto y la ganancia de peso vivo disminuyeron significativamente. Los pesos absolutos del hígado, corazón, riñón, páncreas y proventrículo, aumentaron. La relación esfinganina/esfingosina sufrió un aumento significativo. Fue encontrado en el hígado, una moderada hiperplasia hepatocelular y biliar (Bermudez *et al.*, 1995).

4.4.4.- Pavos

Alimentos compuestos contaminados con 25000 y 50000 ppb de FB1 fueron suministrados a pavos de 1 semana de vida. La contaminación más elevada provocó una significativa disminución del consumo de alimento compuesto. La relación esfinganina / esfingosina aumentó de una forma patente con esta concentración más elevada. La concentración más baja no provocó problemas relevantes (Broomhead *et al.*, 2002).

Una concentración muy elevada de FB1 del orden de 200000 ppb, suministrada a pavos de 1 día de vida provocó fallos de la vacunación contra la enfermedad de Newcastle a las 2 y 3 semanas de estar ha ingerir el alimento contaminado (Li *et al.*, 2002). Esa misma concentración de FB1 aumentó el peso relativo del hígado y los niveles de las enzimas aspartato aminotransferasa y deshidrogenasa láctica, hubo también una moderada hiperplasia hepatocelular a los 21 días de consumir el alimento contaminado (Bermudez *et al.*, 1997).

Con contaminaciones, muy elevadas de FB1 del orden de 100000 y 200000 ppb en el alimento compuesto suministrado a pavos de 1 día de vida y durante 21 días, hubo problemas de disminución de la ganancia de peso vivo, aumento de los pesos del hígado, riñones y páncreas y disminución de los pesos del corazón y bazo. Hubo importantes variaciones en los niveles de algunos enzimas y una significativa hiperplasia biliar (Weibking, 1993).

4.4.5.- Cerdos

Cerdos machos castrados y cerdas consumieron durante 8 semanas alimentos compuestos contaminados con 100 a 10000 ppb de FB1. En general, la toxicidad de la FB1 fue más grave en los cerdos machos que en las cerdas. Los machos que consumieron las dietas con 1000 y 10000 ppb disminuyeron la ganancia de peso vivo en un 8 y 11%, respectivamente. La contaminación más baja de 100 ppb provocó en los machos un crecimiento anormal durante las primeras 5 semanas, el consumo de pienso fue un poco más alto que el control durante las 4 primeras semanas pero después disminuyó en un 6-7% cada semana.

Las contaminaciones con 1000 y 10000 ppb provocaron en los machos un aumento del colesterol a las dos semanas. En las hembras y con 1000 ppb de FB1, los niveles de colesterol fueron elevados al final de la prueba. En los machos hubo una alteración de peso del páncreas y glándulas suprarrenales. Hubo un incremento de la esfinganina y de la relación esfinganina/esfingosina. Hubo casos de problemas de edema pulmonar con las concentraciones más altas (Rotter *et al.*, 1996).

En un grupo de 20 lechones destetados que consumieron alimentos con FB1 en concentraciones de 10000, 20000 y 40000 ppb durante 4 semanas se constató un ligero edema pulmonar con la concentración más baja en tres de los animales que consumieron ese alimento. Hubo dos casos de ligero edema pulmonar y dos casos graves, en los animales que consumieron alimento con 20000 ppb y se constataron 5 casos graves en los animales que consumieron el

alimento con la concentración de contaminación más alta (Zomborszky *et al*, 2000).

Con concentraciones más bajas del orden de 1000, 5000 y 10000 ppb durante 8 semanas, hubo alteraciones patológicas en los pulmones de uno de los lechones que consumió alimento contaminado con 1000 ppb, en dos de los que consumieron alimento con 5000 ppb y en tres de los animales que consumieron alimento con 10000 ppb. No hubo signos clínicos significativos ni el rendimiento de los animales fue afectado, sin embargo el consumo más prolongado de alimento contaminado, aunque en concentraciones bajas de FB1, ya provocó alteraciones pulmonares (Zomborszky *et al*, 2002).

Hay autores que indican, que las variaciones en la calidad de la canal del cerdo pueden incrementarse negativamente con consumos de alimento contaminado con 1000 ppb de FB1 (Hascheck *et al*, 2001).

Las fumonisinas pueden provocar un aumento de la susceptibilidad al *Escherichia coli* ya que en treinta y cinco lechones híbridos Yorkshire machos de 3 semanas de vida recién destetados y que fueron alimentados durante 6 días con dosis de FB1 de 0,5 mg / kg p.v./ día, lo que equivale a una concentración de la micotoxina en pienso del orden de 5 a 8 ppm, hubo un aumento significativo de la diseminación bacteriana cuando el *Escherichia coli* fue administrado por vía oral. Después de 24 horas de la inoculación bacteriana la colonización fue mayor en los pulmones, bazo, hígado, riñones y aún mayor en órganos digestivos como el íleo, ceco, colon y nódulos linfoides mesentéricos. Sin embargo, los animales no presentaron síntomas clínicos significativos, no hubo muertes ni variaciones en la ganancia de peso vivo comparado con el grupo control. Los animales necropsiados no presentaron lesiones ni macro ni microscópicas en hígado o bien otros tejidos, las cuales pudieran estar relacionadas con la intoxicación con FB1 (Oswald *et al*, 2003)

4.4.6.- Vacas lecheras

Vacas Jersey en el periodo medio de la lactación ingirieron durante 14 días una ración final contaminada con 75000 ppb de fumonisinas (FB1+FB2+FB3) de forma a proporcionar una ingesta de 3 mg de fumonisinas/kg de peso vivo(p.v.)/día. Se observaron algunos problemas de ligera diarrea al inicio del consumo del alimento contaminado, el colesterol en suero aumentó, sin embargo, no fueron observadas más anomalías en los animales (Richard *et al.*, 1996).

4.4.7.- Conejos

Con dosis de 0,15-1 mg de FB1/kg p.v. (peso vivo)/día durante 4-5 días, se observó que la FB1 provocaba alteraciones multiorgánicas: sobre todo en riñón y después en hígado, pulmón, corazón, cerebro, SNC (leucoencefalomelacia) y disminuciones en el peso del feto. Si se considera un conejo de 2,4 kg de p.v., y un consumo diario de 150 g de alimento compuesto por día, aproximadamente, las contaminaciones de FB1 deberían estar comprendidas entre 2400 y

16000 ppb (Gimeno y Martins, 2000a; Gimeno *et al.*, 2001).

4.5.- Vomitoxina o deoxinivalenol (DON)

4.5.1.- Pollos

Los pollos son muy resistentes a la acción tóxica de DON, así pues, alimentos compuestos contaminados con 15000 y 50000 ppb de DON fueron suministrados a pollitos de 6 días de vida en periodos que oscilaron entre los 42 y 6 días, respectivamente. Con la mayor contaminación solo fueron notadas algunas erosiones en la boca (Romer, 1983; Halloran, 1983).

4.5.2.- Gallinas

Las gallinas son significativamente más sensibles que los pollos a esta micotoxina ya que contaminaciones en alimentos compuestos del orden de 350 a 700 ppb de DON durante 10 semanas (192 a 262 días de edad), provocaron una disminución del peso del huevo y huevos blandos, no se observaron cambios significativos en el rendimiento (performance) (Hamilton *et al.*, 1981).

Contaminaciones más elevadas correspondientes a 2500 y 4900 ppb durante 10 semanas, provocaron anomalías significativas en el desarrollo del pollito (pollitos débiles con atrasos en la formación ósea). Sin embargo no hubo efectos negativos en el consumo de pienso, producción de huevos, fertilidad, incubabilidad y mortalidad perinatal (Bergsjö, 1993a).

4.5.3.- Patos

Patos salvajes que estaban cautivos fueron alimentados durante 14 días con trigo que contenía 5800 ppb de DON. No hubo problemas de rechazo del cereal y tampoco se detectaron diferencias en los niveles de proteína sérica, calcio, glucosa, creatinina quinasa, aspartato aminotransferasa y ácido úrico comparado con los resultados del lote control. El peso corporal y el de algunos órganos fue el mismo que el de los patos que comieron alimento no contaminado. Concentraciones relativamente moderadas de DON en periodos de suministro cortos no provocaron efectos adversos (Boston, 1996).

4.5.4.- Pavos

Pavos de 1 día de vida que estuvieron a comer alimento compuesto contaminado con 20000 ppb de DON durante 21 días, no tuvieron variaciones en el consumo de alimento diario, ni en la ganancia de peso vivo comparado con el grupo control. No hubo lesiones histológicas ni efectos adversos significativos (Morris, 1999).

4.5.5.- Cerdos

Concentraciones de DON del orden de 300 a 700 ppb en el alimento compuesto, provocaron en cerdos rechazo del pienso y reducción de la ganancia de peso vivo (Trenholm *et al.*, 1983).

Concentraciones más elevadas correspondientes a 700-3500 ppb, provocaron una reducción del consumo de pienso diario, reducción de la ganancia de peso vivo y rechazo del alimento. Para las concentraciones más altas de micotoxina, hubo un aumento de peso del hígado y una disminución en las concentraciones de proteína y albúmina en el suero (Bergsjö *et al.*, 1993b).

Concentraciones en el alimento compuesto muy elevadas del orden de 20000 ppb, causaron vómitos en cerdos jóvenes (Young *et al.*, 1983), sin embargo nosotros hemos podido observar que con concentraciones más bajas del orden de 10000 ppb ya se pueden producir problemas de vómitos en cerdos de 25 Kg de peso vivo a consumir el alimento contaminado durante 3 semanas.

4.5.6.- Vacas lecheras

A pesar de que hay autores que nos citan que concentraciones elevadas de DON en el alimento compuesto, del orden de 6000 a 12000 ppb suministradas durante 10 semanas, provocaron una disminución significativa de la producción lechera y de la grasa en la leche (Charmley *et al.*, 1993). Otros autores nos indican que según datos estadísticos resultantes de observaciones de campo, la presencia de DON en concentraciones superiores a 300 ppb en la ración final puede provocar una reducción del consumo de pienso, baja en la producción lechera, un aumento significativo en el recuento de células somáticas y una también significativa reducción de la eficiencia reproductiva. Parece ser que la baja en la producción lechera por causa de esta micotoxina puede ser del orden de 12,5 litros/vaca/día cuando los niveles de contaminación resultan ser de 500 ppb o más en la ración final (Jones *et al.*, 1994-2007). En lo que se refiere a la reducción en la producción de leche, nos parece un valor demasiado alto, sin embargo es así como lo expresan los autores anteriormente citados. .

Los autores Whitlow *et al.*, 1986 y Whitlow *et al.*, 1987, hicieron un estudio en 100 granjas comerciales de vacas lecheras en el Estado de Carolina del Norte (USA) y se encontraron que una contaminación con DON de 800 ppb en el alimento (sobre sustancia seca), dio lugar a una reducción en la producción de leche del orden de 2 litros/día, aproximadamente.

4.5.7.- Conejos

En infecciones experimentales se han observado efectos depresores de la reproducción (reabsorción, abortos, nacimiento de crías débiles) con ingestas de 1,8 y 2,0 mg de DON/kg p.v./día correspondientes a contaminaciones en el alimento entre 120000 y 240000 ppb (improbables de encontrar en la práctica). Para estas dosis de micotoxina el consumo del alimento se redujo a 75-50 g/día, en lugar de 135 g en los testigos (Khera *et al.*, 1986; Gimeno y Martins, 2000).

Dosis que fueron de 1 y 1,6 mg de DON/kg p.v./día, correspondientes a unas contaminaciones en alimento compuesto, de 30000 y 60000 ppb, respectivamente, causaron disminución en

el peso del feto. Dosis de 0,3 y 0,6 mg/kg p.v./día que correspondían a contaminaciones de 7500 y 15000 ppb en el alimento compuesto, respectivamente, no fueron maternotóxicas y no provocaron efectos adversos en el feto (Khera *et al.*, 1986).

Otros autores (Lebas y Perez, 1998; Gimeno *et al.*, 2001), refieren también que concentraciones de DON en el alimento compuesto del orden de 120000 ppb provocaron problemas embrionarios, en cambio concentraciones de 10000 ppb no provocaron problemas aparentemente visibles.

4.6.- Toxina T-2

4.6.1.- Pollos

Una contaminación de 400 ppb de toxina T-2 en alimento compuesto suministrado a pollitos de 1 día de vida durante 49-63 días, provocó lesiones en la boca y reducción de la ganancia de peso vivo al igual que 1000 ppb en 21 días (Chi *et al.*, 1977a; Chi *et al.*, 1977 b).

Contaminaciones más elevadas de 4000, 8000 y 16000 ppb durante 21 días en pollitos de 1 día de vida, provocaron, además de las lesiones antes mencionadas, una alta mortalidad (que ya fue patente a los 7 días) y una elevada incidencia de hematomas en hígado. Los pesos relativos del bazo y páncreas aumentaron y el peso de la bolsa de Fabricio disminuyó con concentraciones de 8000 y 16000 ppb de toxina T-2 (Wyatt *et al.*, 1973).

Respecto a alteraciones enzimáticas, concentraciones de contaminación comprendidas entre 200 y 4000 ppb de toxina T-2 suministradas a pollitos de 1 día de vida durante 9 semanas, no provocaron variaciones de los niveles en suero correspondientes a la transaminasa glutámico oxalacética, transaminasa glutámico piruvica, deshidrogenasa láctica y fosfoquinasa creatinínica, comparados con los valores del lote control (Chi *et al.*, 1977a).

Contaminaciones que fueron de 1000 a 16000 ppb suministradas a pollitos de 1 día de vida durante 7 días provocaron lesiones en paladar y lengua. Cuando los consumos se prolongaron hasta los 21 días, se produjeron disturbios neurológicos con atrasos en crecimiento, una alteración del plumaje, aumento del tamaño de las lesiones orales y lesiones necróticas en molleja. Incluso algunos pollitos no podían cerrar la boca y comían con dificultad. Las lesiones orales se caracterizaban por la proliferación de placas blanco amarillentas caseosas en el margen del pico, mucosa del paladar, boca y lengua, había una inflamación de los tejidos y necrosis locales. Las zonas externas de las lesiones orales eran fibrinosas y blandas, mientras que en las zonas internas había infiltraciones de leucocitos granulares. En las zonas erosionadas había un gran número de bacterias tipo "coccus" dispersas a lo largo del tejido afectado (Wyatt *et al.*, 1972; Gimeno y Martins, 2001).

Tomando como base el consumo de alimentos contaminados con toxina T-2 para pollitos

de engorde en el periodo comprendido entre 1 y 21 días de edad, las concentraciones de esa micotoxina en alimento compuesto que no afectan a ciertos parámetros son: tasa de crecimiento, 2000 ppb; peso del páncreas, 2000 ppb; peso del bazo, 2000 ppb; peso de la bolsa de Fabricio, 4000 ppb; lesiones orales, < 1000 ppb (Wyatt *et al.*, 1973).

Para otros autores, los niveles que no afectan a ciertos parámetros son: ganancia de peso vivo, 200 ppb; colesterol en suero, 2000 ppb; ácido úrico en suero, < 200 ppb; lesiones orales, 200 ppb (Chi *et al.*, 1977a; Chi *et al.*, 1977b).

4.6.1.1.- Interacciones

Concentraciones de toxina T-2 del orden de 2000 a 4000 ppb en alimentos compuestos dados a pollos, provocaron fallos muy significativos del coccidiostático monensina de sodio que estaba siendo correctamente utilizado contra *Eimeria tenella*. Concentraciones semejantes disminuyeron la LD50 de la narasina (de 176 mg/kg p.v. para 102 mg/kg p.v.) (Ványi *et al.*, 1989).

Niveles de contaminación con toxina T-2 en alimento compuesto del orden de 500, 1250 y 6000 ppb provocaron fallos significativos del coccidiostático lasalocida de sodio que estaba a ser correctamente utilizado contra *Eimeria tenella* y *Eimeria mitis* en gallos jóvenes (Varga y Ványi, 1992).

4.6.2.- Gallinas

Concentraciones de 1000, 5000 y 10000 ppb de toxina T-2 en alimento compuesto durante 28 días dieron lugar a una reducción en la producción de huevos (reducciones de 12,5; 68,0; y 78,9%, respectivamente) y disminuyeron la capacidad de incubación de los mismos (Tobias *et al.*, 1992).

Con 2000 ppb, hubo problemas de lesiones orales que afectaron al paladar, lengua y pico, reducción del consumo de alimento compuesto y de la producción de huevos. Estos efectos indeseables ya fueron patentes a las 24 horas (Leeson *et al.*, 1995).

Con 500 ppb se desarrollaron lesiones orales en gallinas reproductoras que consumieron el alimento compuesto durante 3 semanas. Concentraciones de contaminación mayores del orden de 2000 a 8000 ppb afectaron negativamente a la capacidad de incubación y fertilidad del huevo, hubo una disminución del consumo de pienso, producción de huevos y del espesor de la cáscara (Chi *et al.*, 1977b). En la Fig. 16, se puede ver un ejemplo de este tipo de lesiones orales.

4.6.3.- Patos

Alimentos compuestos con 250, 500 y 1000 ppb de toxina T-2, fueron suministrados a patos "*Cairina moshata*" de 1 día de vida y durante 7 días. Con todos los niveles de contaminación,

hubo problemas de lesiones orales a las 16 horas del consumo de los alimentos (Shlosberg, 1986).

Concentraciones de toxina T-2 en el alimento compuesto del orden de 2000 ppb suministrado a patos de 6 semanas de edad durante 9 días, provocaron significativas erosiones y ulceraciones en la cavidad oral y esófago, los patos tuvieron una disminución del peso vivo al igual que los pesos del Timo, bazo, y bolsa de Fabricio también se vieron disminuidos en comparación con el grupo control (Neiger, 1994).



Fig.16.- Lesiones orales provocadas por una contaminación con toxina T-2. Estas lesiones son semejantes a las provocadas por el diacetoxiscirpenol. (Laboratorio AVIMEX de México).

4.6.4.- Pavos

Concentraciones de toxina T-2 en el alimento compuesto de hasta 1000 ppb suministradas a pavos jóvenes durante 32 días y más, no alteraron el crecimiento, ni la ganancia de peso vivo, ni la morfología del intestino delgado, ni la producción de anticuerpos, cuando comparado con el grupo control. Sin embargo, cuando la contaminación con toxina T-2 fue acompañada de una contaminación con diacetoxiscirpenol también en concentraciones hasta 1000 ppb, hubo una producción de lesiones orales ya patentes y graves a los 7-15 días de la ingestión del alimento contaminado con las dos micotoxinas. Los cambios morfológicos en el intestino delgado fueron moderados y no se observaron lesiones patológicas y/o histopatológicas (Sklan, 2003)

4.6.5.- Cerdos

Alimentos compuestos contaminados con toxina T-2 en concentraciones comprendidas entre 1000 a 8000 ppb y suministrados a lechones durante 8 semanas, provocaron una disminución del consumo de pienso y de la ganancia de peso vivo. Hubo problemas de lesiones orales (Mirocha, 1979).

En lechones de 49 días de edad con un peso de 9 kg, concentraciones de toxina T-2 en el alimento compuesto del orden de 500, 1000, 2000 y 3000 ppb durante 21 días causaron una marcada reducción del sistema inmunitario (Rafai *et al.*, 1995a). El consumo de pienso y la ganancia de peso vivo se vio ya reducida con la concentración más baja de micotoxina, hubo también problemas de rechazo del alimento (Rafai *et al.*, 1995b).

4.6.6.- Vacas lecheras

Una ración final contaminada de una forma natural con 1200 ppb de toxina T-2 provocó muertes en vacas lecheras que estuvieron a consumir el alimento contaminado durante varios meses, sin embargo los autores indican que podía ser posible que los niveles de contaminación fueran más elevados (Hsu *et al.*, 1972).

Otros autores nos dicen que, en vacas lecheras, la presencia de toxina T-2 puede ir relacionada con el rechazo del alimento, baja en la producción lechera, gastroenteritis, hemorragias intestinales y muerte (Jones *et al.*, 1994-2007). Datos estadísticos de observaciones de campo aconsejan que el máximo de contaminación tolerable con toxina T-2 no debe exceder las 100 ppb en la dieta total (Jones *et al.*, 1994-2007).

La toxina T-2 está asociada con una marcada reducción de la respuesta inmunitaria en terneros (Mann *et al.*, 1982; Mann *et al.*, 1984).

4.6.7.- Conejos

Con contaminaciones del alimento comprendidas entre 190 y 284 ppb de toxina T-2 (esta última fue suministrada durante 4-7 semanas) (Szilagyi *et al.*, 1994; Lebas y Perez, 1998; Gimeno y Martins, 2000), esta micotoxina es hepatotóxica y nefrotóxica en conejos provocando también alteraciones del aparato digestivo, respiratorio y la reproducción. Su LD50 observada en ensayo experimental es 1,1 mg/kg p.v. (Chan y Gentry, 1984).

4.7.- Diacetoxiscirpenol (DAS)

4.7.1.- Pollos

Con contaminaciones de DAS en alimento compuesto de 1000 a 2000 ppb hubo problemas de lesiones orales y de atrasos en crecimiento en pollitos de 1 día de vida que estuvieron a consumir el alimento contaminado durante 3 semanas (Ademoyero y Hamilton, 1991a).

En pollitos de 1 día de vida a consumir alimentos contaminados durante 3 semanas, una concentración en alimento compuesto de 5000 ppb de DAS fue más agresiva en cuanto a la producción de lesiones orales que 5000 ppb de toxina T-2. Destacamos que las lesiones orales ya fueron patentes a los 5 días (Chi y Mirocha, 1978). La Fig. 17, muestra un ejemplo de este tipo de lesiones.



Fig. 17.- Lesiones orales provocadas por una contaminación con diacetoxiscirpenol. Estas lesiones son semejantes a las provocadas por la toxina T-2. (Laboratorio AVIMEX de México).

4.7.1.1.- Interacciones

Alimentos compuestos con 12 % de grasa y que estaban contaminados con 4000 y 8000 ppb de diacetoxiscirpenol, provocaron en pollos durante 3 semanas, problemas de disminución del peso vivo más graves que los que resultaron con las mismas contaminaciones de micotoxina pero en alimentos compuestos con 6% de grasa. El incremento de la absorción micelar lipídica de la micotoxina cuando administrada en la dieta con más elevado contenido graso, puede ser probablemente una explicación al respecto (Ademoyero y Hamilton, 1991b).

4.7.2.- Gallinas

Con 2000 ppb de DAS en alimento compuesto para gallinas, las lesiones orales que afectaron al paladar, lengua y pico y la reducción de la ingesta y producción de huevos ya fue manifiesta a las 24 horas del consumo de alimento contaminado (Leeson *et al.*,1995). Un ejemplo de este tipo de lesiones puede ser visto en las Figs. 18 y 19.

Una contaminación en alimento compuesto del orden de 500 ppb de DAS durante 4 semanas dio lugar a una disminución en la capacidad de incubación de huevos fértiles en gallinas de 50 semanas de vida (Allen *et al.*,1982).



Fig. 18.- Lesiones orales provocadas por una contaminación con diacetoxiscirpenol. La toxina T-2 provoca lesiones semejantes. (Laboratorio AVIMEX de México).



Fig. 19.- Lesiones orales provocadas por una contaminación con diacetoxiscirpenol y que son semejantes a las provocadas por la toxina T-2 (Laboratorio AVIMEX de México).

4.7.3.- Patos

Alimentos compuestos contaminados con 250, 500 y 1000 ppb de DAS fueron suministrados a patos "*Cairina moshata*" de 1 día de vida y durante 7 días. Todas las contaminaciones provocaron lesiones orales a las 16 horas del consumo de los alimentos contaminados (Shlosberg, 1986).

4.7.4.- Pavos

Concentraciones de DAS en el alimento compuesto hasta 1000 ppb suministradas a pavos jóvenes durante 32 días y más, no alteraron el crecimiento, ni la ganancia de peso vivo, ni la morfología del intestino delgado, ni la producción de anticuerpos, cuando comparado con el grupo control. Sin embargo, cuando la contaminación con DAS fue acompañada de una contaminación con toxina T-2 también en concentraciones hasta 1000 ppb, se produjeron lesiones orales ya patentes y graves a los 7-15 días de la ingestión del alimento contaminado con las dos micotoxinas. Los cambios morfológicos en el intestino delgado fueron moderados y no se observaron lesiones patológicas y/o histopatológicas (Sklan, 2003).

4.7.5.- Cerdos

Concentraciones de DAS en el alimento compuesto tan bajas como 380 y 500 ppb provocaron problemas de hemorragias intestinales en cerdos (Mirocha, 1979).

En lechones, concentraciones de DAS en el alimento compuesto del orden de 2000 a 10000 ppb suministrado durante 9 semanas, provocaron lesiones orales graves, trastornos intestinales y una significativa disminución de la ganancia de peso vivo (Mirocha, 1979).

4.7.6.- Vacas lecheras y conejos

No tenemos datos que podamos referir respecto a los efectos de esta micotoxina en vacas lecheras y conejos.

4.8.- Monoacetoxiscirpenol (MAS), Triacetoxiscirpenol (TAS) y Escirpentriol (STO)

4.8.1.- Pollos

Los valores de LD50 para estas tres micotoxinas en pollitos de 1 día de vida (dosis oral única), dieron como orden de mayor a menor toxicidad, 15-monoacetoxiscirpenol (3,4 mg/kg p.v.), triacetoxiscirpenol (7,2 mg/kg p.v.) y escirpentriol (9,3 mg/kg p.v.). El 15-MAS fue más tóxico que 3 y 4-MAS cuyas LD50 fueron de 8,1 y 9,6 mg/kg p.v. respectivamente (Leeson *et al.*, 1995).

Unas concentraciones individuales en alimento compuesto de 500 ppb de MAS, 4000 ppb de TAS y 2000 ppb de STO suministradas a pollitos de 1 día de vida durante 21 días, provocaron (cada una de ellas), lesiones orales ya patentes a los 7 días de ingesta. El número de lesiones triplicó a los 14 días de consumo del alimento contaminado. Con las concentraciones anteriores, las micotoxinas MAS y STO provocaron problemas de anomalías en el plumaje (plumas deshilachadas y con falta de entramado), STO provocó una significativa reducción del crecimiento. Con concentraciones superiores de MAS (2000 ppb) y de TAS (8000 ppb) la inhibición del crecimiento fue también significativa (Ademoyero y Hamilton, 1991a; Ademoyero *et al.*, 1991).

4.8.2.- Gallinas

Contaminaciones de monoacetoxiscirpenol del orden de 25000 y 50000 ppb en alimento compuesto durante 28 días, provocaron una significativa disminución del consumo, peso vivo e interrupción en la puesta de huevos (Leeson *et al.*, 1995).

4.8.3.- Patos, Pavos, Cerdos, Vacas lecheras y Conejos

No tenemos datos que podamos presentar respecto a la toxicidad de estas micotoxinas en patos, pavos, cerdos, vacas lecheras y conejos.

SINERGISMOS Y/O ASOCIACIONES DE MICOTOXINAS



5.- SINERGISMOS Y/O ASOCIACIONES DE MICOTOXINAS

Entendemos por sinergismos entre varias micotoxinas cuando la presencia de ellas en un mismo alimento, en determinadas concentraciones, provoca problemas de toxicidad que no ocurrirían si esas mismas concentraciones correspondieran a contaminaciones individuales. En lo que se refiere a "asociaciones", definimos ese termino cuando la presencia de varias micotoxinas en un mismo alimento en determinadas concentraciones, provoca problemas de toxicidad igual que los provocaría cada una de esas concentraciones individualmente, sin embargo y en ese caso los problemas de toxicidad se ven agravados y aumentados a la vez que las diferentes sintomatologías son más variadas.

Este tema es complicado, difícil y sujeto a una gran variabilidad. Los estudios realizados hasta el momento son escasos y no permiten definir criterios muy concretos, incluso a veces puede conducir a ciertas confusiones porque se este a pensar que por el hecho de que se encuentren dos o más micotoxinas en concentraciones muy bajas que de una forma individual no provocarían en absoluto ningún problema, puedan obligatoriamente provocarlo cuando en conjunto están contaminando el alimento compuesto en cuestión.

Sin embargo, veamos algunos casos recogidos de la bibliografía en determinadas experiencias.

5.1.- Vomitoxina, Aflatoxina B1, Vomitoxina + Aflatoxina B1

5.1.1.- Pollos

Según Huff *et al.*, 1986, pollitos Hubbard recién nacidos que consumieron piensos contaminados con, 16000 ppb de DON (contaminación individual), 2500 ppb de AFB1(contaminación individual), 16000 ppb de DON+2500 ppb de AFB1(contaminación conjunta), durante 3 semanas, tuvieron los siguientes problemas:

Con AFB1, disminuyó la ganancia de peso vivo e incrementó el peso relativo del bazo, hígado y riñones, hubo hiperlipemia hepática y los niveles de proteína, albúmina y fósforo en el suero disminuyeron al igual que la actividad de la deshidrogenasa láctica.

Con DON, hubo una reducción de la tasa de crecimiento, aumento del índice de conversión e incremento del peso relativo de la molleja, anemia y disminución de la actividad de la deshidrogenasa láctica y de los triglicéridos en el suero.

Con AFB1+DON, hubo los mismos problemas que anteriormente citamos pero con una mayor gravedad sin embargo parece ser que esta mayor gravedad no fue lo suficientemente significativa como para poder decir que la combinación de las dos micotoxinas representara una toxicidad sinérgica.

Respecto a la contaminación individual con DON y tal como en 4.5.- referimos, otros autores (Romer, 1983 y Halloran, 1983) nos citaban que con concentraciones de DON del orden de 15000 a 50000 ppb suministradas a pollos de 6 días de vida durante 42 y 6 días,

respectivamente, solo la mayor contaminación provocó algunas erosiones en la boca. Datos que como se puede ver no son muy concordantes con los citados por Huff *et al.*, 1986.

5.1.2.- Cerdos

En lechones de 6 semanas de edad que estuvieron a consumir alimentos conteniendo 3000 ppb de DON (contaminación individual), 3000 ppb de AFB1 (contaminación individual), 3000 ppb de DON+3000 ppb de AFB1 (contaminación conjunta) durante 28 días, hubo los siguientes problemas:

Con la AFB1 y AFB1+DON, la reducción de la ganancia de peso vivo fue muy significativa. Solo con DON esta reducción fue muy ligera. DON y AFB1+DON provocaron problemas de vómitos y rechazo del alimento. Las alteraciones enzimáticas fueron solo significativas con la AFB1 y con AFB1+DON (Harvey *et al.*, 1989).

5.2.- Toxina T-2, Aflatoxina B₁, Toxina T-2 + Aflatoxina B₁

5.2.1.- Pollos

Pollitos Hubbard de 1 día de vida que estuvieron a consumir piensos contaminados con, 4000 ppb de toxina T-2 (contaminación individual), 2500 ppb de AFB1 (contaminación individual), 4000 ppb de toxina T-2+2500 ppb de AFB1 (contaminación conjunta), durante 3 semanas, tuvieron los siguientes problemas según Huff *et al.*, 1988:

La toxina T-2, provocó lesiones orales, disminución de los niveles de proteína, albúmina, potasio y magnesio en el suero, hubo una disminución de la actividad de ciertas enzimas en el suero.

La AFB1, provocó una reducción en la ganancia de peso vivo y alteraciones en los niveles de proteína, albúmina, glucosa, colesterol, calcio y magnesio en el suero y ciertas enzimas. Hubo un aumento del peso relativo del hígado, riñones, bazo, páncreas, proventrículo y corazón.

Con la suma de las dos micotoxinas, se agravaron substancialmente todos los trastornos anteriormente mencionados.

5.3.- Toxina T-2, Ocratoxina A, Toxina T-2 + Ocratoxina A

5.3.1.- Pollos

En pollitos de 1 día de vida que estuvieron a consumir alimentos compuestos contaminados con, 4000 ppb de toxina T-2 (contaminación individual), 2000 ppb de OTA (contaminación individual), 4000 ppb de toxina T-2+2000 ppb de OTA (contaminación conjunta), durante 3 semanas, fueron observados los siguientes problemas:

Con OTA y OTA+toxina T-2, hubo una reducción de la eficacia nutricional del alimento compuesto. La contaminación solo con OTA provocó un aumento significativo del peso relativo del hígado, riñones, molleja y páncreas (Kubena *et al.*, 1989).

Con OTA+toxina T-2, se aumentaron los efectos antes mencionados y se redujo la ganancia de

peso vivo y los niveles de proteína, la actividad de la deshidrogenasa láctica en el suero también se vio disminuida. La interacción entre estas dos micotoxinas, provocó una elevación en los niveles de triglicéridos en el suero y una disminución de la actividad de la gamma glutamil transferasa y calcio en el suero (Kubena *et al.*, 1989).

5.3.2.- Cerdos

Cerdos híbridos en crecimiento que estuvieron a consumir alimentos compuestos contaminados con 8000 ppb de toxina T-2 (contaminación individual), 2500 ppb de OTA (contaminación individual), 8000 ppb de toxina T-2+2500 ppb de OTA (contaminación conjunta) durante un periodo de 30 días, tuvieron los siguientes efectos adversos:

Hubo una reducción del peso vivo y la ganancia de peso vivo para todas las contaminaciones, sin embargo la reducción fue mayor con la contaminación conjunta. El peso relativo del hígado disminuyó con la contaminación conjunta pero el peso relativo de los riñones aumentó con la contaminación solo con OTA. Esta contaminación disminuyó los niveles de colesterol, fósforo inorgánico, fosfatasa alcalina y de la hemoglobina en el suero, en cambio los niveles de creatinina y proteína aumentaron (Harvey *et al.*, 1994).

La toxina T-2, disminuyó los valores de hemoglobina y de fosfatasa alcalina en el suero. Con toxina T-2 + OTA, se agravaron significativamente todos los efectos antes mencionados (Harvey *et al.*, 1994).

5.4.- Toxina T-2, Vomitoxina, Toxina T-2+Vomitoxina

5.4.1.- Pollos

En pollitos de 1 día de vida que consumieron piensos contaminados con, 4000 ppb de toxina T-2 (contaminación individual), 16000 ppb de DON (contaminación individual), 4000 ppb de toxina T-2+16000 ppb de DON (contaminación conjunta), durante 3 semanas, fueron observados los siguientes problemas:

Con toxina T-2+DON, hubo una reducción de la ganancia de peso vivo y del peso vivo al final de la prueba, sin embargo, estos efectos no fueron significativos cuando se utilizaron las dos contaminaciones por separado. Los problemas de lesiones orales que aparecieron con la contaminación individual con toxina T-2, estuvieron incrementados con la contaminación conjunta. Otros parámetros que prácticamente permanecieron inalterados con el uso de las contaminaciones por separado, fueron gravemente afectados cuando se utilizó la contaminación con las dos micotoxinas (Kubena *et al.*, 1989a).

5.5.- Diacetoxiscirpenol, Ocratoxina A, Diacetoxiscirpenol + Ocratoxina A

5.5.1- Pollos

En pollitos de 1 día de vida que consumieron piensos contaminados con, 6000 ppb de

DAS (contaminación individual), 2000 ppb de OTA (contaminación individual), 6000 ppb de DAS+2000 ppb de OTA (contaminación conjunta), durante 19 días, fueron observados los siguientes efectos adversos:

Todas las contaminaciones provocaron una disminución del peso vivo. Con DAS y con DAS+OTA, hubo una reducción de la eficacia nutricional del alimento compuesto. Hubo una significativa interacción antagonista entre OTA y DAS para ácido úrico y colesterol (Kubena *et al.*, 1994).

DAS+OTA, provocaron un incremento del peso relativo del hígado, riñón y molleja y disminuyeron la concentración de la proteína total y de la hemoglobina en el suero. El 90% de los pollitos presentaron lesiones orales para todas las contaminaciones (Kubena *et al.*, 1994). Con OTA y con OTA+DAS, hubo problemas graves de nefropatía (Kubena *et al.*, 1994).

5.6.- Diacetoxiscirpenol, Aflatoxina B1, Diacetoxiscirpenol + Aflatoxina B1

5.6.1.- Cerdos

De acuerdo con Harvey *et al.*, 1991, cerdos híbridos en crecimiento de 10 a 14 semanas de edad que estuvieron a consumir alimentos compuestos contaminados con 2000 ppb de DAS (contaminación individual), 2500 ppb de AFB1 (contaminación individual), 2000 ppb de DAS+2500 ppb de AFB1 (contaminación conjunta) durante 28 días, tuvieron los siguientes problemas:

Hubo una disminución del peso vivo y de la ganancia de peso vivo con todas las contaminaciones pero más acentuada con la contaminación conjunta. Con AFB1 y con AFB1+DAS, hubo un aumento del peso relativo del hígado y del bazo.

Con la AFB1, se incrementaron los niveles de algunas enzimas en el suero al igual que de la hemoglobina y disminuyó el nivel de nitrógeno ureico y la capacidad de captación del hierro.

Con DAS, disminuyó la capacidad de captación del hierro y la contaminación múltiple agravó significativamente todos los trastornos anteriormente mencionados.

5.7.- Fumonisina B1, Toxina T-2, Vomitoxina, Fumonisina B1+Toxina T-2, Fumonisina B1+Vomitoxina

5.7.1.- Pollos

Pollitos recién nacidos que consumieron piensos contaminados con, 300000 ppb de FB1 (contaminación individual), 5000 ppb de toxina T-2 (contaminación individual), 15000 ppb de DON (contaminación individual), 300000 ppb de FB1+5000 ppb de toxina T-2 (contaminación conjunta), 300000 ppb de FB1+15000 ppb de DON (contaminación conjunta), durante 19-21 días, tuvieron los siguientes problemas:

La ganancia de peso vivo se vio reducida en 18 a 20% para la contaminación individual con FB1, 18% para la de toxina T-2, 2% para la de DON, 32% para la combinación de FB1 y toxina

T-2 y 19% para la combinación de FB1 y DON. La eficacia nutricional del pienso fue afectada preferentemente por la dieta con FB1, independientemente si existían o no las otras micotoxinas (Kubena *et al.*, 1997).

La mortalidad fue de un 15% para la contaminación conjunta con FB1 y toxina T-2. Los pesos relativos del hígado y riñones al igual que los niveles de colesterol en el suero aumentaron, en especial por la dieta con FB1, independientemente de si existían o no las otras micotoxinas (Kubena *et al.*, 1997).

El incremento de los niveles de actividad de ciertas enzimas fue provocado por la dieta individual con FB1 y por las dietas con la combinación de esta micotoxina con la toxina T-2 o con DON (Kubena *et al.*, 1997).

5.8.- Vomitoxina+Zearalenona

5.8.1.- Cerdos

Asociaciones de vomitoxina + zearalenona de 1800 ppb+250 ppb; 1000 ppb+175 ppb; 60 ppb+3600 ppb; 1000 ppb+trazas, provocaron en esencial, rechazo del alimento, vómitos y heces sanguinolentas (Mirocha, 1979).

5.8.2.- Gallinas

Una dieta contaminada con 300 ppb de vomitoxina+1100 ppb de zearalenona provocó en gallinas ponedoras una disminución en la producción de huevos y lesiones en la boca y en el buche. Sin embargo y como era difícil comprender ese aparente sinergismo visto que contaminaciones individuales de ese orden y mucho mayores (como antes hemos visto para vomitoxina y zearalenona en gallinas) no dan los problemas mencionados anteriormente, se sospechó que quizás otras micotoxinas de *Fusarium* estaban presentes junto con las micotoxinas anteriormente indicadas (Leeson *et al.*, 1995).

5.9.- Fumonisina B1, Aflatoxina B1, Fumonisina B1+Aflatoxina B1

5.9.1.- Pavos

Según Weibking, 1994, en pavos de 1 día de vida que estuvieron a consumir alimentos compuestos contaminados con 75000 ppb de FB1 (contaminación individual), 200 ppb de AFB1 (contaminación individual), 75000 ppb de FB1+200 ppb de AFB1 (contaminación conjunta) durante 21 días, la ganancia de peso vivo se vio reducida por la dieta solo con AFB1 y por la dieta con la combinación de FB1 y AFB1 al igual y de la misma forma el índice de conversión empeoró significativamente.

La dieta solo FB1 provocó un incremento del peso relativo del hígado mientras que la dieta solo con AFB1 o en combinación con la FB1, incrementó el peso del bazo.

La dieta solo con AFB1 y la que combina las dos micotoxinas, provocó una disminución de los

niveles de albúmina, proteína total y colesterol en el suero.

La relación esfingarina/esfingosina en el suero fue incrementada por la dieta solo con FB1 y por la dieta con la combinación de las dos micotoxinas (Weibking, 1994)

5.10.-FumonisinaB1,Diacetoxiscirpenol,OcratoxinaA,FumonisinaB1+Diacetoxiscirpenol, Fumonisina B1+ Ocratoxina A

5.10.1.- Pavos

De acuerdo con Kubena, 1997a, en pavos Nicholas Large White hembras recién nacidos que estuvieron a comer alimentos compuestos contaminados con 300000 ppb de FB1 (contaminación individual), 4000 ppb de DAS (contaminación individual), 3000 ppb de OTA (contaminación individual), 300000 ppb de FB1+4000 ppb de DAS (contaminación conjunta), 300000 ppb de FB1+3000 ppb de ocratoxina A (contaminación conjunta) durante 3 semanas, se produjeron los siguientes problemas:

La reducción de la ganancia de peso vivo fue de un 30% y 24% para la dieta con solo FB1, 30% para la dieta con DAS, 8% para la dieta con OTA, 46% para la dieta con FB1+DAS y 37% para la dieta con FB1+OTA.

La eficacia nutricional del pienso fue afectada por todas las dietas contaminadas excepto para la dieta con solo FB1 que provocó una reducción del 24% en la ganancia de peso vivo.

El peso relativo del hígado aumentó significativamente por todas las dietas contaminadas, excepto por la que solo tenía DAS.

La concentración de colesterol en el suero disminuyó y las actividades de algunos enzimas aumentaron con la dieta que solo tenía FB1 y con las que tenían la combinación de FB1+ DAS y FB1+OTA, así como algunos valores hematológicos estuvieron alterados (Kubena, 1997a).



MICOTOXINAS Y MICOTOXICOSIS MÁS SIGNIFICATIVAS EN HUMANOS



6.- MICOTOXINAS Y MICOTOXICOSIS MÁS SIGNIFICATIVAS EN HUMANOS

La contaminación de los géneros alimenticios con micotoxinas puede ser de una forma indirecta a través de los residuos de éstas en la carne, los huevos y la leche como consecuencia del consumo por parte del animal de alimentos compuestos contaminados, o bien una contaminación directa de los géneros alimenticios (cereales, productos de cereales, frutos secos, frutas, y otros) por la contaminación de éstos con mohos toxicogénicos que podrán producir micotoxinas.

Los principales factores que tienen influencia sobre la toxicidad de las micotoxinas (agravándola o disminuyéndola) en los humanos son: La biodisponibilidad y toxicidad de la micotoxinas; Los sinergismos entre ellas; La cantidad de micotoxina ingerida diariamente en función de la concentración de micotoxina y de la cantidad de alimento ingerido; La continuidad o intermitencia de ingestión del alimento contaminado; El peso del individuo y el estado fisiológico y de salud de éste; La edad del individuo.

Así pues, los niños y los jóvenes son más susceptibles a la toxicidad de las micotoxinas debido a una mayor variación del metabolismo basal, ellos pueden no tener suficientes mecanismos bioquímicos para la detoxificación. En los niños el cerebro continúa su desarrollo durante muchos años después del nacimiento y esto puede causar una mayor susceptibilidad a las micotoxinas que afecten al sistema nervioso central (Kuiper-Goodman, 1994).

La conjugación de todos los factores antes mencionados y que tienen influencia sobre la toxicidad de las micotoxinas hace que el análisis de riesgo respecto a los problemas de salud en humanos, (hepatotóxicos, nefrotóxicos, neurotóxicos, gastroentéricos, cancerígenos e inmunosupresivos) que pueden ser causados por la ingestión de esos metabolitos tóxicos, sea complejo y la mayor parte de las veces difícil de entender y correlacionar (Smith *et al.*, 1994). Por otro lado, la situación es aun más complicada ya que en la interpretación de los datos epidemiológicos que pueden estar relacionados con una micotoxina, debemos también tener en cuenta la posible influencia de otros factores de riesgo como, el estado nutricional del individuo, las infecciones endémicas y la ingestión de otras sustancias tóxicas (Kuiper-Goodman, 1994).

Los estudios de toxicidad de las micotoxinas en humanos son normalmente realizados en animales de laboratorio. Para una evaluación completa es necesario los datos de toxicidad aguda, toxicidad a los 30-90 días del ensayo, cambios metabólicos, efectos reproductivos, teratogenicidad, mutagenicidad y toxicidad crónica o carcinogénica. Con los datos obtenidos se hacen interpolaciones y se establecen unos parámetros de los que citaremos los que se van a utilizar en este artículo, a saber: NOAEL (no observed adverse effect levels), es la estimación del nivel de micotoxina con el que no se observan efectos adversos.

La TD50, es la dosis de micotoxina con la cual el 50% de los individuos pueden desarrollar tumores malignos, estableciéndose así una estimación del potencial cancerígeno. NEL (no effect level) es la estimación del nivel de micotoxina que no causa efecto y LOAEL (lowest

observed adverse effect level) es el nivel de micotoxina con el cual se observan los efectos adversos mas bajos.

Finalmente existe un parámetro comúnmente utilizado que es la TDI (tolerable daily intake), o sea, la ingesta de micotoxina diaria que puede ser tolerada. Todos los parámetros anteriores vendrán expresados en microgramos de micotoxina/kg de peso corporal (p.c.)/ día, o bien, con respecto a la TDI, puede venir expresado en algunos casos en nanogramos (ng) de micotoxina/kg de peso corporal (p.c.) /día. Normalmente el valor de TDI se suele obtener dividiendo el valor de NOAEL o el valor de NEL por un factor de seguridad que puede oscilar entre 50 y 50000 o bien haciendo lo mismo pero con el valor de TD50, todo esto depende del método de extrapolación utilizado, siendo este último más utilizado en las micotoxinas carcinogénicas. La TDI viene acompañada de un factor de riesgo que normalmente es 1/100000 (Kuiper-Goodman, 1990; Kuiper-Goodman, 1994). Cuando el valor de TDI está aún en estudio y por lo tanto es provisional se utiliza la denominación PTDI (provisional tolerable daily intake).

En este manual trataremos específicamente de las micotoxinas Aflatoxina B1 (AFB1), Aflatoxina M1 (AFM1), Ocratoxina A (OTA), Fumonisina B1 (FB1), Vomitoxina o Deoxinivalenol (DON) y Patulina por ser estas unas de las que más comúnmente pueden afectar a la seguridad alimentar y en términos relativos (a depender de la micotoxina), a la salud publica (Kuiper-Goodman,1990; Kuiper-Goodman,1994; JECFA, 2001; WHO, 2002; CAST, 2003).

Casi todas ellas son inmunosupresivas ya que inhiben la síntesis proteica e interrumpen la síntesis de ADN y ARN, inhibiendo también la fagocitosis (Sharma, 1993).

6.1.- Aflatoxinas

Recordemos que las aflatoxinas se pueden encontrar como contaminantes naturales en una variedad de géneros alimenticios tales como, cereales y productos de cereales, cacahuets, nueces, almendras, pistachos, avellanas y otros frutos secos, coco, cacao, patatas dulces, manteca de cacahuete, lentejas, plátanos, quesos, vinos, especias, leche y derivados (esencialmente la AFM1) y otros géneros alimenticios.

Las principales micotoxicosis en humanos son: hepatotoxicidad, cáncer de hígado y probablemente el "Síndrome de Rey".

6.1.1.- Relación entre la cantidad de AFB1 ingerida y la concentración de AFM1 excretada en la leche

La AFM1 (4 hidroxí-aflatoxina B1) es el metabolito hidroxilado de la AFB1, se encuentra en la leche y derivados de la leche obtenidos de ganado lechero que ingirió un alimento contaminado con AFB1. Los residuos de AFM1 en la leche se pueden ya encontrar a las 6 – 24 horas de que una vaca haya ingerido un alimento contaminado con AFB1.

En vacas lecheras la relación entre la concentración de AFB1 (ppb, microgramos/Kg) en la ración final (racionamiento y/o unifeed) y la de AFM1 (ppb, microgramos/Litro) excretada en la

leche podría ser de 300:1, sin embargo esta relación es muy aproximada ya que el rango oscila entre 34:1 a 1600:1 (Rodricks y Stoloff, 1977; Gimeno y Martins, 2000b; Gimeno y Martins, 2000c).

Con una ingestión de AFB1 correspondiente a 2-60 miligramos (mg)/vaca/día, los residuos de AFM1 en la leche cruda pueden oscilar entre 1 a 50 microgramos/Litro (Edds, 1979).

El nivel de residuos de AFM1/día (mg) en la leche cruda podría ser aproximadamente el 2,2% de la ingesta diaria de AFB1 (mg) con un CV (coeficiente de variación) entre 42 y 59%, dividiendo el resultado obtenido por el número de litros de leche producidos/vaca/día y multiplicando por 1000 nos daría la concentración (microgramos/Litro) de AFM1 en la leche cruda (Patterson *et al.*, 1980; Van Egmond, 1989).

Incluso se llega a establecer una ecuación: $y = -2,55 + 0,84x$ ($r^2 = 0,73$; $n = 43$) donde $x = \text{mg AFB1/vaca/día}$; $y = \text{microgramos AFM1/litro de leche}$ (calculando una media de 20 litros de leche/vaca/día) (Sieber y Blanc, 1978; Van Egmond, 1989). Sin embargo esta ecuación tiene error por defecto cuando la ingestión de aflatoxina B1 es baja.

La concentración de AFM1 en la leche variará según la raza de la vaca, según la concentración de AFB1 en la ración, según la cantidad y duración del consumo de alimento contaminado y según el estado de salud del animal. Sin embargo, a todo esto debemos añadir que las discordancias de correlación que pueden existir entre autores serán también debidas, entre otras cosas, al sistema metabólico de un animal poligástrico, lo que provoca que las concentraciones de AFM1 en la leche varíen entre animales, de un día para otro y de una producción de leche a la siguiente.

6.1.2.- Distribución de la AFM1 en algunos derivados lácteos

La distribución de la AFM1 en algunos alimentos elaborados con leche contaminada, es aproximadamente la siguiente: 40-60% en quesos, 10% en la nata y < 2% en la mantequilla.

Visto que la AFM1 es muy soluble en agua, no se comprende cómo la mayor parte va al queso y no al suero. La asociación de la AFM1 con la caseína, cuando ésta precipita puede ser una explicación razonable para ello (Yousef y Marth, 1989).

6.1.3.- TD50, TDI y NOAEL para AFM1 y AFB1

La AFM1 y la AFB1 tienen una TD50 de 10,38 y 1,15 microgramos/kg p.c. (peso corporal)/día, respectivamente, lo que hace suponer que la AFM1 es aproximadamente nueve veces menos carcinogénica que la AFB1. La TDI para la AFB1 esta comprendida entre 0,11 y 0,19 ng (nanogramos)/kg p.c./día, con un factor de seguridad de 5000 y un nivel de riesgo de 1/100000. Los valores de NOAEL para la AFM1 y la AFB1 son, < 2,5 y 0,75 microgramos/kg p.c./día, respectivamente (Kuiper-Goodman, 1990; Kuiper-Goodman, 1994). Si dividimos el valor de TD50 correspondiente a la AFM1 por el factor de seguridad 5000, podríamos atribuir hipotéticamente un valor de TDI para la AFM1 de 2 ng/kg p.c./día, lo que representa, aproximadamente, diez veces más de tolerancia que la AFB1 comparado con el mayor valor de

TDI para la AFB1 (Gimeno y Martins, 2003b; Gimeno y Martins, 2006).

6.1.4.- La Legislación

La Unión Europea (UE) tiene legislación (Official Journal of the European Communities, 2002a y 2002b; Official Journal of the European Union, 2003; Micotoxinas, 2003) para estas micotoxinas en géneros alimenticios para consumo humano y actualmente los niveles máximos admisibles están establecidos en 0,05 microgramos/kg (0,05 ppb) para AFM1 en leche (leche cruda, leche para la fabricación de productos lácteos y leche tratada térmicamente) y varían entre 2 a 8 ppb (microgramos/kg) para AFB1 y entre un rango de 4 a 15 ppb para AFB1+AFB2+AFG1+AFG2, dependiendo de los diferentes géneros alimenticios (cacahuets, frutos de cáscara, frutos secos y productos derivados de su transformación, cereales y productos derivados de su transformación) tanto si son utilizados para consumo humano directo o como para ingredientes de los productos alimenticios.

La legislación también incluye en estos géneros alimenticios, aquellos que son sometidos a procesos de selección o bien a otros tratamientos físicos antes del consumo humano directo o como ingredientes de productos alimenticios y tiene en cuenta que esos procesos pueden reducir la concentración original de AFB1.

Se especifica también que esas concentraciones máximas admisibles se refieren a la parte comestible, excluyendo pues la cáscara en los géneros alimenticios que la tienen. La legislación de la UE también establece niveles máximos permitidos de, 5 ppb para AFB1 y de 10 ppb para AFB1 + AFB2 + AFG1 + AFG2, en algunas especias. En el caso de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de AFB1 es de 0,10 ppb.

En el caso de preparados para lactantes, preparados de continuación (incluidas la leche para lactantes y la leche de continuación), y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de AFM1 es de 0,025 ppb (Official Journal of the European Union, 2004).

En otros países (Australia, Brasil, Holanda, Rumania, Suiza, USA) las concentraciones máximas admitidas para la AFM1 en la leche y productos lácteos varían entre 0,01 y 0,50 ppb, dependiendo del país y del alimento lácteo. Es de destacar que en Suiza y Brasil, los alimentos lácteos para niños tiene un límite de contaminación con AFM1 de 0,01 ppb y que en Australia, USA (Estados Unidos de América) y los países que forman parte de MERCOSUR (Brasil, Argentina, Paraguay y Uruguay), la concentración máxima de AFM1 permitida en la leche es de 0,50 ppb (Smith *et al.*, 1994; EHSO; FDA, 2000; CAST, 2003)

No hay legislación para la AFM1 en quesos ni mantequilla, sin embargo Holanda tiene establecido un máximo de tolerancia de 0,20 y 0,02 ppb, respectivamente. Algunos países como Austria y Suiza tienen un límite para quesos de 0,25 ppb (Smith *et al.*, 1994; EHSO; FDA, 2000;

CAST, 2003). Tal como antes hemos referido es de destacar que la norma adoptada por USA para AFM1 en la leche, lo ha sido también por algunos países de la América Latina, entre ellos los que forman parte de MERCOSUR (Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay) (Micotoxinas on line). Vemos pues que en el caso de USA y otros países, el nivel de tolerancia para AFM1 en la leche es 10 veces superior al de la UE.

Para las otras aflatoxinas y en países como Australia, Canadá, Colombia, Hungría, India, Japón, México, Cuba, Tailandia y USA también hay niveles máximos de tolerancia que oscilan entre 5 y 30 ppb para AFB1 y para la suma de las cuatro aflatoxinas, dependiendo del país y del alimento en cuestión (frutos de cáscara y productos de éstos, cacahuets, todos los géneros alimenticios), destacamos a la India con el nivel de tolerancia más alto (30 ppb para todos los géneros alimenticios) y a México y USA con el nivel de tolerancia más alto para la suma de las cuatro aflatoxinas (20 ppb en todos los géneros alimenticios) (Smith *et al.*, 1994).

6.1.3.- Frecuencia de contaminaciones con aflatoxina M₁ e ingestas

Respecto a las contaminaciones con AFM1 en géneros alimenticios encontradas en ciertos países, referiremos que desde 1995 y en algunos países de Europa (Francia, Italia, Alemania, Holanda, Portugal) los niveles oscilaban entre < 0,001 y 0,108 ppb para leche líquida comercial (media de 0,009 ppb); entre < 0,001 y 0,103 ppb para leche en polvo (media de 0,027 ppb); entre < 0,001 y 0,098 ppb para yogures (media de 0,010 ppb) y entre < 0,005-0,500 para quesos (media de 0,150 ppb). Los valores anteriores corresponden a un total de 604, 189, 134 y 311 muestras analizadas, respectivamente (Galvano *et al.*, 1998; Jonker *et al.*, 1999; COST, 2001; Galvano *et al.*, 2001; Gimeno y Martins, 2002a; Martins y Martins, 2000; Martins y Martins, 2004).

Datos correspondientes al análisis de 7573 muestras de leche durante el año 1999 y en varios países miembros de la UE dieron como resultado que todas las muestras contenían menos de 0,05 ppb de AFM1 y de la misma forma, los resultados correspondientes a 81 muestras de leche de Canadá entre 1997 y 1998 indicaron que todas las muestras contenían menos de 0,015 ppb de AFM1 (JECFA, 2001, WHO, 2002).

Otros estudios a nivel mundial indicaron que las medias de contaminación con AFM1 en la leche correspondiente a la dieta de Europa, América Latina, Extremo Oriente, Oriente Medio y África, fueron de: 0,023; 0,022; 0,36; 0,005 y 0,002 ppb, respectivamente, y que corresponden al análisis de 10778, 893, 1191, 231 y 15 muestras, respectivamente. Con estos datos y las medias del consumo de leche en estos países, la ingesta de AFM1 se estimó en: 6,8; 3,5; 12; 0,7 y 0,1 ng/persona/día, en Europa, América Latina, Extremo Oriente, Oriente Medio y África, respectivamente (JECFA, 2001, WHO, 2002).

Si consideráramos un joven de 50 kg de peso corporal esto correspondería a 0,14; 0,07;

0,24; 0,014 y 0,002 ng/kg p.c./día, en Europa, América Latina, Extremo Oriente, Oriente Medio y África, respectivamente. Todos los valores están por debajo de la TDI (2 ng/kg p.c./día) anteriormente referida.

Si consideráramos que toda la leche consumida tuviera una contaminación con AFM1 de 0,05 ppb (nivel máximo permitido en la UE) o de 0,50 ppb (nivel máximo permitido en USA y otros países), la ingesta de AFM1 en la dieta Europea sería de 15 y de 150 ng/persona/día, respectivamente (JECFA, 2001, WHO, 2002). Así pues, considerando jóvenes de 50 kg de peso, la ingesta de AFM1/kg p.c./día sería de 0,3 ng y de 3 ng para los dos niveles máximos indicados, respectivamente. El primer valor está por debajo de la TDI para AFM1 que hipotéticamente se consideró de 2 ng/kg p.c./día, no siendo lo mismo para el segundo valor.

Aplicando estos cálculos a bebés de 10 kg de peso, la ingesta sería de 1,5 y de 15 ng/kg p.c./día, para los dos niveles máximos permitidos como antes hemos referido, respectivamente. El primer valor continúa siendo inferior a la TDI mencionado no siendo así para el segundo valor.

Si hacemos los cálculos de otra forma y consideramos un niño de 20 kg p.c. que consumiera 0,50 litros de leche diarios contaminada con 0,05 ppb o con 0,50 ppb de AFM1, la ingesta de micotoxina diaria sería de 1,25 o de 12,5 ng/kg p.c./día, respectivamente. Siendo pues el primer valor inferior a la TDI ya referida, a diferencia del segundo valor que la supera significativamente. El nivel máximo permitido en USA y otros países, para AFM₁, no es aceptado en la UE (Gimeno y Martins, 2003b; Gimeno, 2004; Gimeno 2004a).

Sin embargo, debemos tener en cuenta que los valores de TDI están a depender del factor de seguridad que se aplica y que puede oscilar entre 50 y 50000 (recordemos que una de las formas de obtener la TDI cuando se trata de micotoxinas carcinogénicas, es la de dividir la TD50 por el factor de seguridad, y que depende del método o criterio de extrapolación utilizado) (Kuiper-Goodman, 1990; Kuiper-Goodman, 1994; Gimeno y Martins, 2000c; Gimeno y Martins, 2003b). Como este factor aparece como denominador, es evidente que cuanto más alto sea, más bajo será el valor de TDI y por lo tanto más riguroso y más seguro; y viceversa cuanto más bajo sea, más alto será el valor de TDI y por lo tanto menos riguroso y menos seguro.

6.1.6.- Frecuencia de contaminaciones con aflatoxina B1 e ingestas

La variación de niveles de contaminación con AFB1 encontrados últimamente en diferentes países es muy grande y esta sujeta al tipo de alimento en cuestión, al país y a la disponibilidad de los datos publicados, pudiendo oscilar entre 0,05 y 789 ppb para AFB1 y entre 0,05 y 1870 ppb para la suma de las cuatro aflatoxinas en cacahuetes, pistacho y otros frutos secos, especias y otros géneros alimenticios (COST, 2001; Martins *et al.*, 2001).

El FDA (Food and Drug Administration) estima que la ingesta de AFB1 a través de los géneros alimenticios esta en 2,73 ng/kg p.c./día en USA y de 3,5 a 22,4 ng/kg p.c./día en Tailandia y el Este de África. Niveles de 500 ppb han sido encontrados en hígado y otros tejidos de individuos de Europa y América del Norte (Smith *et al.*, 1994). Considerando el valor máximo de TDI para

AFB1 de 0,19 ng/kg p.c./día, anteriormente referido, estos valores están muy por encima de ese valor y por debajo del valor de NOAEL también referido anteriormente y que es de 750 ng/kg p.c./día (0,75 microgramos/kg p.c./día).

Si consideramos la concentración máxima más baja de AFB1 (2 ppb) permitida por la UE en géneros alimenticios tales como cereales y ciertos frutos secos y tenemos en cuenta el valor anterior de TDI de 0,19 ng/kg p.c./día, un joven de 50 kg de peso corporal podría ingerir 9,5 ng AFB1/día, por lo tanto la ingesta máxima diaria de alimento uniformemente contaminado con 2 microgramos de AFB1/kg (ppb) no podría ser superior a 5 g, aproximadamente. Sin embargo debemos considerar que estamos ha calcular todo esto con un valor de TDI que es aproximadamente, 4000 veces inferior al valor de NOAEL (Gimeno y Martins, 2003a).

6.1.7.- Micotoxicosis (aflatoxinas M1 y B1)

Aunque se presume que la AFM1 induce el cáncer de hígado en roedores por medio de un mecanismo semejante al de la AFB1, no existen estudios epidemiológicos adecuados que relacionen la dosis-respuesta entre la ingesta de AFM1, la exposición a la hepatitis vírica B o C y el cáncer de hígado. Los riesgos adicionales para la predicción del cáncer de hígado utilizando niveles de AFM1 comparativos de 0,05 ppb (nivel máximo permitido por la UE) y 0,50 ppb (nivel máximo permitido en USA y otros países) son muy pequeños.

En una población como USA y Europa Occidental donde la prevalencia de hepatitis vírica B es de 1%, la prevalencia adicional de casos de cáncer de hígado asociados con la contaminación de la leche con 0,50 ppb “versus” 0,05 ppb sería de 29 cánceres/1000 millones de individuos/año (JECFA, 2001; WHO, 2002). A todo esto, continúa el tema en debate entre la UE y los países que defienden que el límite máximo de contaminación de la leche con AFM1 sea de 0,50 ppb en lugar de 0,05 ppb (CCFAC, 1999; CCFAC, 2000; CCFAC, 2001; CODEX, 2002).

Respecto a las otras aflatoxinas esencialmente la AFB1, los problemas hepatotóxicos con significativas incidencias de cáncer de hígado se remontan al año 1971 y anteriores con aflatoxicosis agudas en la India, África y Tailandia provocadas por el consumo de géneros alimenticios, esencialmente, maíz, mandioca, arroz, cacahuets, patatas dulces y plátanos, contaminados con AFB1 en contaminaciones que podían oscilar entre 10 y 144000 ppb.

El síndrome de Reye caracterizado por una asociación anatomopatológica de un edema agudo cerebral con una degeneración grasa del hígado en niños, fue atribuido también al consumo de géneros alimenticios contaminados con AFB1, sin embargo la etiología de este síndrome es muy problemática y su relación directa con la AFB1 no está suficientemente esclarecida.

En cuanto a la aflatoxicosis crónica, muchos son los estudios efectuados esencialmente en Tailandia, China y África, llegándose a la conclusión de que se tienen suficientes evidencias como para considerar a la AFB1 como uno de los factores de riesgo responsable por los problemas carcinogénicos (Gimeno y Martins 1987; Smith *et al.*, 1994; CAST, 2003).

6.2.- Ocratoxina A (OTA)

Recordemos que la OTA se puede encontrar como contaminante natural en cereales (en especial en la cebada) y productos de cereales, semillas de cacao, legumbres, quesos, cacahuetes, granos de café crudo y tostado, carne ahumadas (jamón, tocino, embutidos), vinos, cerveza y otros géneros alimenticios.

La principal micotoxicosis en humanos es la nefrotoxicidad. Respecto a su potencial carcinogénico, no hay aún suficientes estudios ni evidencias para decir que la OTA es carcinogénica para los humanos.

6.2.1.- TDI y PTDI para Ocratoxina A

La TDI para OTA no está aún suficientemente bien establecida. Basados en estudios carcinogénicos el rango de TDI oscila entre 1,5 y 5,7 ng/kg p.c./día con unos factores de seguridad de 50000 y 5000, respectivamente y un factor de riesgo de 1/100000. El valor de TDI correspondiente a 5,7 lo obtuvieron dividiendo el valor de NEL por 5000 y el valor de TDI correspondiente a 1,5 fue obtenido dividiendo el valor de TD50 por 50000 .

Canadá propone una TDI de 4 ng/kg p.c./día a diferencia de los Países Nórdicos que la proponen de 5 ng/kg p.c./día. La FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives, proponen también valores de TDI provisionales (PTDI) entre 10 y 16 ng/kg p.c./día con un factor de seguridad de 500 y basados en estudios efectuados en cerdos con respecto a las alteraciones de la función renal.

El valor más elevado de TDI corresponde al valor de LOAEL dividido por 500. Es evidente que este rango de PTDI tan amplio y que va de 1,5 a 16 ng/kg p.c./día, esta motivado por el efecto tóxico en que se basan los estudios, los diferentes métodos de extrapolación y los diferentes factores de seguridad que se aplican.

Es necesario un mayor número de estudios al respecto. Probablemente la tendencia es la de establecer un valor de TDI igual o inferior a 5 ng/kg p.c./día basándose en los estudios carcinogénicos, sin embargo no hay aún suficientes evidencias de que la OTA sea carcinogénica para los humanos, si las hay de que lo sea para los animales (Kuiper-Goodman, 1994; JECFA, 1995; Smith *et al.*, 1994; JECFA, 2001; WHO, 2002).

6.2.2.- La legislación

La UE tiene legislación (Official Journal of the European Communities, 2002; Micotoxinas, 2003, Official Journal of the European Union, 2005) para la OTA en géneros alimenticios de consumo humano y los niveles máximos permitidos están establecidos en 5 y 3 ppb para cereales en grano sin transformar y para productos derivados de cereales, respectivamente. En estos últimos se incluyen los productos transformados a base de cereales y los cereales en grano para consumo directo. Con respecto a las uvas pasas el contenido máximo permitido está en 10 ppb.

En el caso del café tostado en grano y café tostado molido, con excepción del café soluble (café instantáneo), el nivel máximo permitido está en 5 ppb y para este último el nivel máximo es de 10 ppb.

En lo que se refiere al vino (tinto, blanco y rosado) y otras bebidas a base de vino y/o mosto de uva, este nivel máximo permitido se sitúa en 2 ppb. Se incluyen los vinos espumosos, vinos aromatizados, bebidas aromatizadas a base de vino y cócteles aromatizados de productos vitivinícolas. Se excluyen los vinos de licor y los vinos con un grado alcohólico volumétrico no inferior al 15% vol. El contenido máximo de 2 ppb se aplica a los productos procedentes de la cosecha del año 2005 en adelante.

Para el zumo de uva, ingredientes de zumo de uva en otras bebidas, incluido el néctar de fruta y el zumo de uva concentrado reconstituido, mosto de uva y mosto de uva concentrado reconstituido, destinados al consumo humano directo, se ha establecido un nivel máximo permitido de 2 microgramos/kg. Se incluyen los zumos de frutas, zumos de frutas a base de concentrado, zumos de fruta concentrados y el néctar de frutas. El contenido máximo de 2 ppb se aplica a los productos procedentes de la cosecha del año 2005 en adelante.

En el caso de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de OTA es de 0,50 ppb (referido a materia seca cuando se trata de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales) (Official Journal of the European Union, 2004).

En otros países como Hungría y Rumania los niveles máximos permitidos son de 20 y 5 ppb, respectivamente, para todos los géneros alimenticios. En Brasil se permite un máximo de 50 ppb en cereales y en Grecia un máximo de 20 ppb para cafés. En Dinamarca existen máximos permitidos para vísceras y canal de cerdo que oscilan entre 10 y 25 ppb (Smith *et al.*, 1994).

6.2.3.- Frecuencia de contaminaciones con Ocratoxina A e ingestas

La información sobre el rango de niveles de contaminación encontrados en los géneros alimenticios es muy amplia y esta a depender esencialmente del tipo de alimento, del área geográfica y de los datos publicados que están disponibles, así pues en cereales tenemos contaminaciones que van desde 10 a 2400 ppb; en cafés tostados, de 0,2 a 1,7 ppb; en granos de café crudo, de 0,4 a 23 ppb y en vinos tenemos rangos de contaminación entre 1 a 7,63 ppb, las mayores contaminaciones se encuentran en el vino tinto.

Los análisis de OTA efectuados en riñón de cerdo y en fluidos biológicos de humanos dieron rangos de contaminación que fueron de 0,1 a 240 ppb y de 0,05 a 14,4 ppb, respectivamente (Smith *et al.*, 1994; Leoni *et al.*, 2000; Otteneder y Majerus, 2000; COST, 2001; Pietri *et al.*, 2001).

La incidencia de OTA se da frecuentemente en la dieta de los países de Europa, los estudios efectuados dan una media de ingestión de OTA de 6,42 ng/kg p.c./día considerando un peso

medio corporal de 60 Kg.

Los cereales y el vino contribuyen, aproximadamente, en 3,57 y 1,43 ng OTA/kg p.c./día (55 y 22%), respectivamente. Otros géneros alimenticios como el zumo de uva y el café contribuyen en 0,29 y 0,43 ng OTA/kg p.c./día (4,51 y 6,7%), respectivamente y todo un conjunto de géneros alimenticios como los frutos secos, cerveza, té, leche, cacao, legumbres y otros contribuyen en menos de 0,14 ng OTA/kg p.c./día (2,18%). El consumo de tejidos comestibles de cerdo contribuye en 0,21 ng OTA/kg p.c./día (3,27%).

En vista de esas contribuciones, el riesgo para los individuos que consumen grandes cantidades de cereales es mayor. Estudios efectuados revelan que esos individuos pueden tener ingestiones de OTA de 13,14 ng/kg p.c./día (JECFA, 2001; WHO, 2002).

Si tenemos en cuenta los estudios efectuados en cuanto a problemas cancerígenos y tomamos el valor de TDI de 5,7 ng/kg p.c./día, la media de ingestión de OTA en la dieta Europea estaría en un 112% la TDI. Sin embargo si tomamos el criterio de alteraciones en la función renal y unos de los valores anteriores de TDI, por ejemplo, 16 ng/kg p.c./día, esta media de ingestión sería de un 40% la TDI.

A todo esto y teniendo en cuenta la concentración máxima admisible de OTA en cereales y productos de cereales establecida por la UE de 5 ppb, un individuo de 60 kg de peso tendría un límite de ingestión de OTA de 324 ng/día (TDI = 5,7 ng/kg p.c./día) o de 960 ng/día (TDI = 16 ng/Kg p.c./día) lo que representaría una ingestión máxima diaria permisible de 68,5 o de 192 g de cereal contaminado de manera uniforme con 5 ppb, respectivamente.

Sin embargo debemos tener en cuenta que estamos considerando valores de TDI que son 5000 y 500 veces más bajos que los valores de NOAEL y LOAEL, respectivamente (Gimeno y Martins, 2003a).

Si aplicáramos todo esto a los niños, los límites de ingestión serían aun más bajos, visto la rigurosidad que impone la legislación en lo que se refiere a la concentración máxima de OTA (0,50 ppb) permitida (Official Journal of the European Union, 2004).

6.2.4.- Micotoxicosis

Los primeros problemas con OTA en humanos datan del año 1956 con el apareamiento de una grave nefropatía endémica en la región de los Balcanes (Bulgaria, Rumania, Yugoslavia) atribuida al consumo de carnes ahumadas que estaban contaminadas con OTA en concentraciones comprendidas entre 10 y 920 ppb. Parece ser que la mayor fuente de contaminación fue las condiciones insalubres con falta de higiene en el almacenamiento de estas carnes ahumadas. El análisis de OTA en el suero de individuos afectados dio niveles comprendidos entre 1 a 40 ppb. Estudios epidemiológicos revelan que aproximadamente la mitad de la población de Europa está expuesta a la OTA. Sin embargo la relación directa de las nefropatías con la exposición a la OTA no está aún suficientemente esclarecida ya que en Alemania, Francia, Italia, Dinamarca, Suecia, Checoslovaquia, Polonia y Canadá han sido encontrados niveles de OTA comprendidos

entre 0,1 y 14,4 microgramos/Litro en sangre y leche materna de personas saludables. La presencia de OTA en fluidos biológicos se considera más como una evaluación indirecta de la exposición a esta micotoxina.

En algunos países de África, el 95% de los individuos que sufren de problemas de nefropatía son OTA positivos con concentraciones en sangre del orden de 90 microgramos/L y la prevalencia de ocratoxicosis se considera en un 55 a 80% superior a la de Europa (Gimeno y Martins, 1987; Smith *et al.*, 1994; CAST, 2003)

6.3.- Fumonisin (FB1, FB2, FB3)

Recordemos que las fumonisin pueden ser encontradas esencialmente en cereales y productos de cereales.

Las principales micotoxicosis en humanos son: trastornos gastrointestinales y probablemente el cáncer de esófago y de estómago.

6.3.1.- PTDI y NOAEL para Fumonisin

La PTDI (TDI provisional) para FB1, FB2 y FB3, solas o en combinación es de 2 microgramos/kg p.c./día. Este valor está obtenido dividiendo el valor de NOAEL de 200 microgramos/kg p.c./día por el factor de seguridad de 100 (JECFA, 2001; WHO, 2002).

6.3.2.- La Legislación

La UE no tiene legislación para fumonisin y el FDA aconseja niveles máximos de contaminación con fumonisin (FB1+FB2+FB3), de 2000 ppb para productos del maíz desgerminados; de 4000 ppb para productos del maíz parcialmente desgerminados, salvado de maíz y maíz limpio destinado a la producción de pastas y de 3000 ppb para maíz limpio destinado a la producción de palomitas de maíz.

En Suiza la concentración máxima admisible que fue propuesta para fumonisin (FB1+FB2) fue de 1000 ppb en productos del maíz (Zoller *et al.*, 1994; FDA, 2000a; CAST, 2003.).

6.3.3.- Frecuencia de contaminaciones con Fumonisin e ingestas

La mayor incidencia de contaminación con FB1 y FB2 ocurre en el maíz y los productos del maíz (pan de maíz extrusionado, palomitas de maíz, copos de maíz, harina de maíz, pasta de maíz, polenta y otros productos del maíz), el rango de contaminación encontrado es muy amplio y puede oscilar entre 0,15 y 7900 ppb para FB1 y entre 0,10 y 2250 ppb para FB2.

En maíces enmohecidos que fueron utilizados para la elaboración de la cerveza fueron encontrados niveles de FB1 comprendidos entre 110 y 117520 ppb (media de 53740 ppb) para FB1 y de 0 a 22960 ppb (media de 13680 ppb) para FB2 (COST, 2001, Marasas, 1995).

Los estudios estadísticos efectuados revelan que los valores medios de ingesta de FB1 a nivel internacional son: Europa, 0,2 microgramos/kg p.c./día. América Latina, 1,0 microgramos/

kg p.c./día. África, 2,4 microgramos/kg p.c./día. Oriente Medio, 1,1 microgramos/kg p.c./día. Extremo Oriente, 0,7 microgramos/kg p.c./día. Canadá, 0,02 microgramos y USA, 0,08 microgramos/kg p.c./día.

Destacamos que en el Reino Unido (UK) y Suiza la ingesta media es de 0,03 microgramos/kg p.c./día y en Holanda es de 0,06 y 1 microgramos/kg p.c./día, para el total de la población y para los consumidores regulares de maíz, respectivamente.

Si tenemos en cuenta la PTDI anteriormente mencionada para FB1 de 2 microgramos/kg p.c./día, vemos claramente que todos estos consumos medios respecto a todos estos países menos África, están por debajo de ese valor, mismo cuando la ingesta de FB1 debe ser incrementada en un 40% si tenemos en cuenta la presencia de las fumonisinas FB2 y FB3 (JECFA, 2001; WHO, 2002).

6.3.4.- Micotoxicosis

El mecanismo de acción de las fumonisinas consiste esencialmente en la inhibición de la biosíntesis de los esfingolípidos (esfinganina y esfingosina), éstos controlan la comunicación entre células.

Actualmente, no hay una evidencia directa para afirmar que las fumonisinas causen problemas de salud en los humanos. A pesar de esto los problemas de cáncer de esófago y de estómago han sido asociados al consumo frecuente de géneros alimenticios contaminados con fumonisinas, esencialmente los productos del maíz en países tales como Sudáfrica, China, Italia y a los problemas de síntomas gastrointestinales adversos como diarreas y espasmos dolorosos en la India por consumos de sorgo y maíz enmohecidos y contaminados con altos niveles de fumonisinas. Sin embargo, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) concluye que los estudios y datos cuantitativos disponibles no son significativamente conclusivos y son insuficientes para evidenciar que las fumonisinas ingeridas por vía oral sean carcinogénicas para los humanos y así pues son consideradas como “posibles carcinogénicas” (IARC, 1993; EC, 2000; FDA, 2000a; CAST, 2003).

6.4.- Vomitoxina o deoxinivalenol (DON)

Recordemos que la vomitoxina o deoxinivalenol (DON) forma parte de la familia de las micotoxinas tricotecenas.

Se puede encontrar como contaminante natural en los cereales y productos de cereales.

Las principales micotoxicosis en humanos son: trastornos gastrointestinales y reducción del crecimiento, en especial en la población infantil.

6.4.1.- TDI, PTDI, NOAEL para Vomitoxina o deoxinivalenol

La TDI para DON varía entre 0,04 y 0,375 microgramos/kg p.c./día dependiendo de la

dirección que se da a los estudios realizados en el efecto crítico de esta micotoxina. Actualmente se ha decidido establecer la TDI con respecto al efecto crítico producido en la reducción del crecimiento en ratones durante un periodo de 2 años y así se establece un valor de NOAEL de 100 microgramos/kg p.c./día que dividido por el factor de seguridad de 100 nos da una TDI provisional (PTDI) de 1 microgramo/kg p.c./día (Iverson *et al.*, 1995; EC, 1999; Pieters *et al.*, 1999).

6.4.2.- La legislación

De momento, la UE no tiene legislación para DON. En 1999 y en Holanda, propusieron límites de concentración máxima para esta micotoxina que van desde 120 ppb para trigo limpio; 60 ppb para pan y 120 ppb para géneros alimenticios con contenido de trigo superior a 33%. Para los géneros alimenticios con contenido de trigo inferior a 33% se sugiere controlar el trigo limpio utilizado como ingrediente y aplicar el criterio establecido para éste (Pieters *et al.*, 1999).

6.4.3.- Frecuencia de contaminaciones con vomitoxina (deoxinivalenol) e ingestas

La mayor incidencia de contaminación ocurre en los cereales (esencialmente trigo, maíz y cebada) y productos de cereales (pan, galletas, bizcochos, pastas, cereales de desayuno, croissant y otros). El rango de contaminación puede oscilar entre 1 a 5700 ppb para el trigo. De 3 a 3700 ppb para el maíz. De 4 a 9000 ppb para la cebada. De 4 a 760 ppb para la avena. De 6 a 5100 ppb para el arroz y de 13 a 240 ppb para el centeno.

En cereales de desayuno a base de trigo se tienen encontrado niveles de contaminación que fueron desde 103 a 6040 ppb con una media de 754 ppb (COST, 2001; Martins y Martins, 2001; JECFA, 2001; WHO, 2002).

La ingesta de DON en la dietas de África y Oriente medio se estimó en 0,77 y 2,4 microgramos/kg p.c./día, respectivamente. No tenemos datos sobre las medias de ingestión de DON en las dietas de Europa, América Latina y Extremo Oriente. Sin embargo, los consumos mayores de trigo (64 a 88% del total de la dieta) se dan en Europa, América Latina y Oriente Medio mientras que en África y Extremo Oriente hay mayor variedad de consumo de cereales, trigo, arroz y maíz, trigo y arroz, respectivamente (JECFA, 2001; WHO, 2002).

6.4.4.- La Vomitoxina o deoxinivalenol en la población infantil

En Holanda hay una gran preocupación por las ingestiones de DON, ellos consideran que los niños de 1 a 4 años (media de peso corporal = 10 Kg) de edad corren un gran riesgo con la ingestión de esta micotoxina visto que se calculan consumos de trigo del orden de 4,5 a 8,5 g/kg p.c./día. El rápido crecimiento de los niños puede ser reducido por uno de los efectos adversos del DON.

Los holandeses se basan en una dieta para niños y niñas a base de pan y productos del trigo con más de 33% de trigo. Ellos consideran que niños y niñas de 1 a 4 años de edad con un

peso medio de 10 kg pueden ingerir diariamente una media de 51 g de pan + 72 g de productos del trigo y de 46 g de pan + 46 g de productos de trigo, respectivamente. A partir de estos datos hacen la suposición de que ese pan y esos productos de trigo estuvieran contaminados uniformemente con las concentraciones de DON máximas permitidas que ellos proponen y ya mencionadas de 60 ppb para pan y de 120 ppb para esos productos de trigo. El calculo nos daría una ingesta diaria total de DON para los niños de 11,7 microgramos y de 8,3 microgramos para las niñas. Si dividimos esto por 10 (peso corporal medio de esos niños) nos dará la ingesta diaria por kg de peso corporal (Pieters *et al.*, 1999; Gimeno, 2003) y si comparamos con la TDI para DON antes referida de 1 microgramo/Kg p.c./día, llegamos a la conclusión que los niños ingerirían en estas condiciones un 117% de la TDI y las niñas un 83% de la TDI. Es evidente que a partir de esas contaminaciones y cuanto más elevadas sean, mayor será el riesgo para esos niños y niñas.

Con las concentraciones máximas permitidas de DON y que fueron propuestas por Holanda en 1999, no es de esperar que se produzcan efectos adversos en la salud de los niños ni en la de la población en general.

Esas concentraciones máximas fueron calculadas considerando que los niños estuvieran ha consumir la cantidad más alta de trigo, o sea, 8,5 g/kg p.c./día. Si asumiéramos que el consumo de trigo fuera de 4,5 g/kg p.c./día, que es la cantidad más baja, las concentraciones de DON máximas tolerables podrían ser dos veces más grandes que las anteriormente referidas.

Teniendo en cuenta que el efecto adverso consistente en el atraso del crecimiento es un efecto reversible, podríamos dar como temporalmente aceptable que esos límites de concentración de micotoxina fueran el doble de los anteriores (Pieters *et al.*, 1999). Sin embargo, esos valores son significativamente más bajos que las concentraciones máximas de DON de 2000 y 1000 ppb, establecidas en Estados Unidos de América y Canadá, respectivamente, para trigo y productos a base de trigo para consumo humano (FAO, 1997)

6.4.5.- Micotoxicosis

En Asia (entre 1961 y 1985) hubo casos agudos de trastornos gastrointestinales con náuseas, vómitos, diarrea con sangre, mareos, dolor de cabeza y fiebre que fueron relacionados con el consumo de cereales para humanos contaminados con 3000 a 93000 microgramos de DON/kg. Los síntomas aparecieron a los 5-30 minutos del consumo de los géneros alimenticios contaminados y afectaron a un total de 7818 personas, no hubo muertes.

Problemas semejantes a los expuestos anteriormente, ocurrieron en India en 1987 y afectaron a 50000 personas (150 familias), estos problemas fueron relacionados con el consumo de pan elaborado con trigo enmohecido y contaminado con 340 a 8400 microgramos de DON/kg. En los análisis fueron encontradas también otras micotoxinas tricotecenas como acetildeoxinivalenol (600 a 2400 ppb), nivalenol (30 a 100 ppb) y toxina T-2 (550 a 4000 ppb). Es evidente que esas otras micotoxinas que pueden a veces estar asociadas a DON, agravaron los problemas

anteriores (Kuiper-Goodman, 1994; JECFA, 2001).

Recordemos finalmente, los problemas antes referidos sobre la reducción del crecimiento en niños y que puede ser provocado por la vomitoxina o deoxinivalenol.

6.5.- Patulina

La patulina es una micotoxina producida por cepas toxicogénicas de varias especies de *Penicillium* principalmente el *Penicillium expansum*. Especies de *Aspergillus* y *Byssoschylamys* pueden también producir patulina. Se puede encontrar como contaminante natural en manzanas, peras, albaricoques, melocotones, uvas y otras frutas con zonas empodrecidas, zumos y compotas de fruta y quesos. El principal síndrome que provoca es el neurotóxico afectando al sistema nervioso. Puede haber también problemas hepatotóxicos y nefrotóxicos, así como carcinomas. Se han dado casos de náuseas y vómitos. Es inmunosupresiva. Sin embargo, faltan aún muchos estudios para que estos efectos adversos se puedan atribuir como riesgo para los humanos.

6.5.1.- NOAEL Y PTDI para Patulina

El valor de NOAEL para patulina se deriva de los estudios efectuados durante 109 semanas con diferentes dosis de patulina (0,0; 100; 500 y 1500 microgramos/kg p.c.) administradas a ratones machos y hembras, tres días por semana y por vía de intubación gástrica. La concentración más alta causó en ambos sexos una elevada mortalidad. Con la dosis de 100 microgramos/ kg p.c. no se notaron efectos adversos, esto corresponde a 300 microgramos/kg p.c./semana lo que da 43 microgramos de patulina/Kg p.c./día y que fue el valor de NOAEL atribuido. Si este valor se divide por 100 como factor de seguridad tenemos la TDI provisional (PTDI) = 0,43 microgramos/kg p.c./día (FDA, 2000b).

6.5.2.- La legislación

La UE tiene legislación para patulina (Official Journal of the European Union, 2003a) y los niveles de contaminación máximos permitidos varían entre 10 a 50 ppb y están circunscritos a los zumos de frutas, concentrados de zumos de frutas, compotas y otros productos derivados de la manzana, el nivel más bajo de contaminación permitido correspondiente a 10 ppb está referido a los alimentos antes indicados y que están destinados a los niños.

Algunos países como Austria, Noruega y Suiza establecen una concentración máxima de tolerancia para esta micotoxina del orden de 50 microgramos/Litro (ppb) en zumo de manzana. Otros como Polonia la establecen en 20 microgramos/Litro (Smith *et al.*, 1994).

6.5.3.- Ocurrencia de Patulina

Se han encontrado contaminaciones con patulina en zumos de fruta del orden de 2 a 60 microgramos/Litro. En concentrados de zumo de manzana las contaminaciones fueron del orden

de 460 a 1450 microgramos/Litro y en zumos de manzana fueron de 5 a 960 microgramos/Litro. En manzanas y peras enmohecidas se han llegado a encontrar contaminaciones con patulina del orden de 972 a 25760 ppb y 372 a 20634 ppb, respectivamente. Destacamos que la mayoría de esas contaminaciones en peras y manzanas iban acompañadas de la micotoxina nefrotóxica denominada citrinina, en concentraciones del orden de 11,84 a 29,44 ppb en las manzanas y de 51,6 a 139,8 ppb en las peras (COST, 2001; Martins *et al.*, 2002)

6.5.4.- Micotoxicosis

Los datos sobre la toxicidad de la patulina son escasos, no hay datos epidemiológicos y tampoco hay datos conclusivos de que esta micotoxina sea cancerígena para los humanos. Se considera que la exposición a la patulina representa más riesgo para niños de 2 a 5 años de edad con un peso corporal medio de 20 kg, por consumir una media de 350 ml de zumo de manzana/semana a diferencia del consumo medio atribuido a los adultos de 430 ml de zumo de manzana/semana con un peso corporal medio de 60 kg.

Otros estudios atribuyen consumos de 216 ml de zumo de manzana/día a niños de 1 a 2 años de edad con un peso corporal medio de 12 kg y de 200 ml/día para personas de 64 kg de peso. Considerando que el zumo de manzana estuviera contaminado uniformemente con 10 microgramos de patulina/kg (nivel máximo permitido en la UE para niños) y teniendo en cuenta los últimos datos de consumo diario de zumo de manzana, tendríamos que para los niños de 1 a 2 años de edad la ingesta de patulina sería de 0,18 microgramos/kg p.c./día (valor inferior a la PTDI) y para los adultos sería de 0,16 microgramos/kg p.c./día (valor inferior a la PTDI), si consideramos que el zumo de manzana estuviera contaminado uniformemente con 50 microgramos/kg (nivel máximo permitido en la UE para jóvenes y adultos).

Los efectos adversos gastrointestinales, inmunotóxicos y neurotóxicos producidos por esta micotoxina en las pruebas efectuadas en roedores no se han podido de momento extrapolar a los humanos. Los estudios realizados acerca de la inmunotoxicidad han sido asociados a la ingestión de cantidades de patulina que son substancialmente más elevadas que aquellas a las que normalmente están expuestas los humanos (Smith *et al.*, 1994; FDA, 2000).



RECOMENDACIONES ATENUANTES PARA ALGUNOS PROBLEMAS DE MICOTOXICOSIS



7.- RECOMENDACIONES ATENUANTES PARA ALGUNOS PROBLEMAS DE MICOTOXICOSIS

Existen unas recomendaciones generales que pueden atenuar el efecto de una micotoxicosis en los animales cuando ésta ya se está produciendo, así pues podríamos aconsejar (Gimeno, 1999; Gimeno, 2000):

a.- Aumentar los niveles de proteína y energía en la dieta al igual que los de algunas vitaminas como la riboflavina y D₃, visto que éstas ayudan al animal, en especial a las aves, a detoxificar micotoxinas tales como la AFB1. Por el contrario una deficiencia en tiamina ejerce un efecto protector contra la aflatoxicosis. La explicación que se da es que la deficiencia de esta vitamina moviliza la reserva lipídica, interfiriendo con el metabolismo hepático de las aflatoxinas (Gimeno *et al.*, 2003).

b.- Suministrar el alimento compuesto contaminado a animales adultos con excepción de los animales reproductores. La resistencia a las micotoxicosis aumenta con la edad de los animales.

c.- Usar bajos niveles de antibióticos de amplio espectro junto con vitaminas y electrolitos en el agua de bebida.

d.- Aumentar el nivel de metionina y cistina en la dieta ya que estos dos aminoácidos son los precursores del glutatión que forma dentro del animal y en el hígado, complejos conjugados con la AFB1, siendo estos complejos posteriormente eliminados por heces y orina.

e.- Mantener los animales, esencialmente las aves, a temperaturas ambientales relativamente bajas, las aves son menos resistentes a la aflatoxicosis a temperaturas elevadas.

f.-Reducir al mínimo o anular los factores que puedan o estén a producir "estrés" en los animales (cambios bruscos de temperatura y humedad, vacunación, falta de agua, ventilación inadecuada, concentraciones de amoníaco elevadas).

g.- Reformular el alimento compuesto y utilizar una concentración mas baja de la o las materias primas contaminadas.

h.- Si no se puede prescindir de la o las materias primas contaminadas, utilizar ésta o éstas en formulaciones de alimentos compuestos destinadas a especies animales menos sensibles o no sensibles a la acción de la micotoxina que contaminan la o las materias primas en cuestión.

**ESTRATEGIAS Y PRÁCTICAS A UTILIZAR
EN PREVENCIÓN, DESCONTAMINACIÓN,
DETOXIFICACIÓN E INACTIVACIÓN DE
MICOTOXINAS**



8.- ESTRATEGIAS Y PRÁCTICAS A UTILIZAR EN PREVENCIÓN, DETOXIFICACIÓN, DESCONTAMINACIÓN E INACTIVACIÓN DE MICOTOXINAS

La mejor prevención empieza en el campo donde son cultivados muchos de estos alimentos base como por ejemplo los cereales y es allí donde empieza uno de los focos de contaminación. El estudio de cereales genéticamente modificados o variedades resistentes al crecimiento y proliferación de ciertos mohos toxicogénicos y al ataque de insectos es cada vez mayor, sin embargo los otros estudios efectuados sobre los posibles efectos adversos en la salud humana con el consumo de estos cereales dificulta todas estas prevenciones al respecto.

Deben ser utilizados, fungistáticos, fungicidas e insecticidas adecuados (debiendo cuidar en estos últimos de que los niveles de residuos estén dentro de las concentraciones no nocivas y permitidas). Con ellos, no solo reduciremos la posibilidad de crecimiento fúngico y proliferación sino que también mantendremos la integridad física de los granos en lo que respecta al ataque de insectos. Estos no solo atacan el grano y lo deterioran sino que también son vectores transportadores que actúan como diseminadores de la microflora y contribuyen a la contaminación fúngica (Fig. 20 y Figs. 21). El propio metabolismo del insecto eleva el contenido de humedad o agua libre del sustrato y la rotura que provocan del pericarpio permite la infección del interior del grano. La parte interna del grano es más vulnerable que la cutícula o parte externa. Los tegumentos intactos del grano dificultan el acceso del hongo al almidón endospermico.



Fig.20.- Maíz contaminado con *Fusarium spp*, posible contaminación con Micotoxinas. (Alberto Gimeno).



Figs.21.- Maíces deteriorados por una contaminación fúngica con posible contaminación con micotoxinas. (Alberto Gimeno).

No hay que olvidar que los pájaros contribuyen significativamente para el deterioro del grano y por lo tanto se debe evitar al máximo que esto ocurra utilizando sistemas adecuados para ahuyentarlos, como son los clásicos espantapájaros.

Es evidente que el control, exigencia y rugosidad en la calidad de las materias primas en el momento de la compra y uso de éstas sin contaminación detectable para la elaboración tanto de los alimentos compuestos para animales como de los alimentos para humanos, es uno de los primeros pasos ha tener en consideración en la eliminación o reducción de las micotoxicosis.

Sin embargo otros factores como son la higiene constante y la desinfección periódica en el almacenamiento de materias primas y en las plantas de fabricación donde son elaborados los géneros alimenticios, así como el análisis para control del producto acabado, deben ser tenidos también en cuenta y puestos en práctica a fin de continuar con los objetivos de prevención de riesgos anteriormente referidos.

Es aconsejable la conservación de materias primas con niveles de humedad, máximo de 9% para algunas oleaginosas como el girasol integral y máximo de 12% para las amiláceas y la soja integral, que darían en general, actividades de agua (aw) igual o inferiores a 0,65. Con esto evitaríamos en gran manera el crecimiento y proliferación fúngica y la posible producción de micotoxinas en las materias primas almacenadas.

Se recomienda a ser posible mantener una temperatura relativamente baja en el interior de los silos de almacenamiento. El uso de sistemas de introducción forzada de aire seco y frío en estos silos, ayuda extraordinariamente a evitar las zonas de microflora y ha reducir pues la humedad y la temperatura de la masa alimentar. En general los hongos crecen y proliferan bien a una temperatura superior a 20°C y una actividad de agua (aw) superior a 0,70, que correspondería aproximadamente a una humedad o agua libre en el sustrato superior a 13,5% para amiláceas, de 12,5 y 9,5% para oleaginosas como la soja integral y el girasol integral, respectivamente.

La producción de micotoxinas se puede efectuar a una temperatura superior a 20°C y con actividades de agua (aw) a partir de 0,85, que correspondería aproximadamente a una humedad o agua libre en el sustrato superior a 17% para amiláceas, de 16 y 11,5% para oleaginosas como la soja integral y el girasol integral, respectivamente. Con actividades de agua inferiores a 0,85, la producción de micotoxinas es en general, nula o muy baja. Con respecto a la temperatura, destacamos que la zearalenona es producida, en general, a temperaturas de 10-12°C. El crecimiento de bacterias se efectúa a partir de actividades de agua (aw) de 0,90.

Es importante utilizar al manual de aplicación del sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la prevención y control de micotoxinas (Estudio FAO)

Se han estudiado métodos físicos, químicos y biológicos para la prevención, descontaminación, detoxificación o inactivación de las micotoxinas. Los estudios efectuados con algunos de ellos están aún en la fase de planta piloto o laboratorio. Otros son impracticables, o bien por su elevado costo, o por la falta de suficiente efectividad en la detoxificación o bien porque mismo siendo económicos y efectivos, éstos dejan residuos en el alimento que después por otro lado pueden ser perjudiciales a la salud.

En general, estos métodos deben ser sistemas que estén preparados para el tratamiento de grandes cantidades de alimento. Su aplicación debe ser capaz de conseguir la descontaminación, detoxificación o inactivación de concentraciones elevadas de micotoxina. En estos métodos se debe tener en cuenta que a veces la micotoxina puede estar protegida dentro del alimento por estar unida a estructuras proteicas o bien a otros constituyentes. Estos métodos deben tener en cuenta en su forma de aplicación, que la micotoxina, debido a las zonas de microflora, no está uniformemente repartida en la masa alimentaria, estos deben ser eficaces, baratos y no deben modificar significativamente los valores nutritivos del alimento, el tratamiento no debe dejar residuos que después puedan ser adversos para la salud animal y humana.

Citaremos de una forma breve los métodos que pueden ser aplicables para fines de prevención, descontaminación, detoxificación e inactivación más o menos con una significativa efectividad. Algunos de ellos son comunes tanto para la elaboración de alimentos compuestos para animales como para la elaboración de los alimentos para humanos.

8.1.- Métodos físicos

En la fabricación de alimentos compuestos para animales y tal como antes hemos mencionado, la conservación de las materias primas con un control adecuado de humedad o agua libre, no superior a 12 y 9% (para las amiláceas y soja integral y algunas oleaginosas como el girasol integral, respectivamente), actividad de agua (aw) inferior a 0,70, y temperatura del orden de 20-22°C; tratamiento de las materias primas en los silos con corrientes de aire frío y seco; los tratamientos con corrientes de anhídrido carbónico (la mayor parte de los hongos son aerobios y por lo tanto, una carencia de oxígeno condiciona el crecimiento de los mismos y la ausencia total puede llegar a producir la muerte de estos) y la limpieza y desinfección de los circuitos de fabricación; son sistemas que ayudan a evitar el crecimiento de especies de mohos toxicogénicos y la posible producción de micotoxinas. El problema se origina cuando esas materias primas ya vienen contaminadas con micotoxinas antes del almacenamiento.

Los métodos de selección de granos de cereales y los descascados y posterior separación mecánica de la cáscara y el polvo, del resto del cereal, resultan ser adecuados para una descontaminación visto que habitualmente la mayor concentración de micotoxinas ocurre en el pericarpio de los granos y en el polvo de cereal. Sistemas tales que pueden ser utilizados tanto en los alimentos para animales como para humanos.

Los tratamientos térmicos también pueden dar buenos resultados en lo que a la flora fúngica se refiere. En la fabricación de alimentos compuestos y alimentos para humanos, la granulación a temperaturas de 70-80°C y los procesos de extrusión y expandido son excelentes en esencial para conseguir una significativa reducción o eliminación de la flora fúngica, sin embargo, las micotoxinas son en general bastante resistentes a ciertas temperaturas, así pues, las aflatoxinas, ocratoxina A y fumonisinas resisten temperaturas hasta 120, 100 y 150°C, respectivamente. La patulina resiste muy bien los procesos de pasteurización y temperaturas de 100°C. La vomitoxina o deoxinivalenol es resistente a temperaturas de 150°C y más, incluso las utilizadas en la elaboración del pan, galletas y otros productos del trigo y la toxina T-2, diacetoxiscirpenol y zearalenona, resisten temperaturas de 120, 120 y 110°C, respectivamente.

En lo que se refiere a hongos, la efectividad de la detoxificación térmica esta limitado al tiempo de permanencia a determinadas temperaturas y la presión a que son realizados los tratamientos a esas temperaturas. Tiempos de permanencia mayores pueden dar detoxificaciones más efectivas pero pueden estropear el alimento y hacerlo inadecuado para el consumo.

El envasado de los alimentos compuestos granulados en condiciones de enfriamiento anterior deficientes, puede dar lugar a condensaciones de humedad indeseables dentro del saco y conducir a un crecimiento y proliferación fúngica (Fig. 22), ya que una temperatura de 70-80°C conjugada con el tiempo corto de permanencia a esa temperatura, no es suficiente para una total eliminación de la flora fúngica e incluso algunos tipos de granulados se hacen con temperaturas inferiores a 70°C



Fig.22.- Alimento compuesto con una contaminación fúngica muy elevada, posiblemente contaminado con micotoxinas. (Alberto Gimeno).

En general, el tostado o freidura a 150-200°C durante 30 minutos puede reducir la AFB1 en cacahuetes, nueces, maíz y otros géneros alimenticios en un 40 a 80% y la OTA en cafés (durante 5 minutos) en un 80 a 90%. La autoclave a 120°C durante 30 a 240 minutos, puede reducir la AFB1 en un 29 a 95% en productos tales como harina de maíz, harina de cacahuete, arroz, frutas y especias. La permanencia durante 3 horas, en autoclave a 120°C, de géneros alimenticios a base de cereales puede reducir la OTA en un 70%. El sistema de preparación de las famosas tortillas de maíz (nixtamalización) reduce la contaminación con AFB1 en un 70%. La descafeinización de los cafés reduce el contenido en OTA en un 90% (Smith *et al.*, 1994; EC, 1999; JECFA, 2001; WHO, 2002).

En la leche, hay procesos de pasteurización a 64°C durante 20 minutos, calentamientos a 64-100°C durante 15-20 minutos, calentamientos directos durante 3-4 horas y otros procesos de pasteurización y esterilización que no son efectivos en cuanto a la reducción de la concentración de AFM1. Sin embargo, hay procesos de calentamiento a 71-120°C durante 30 minutos donde se han conseguido reducciones de 12 a 35% para esta micotoxina y existen otros procesos de pasteurización, esterilización, secado Roller y Spray en donde se han conseguido reducciones de AFM1 que oscilan entre 32 a 86% Yousef y Marth, 1989).

En leche contaminada y mantenida a temperaturas del orden de 4 y -20°C durante 0, 6, 12 y 18 meses, no se observaron pérdidas significativas de la micotoxina (Josephs *et al.*, 2005).

En quesos, con calentamientos a 82-100°C durante 5 a 30 minutos no se han conseguido reducciones significativas de AFM1, a lo sumo solo de un 9% a 90°C durante 30 minutos. La AFM1 va al queso en un 40-60% del total de AFM1 de la leche. Se piensa que la precipitación de la caseína arrastra y se asocia con la AFM1 y es por eso que, a pesar de que AFM1 es muy soluble en agua y lo lógico sería ir al suero, una elevada proporción de ésta va al queso (Yousef y Marth, 1989).

Las técnicas habituales de producción de zumos de fruta llegan solo a reducir en un 20% la concentración de patulina. Sin embargo cuando se procede a la clarificación de los zumos de fruta por procesos de filtración, centrifugación y tratamiento con enzimas, las reducciones de contaminación pueden ser del orden de 70 a 77% si bien la mayor concentración de patulina puede pasar a la pulpa (Martins *et al.*, 2002).

Es evidente que el cuidado en eliminar la parte enmohecida de las frutas antes de proceder a la fabricación de los zumos es una excelente práctica que previene la posterior contaminación del producto elaborado.

8.2.- Métodos químicos

Dentro de los métodos químicos de detoxificación se destacan los que consisten en la degradación de las aflatoxinas, algunos de ellos tales como: el tratamiento con amoníaco y el tratamiento con la combinación de hidróxido de calcio y monometilamina. Con ellos se

pueden conseguir en algunas materias primas (harinas y tortas de cacahuete, algodón y semillas de oleaginosas), reducciones de las aflatoxinas en un 98% por la transformación de éstas en metabolitos no tóxicos (aflatoxinas B2a y G2a). Se ha puesto en causa que el tratamiento con amoniaco provoca un 15 a 30% de reducción del aminoácido cisteína en la materia prima tratada. En el tratamiento del maíz se produjo una decoloración y los residuos de amoniaco dejaron olores remanentes indeseables en el cereal. El segundo tratamiento con hidróxido de calcio y monometilamina no disminuyó significativamente la digestibilidad de las proteínas ni la utilización proteica neta ni interfirió con los caracteres organolépticos de la materia prima (Giddey, 1977; Jemmali, 1983; CAST, 2003).

Hirviendo los granos de maíz con una solución acuosa de hidróxido de calcio, enfriando y efectuando sucesivos lavados para remover el pericarpio y el exceso de hidróxido de calcio, se pueden conseguir significativas reducciones de contaminación de las fumonisinas por conversión de estas en sus formas hidrolizadas. Estos granos lavados son utilizados para elaborar géneros alimenticios tales como las tortillas de maíz y otros productos del maíz, aunque se pone en causa que los productos resultantes de la transformación sean también tóxicos. Sin embargo, se consiguen reducciones de AFB1 del orden de un 70%. (FDA, 2000; JECFA, 2001; WHO, 2002).

8.3.- Utilización de fungistáticos

El uso de fungistáticos como inhibidores del metabolismo, crecimiento y proliferación de los hongos (mohos + levaduras) esta ha ser utilizado desde hace ya muchos años y se aplica a los alimentos para animales y humanos. Los hongos para crecer y proliferar necesitan sintetizar una serie de enzimas, éstas biodegradan el sustrato y el resultado de esta biodegradación es el alimento del que se nutren los hongos. Un fungistático o mezcla de ellos actúa inhibiendo la síntesis de varios enzimas a nivel de célula fúngica y por tanto el metabolismo del hongo, evitando así su crecimiento y proliferación. Algunos fungistáticos modifican el pH intracelular interfiriendo en el metabolismo fúngico, alteran la permeabilidad de la membrana celular y dificultan e incluso inhiben el transporte del sustrato biotransformado, inhiben también la oxidación del NADH (Nicotinamida Adenina Dinucleótido) que es una coenzima importante en el metabolismo fúngico. Consecuentemente el riesgo de contaminación con micotoxinas se vera reducido o anulado. Sin embargo, si las micotoxinas ya están contaminando el alimento, el fungistático no actuara sobre estas.

Los fungistáticos más comunes utilizados en alimentación animal son: ácido propiónico y sus sales cálcica y sódica, propionato de amonio, ácido sórbico y su sal potásica, ácido fórmico y sus sales cálcica y sódica. En la alimentación humana son utilizados: las sales cálcica y sódica del ácido propiónico y muy comúnmente el ácido sórbico y su sal potásica en géneros alimenticios tales como quesos, productos del trigo, tartas y pasteles, frutos secos, margarinas, mayonesa, mermeladas y jaleas, vinos, zumos de fruta y otros.

Los fungistáticos anteriormente mencionados son a veces mal llamados, "fungicidas", un fungicida actúa destruyendo la membrana celular fúngica y matando al hongo, este es el caso del formaldehído, de los pesticidas, herbicidas y otros. Los fungicidas no son utilizados ni están autorizados para ser utilizados en los productos alimenticios directamente, tanto en los animales como en los humanos visto que sus efectos tóxicos y agresivos pueden causar serios efectos adversos en la salud animal y humana.

Es de resaltar que el uso indebido de fungistáticos en concentraciones sub-inhibitorias puede en algunos casos ocasionar que éstos sean metabolizados por algunas especies de mohos toxicogénicos favoreciendo la producción de micotoxinas (Smith *et al.*, 1994).

8.4.- Utilización de aditivos adsorbentes de micotoxinas y enzimas biotransformadoras

Actualmente hay un gran interés para el control de las micotoxinas, el uso de aditivos adsorbentes de éstas como son los aluminosilicatos de calcio y sodio hidratados (HSCAS) que forman parte de la familia de las arcillas filosilicatos y el uso de los glucomananos esterificados, incorporados ambos al alimento compuesto para animales. Respecto a las arcillas hay otras que también son utilizadas como adsorbentes. El fenómeno de quimi-adsorción se efectúa dentro del organismo animal y tiende a formar con la micotoxina, compuestos inertes, estables e irreversibles que son eliminados por las heces. Algunos de estos productos tienen un espectro de acción y eficacia de adsorción muy limitada, incluso hay algunos con los que se corre el riesgo de absorber nutrientes. Existen actualmente filosilicatos modificados y purificados que parece ser que tienen una buena eficacia adsorbente dentro de un mayor espectro de acción. Es muy importante que el filosilicato tenga un poder de desorción lo más bajo posible, de preferencia, nulo.

Está también muy difundido el uso de enzimas biotransformadoras de micotoxinas. Estas enzimas son incorporadas al alimento compuesto y dentro del animal tienden a biotransformar la micotoxina en compuestos derivados que después son eliminados por la orina y las heces. Estos compuestos pueden ser en algunos casos menos tóxicos o no tóxicos respecto a la micotoxina original, sin embargo, esto no es exactamente así para algunas micotoxinas incluso en las reacciones intermedias de biotransformación se pueden formar compuestos igual o más tóxicos que la micotoxina original.

El uso de estos aditivos en humanos es importante de una forma indirecta a través del animal, o sea, su incorporación en alimentos compuestos para vacas lecheras puede conseguir que con la detoxificación de la aflatoxina B1, el riesgo de que la vaca transforme la AFB1 en AFM1 (en el hígado) sea bajo o prácticamente nulo. Si la detoxificación es efectiva para otras micotoxinas esto impedirá la deposición de residuos tóxicos de éstas en los diferentes tejidos comestibles.

8.5.- Métodos biológicos

Dentro de los métodos biológicos para la inactivación de micotoxinas, se han efectuado

estudios y pruebas para el estudio de microorganismos (*Sacharomices cerevisiae*, *Flavobacterium aurantiacum*, *Rhizopus*, spp, *Neurospora sitophila* y microorganismos del rumen) que degraden en determinadas condiciones ciertas micotoxinas. A nivel laboratorial se han obtenido resultados efectivos en la degradación de las micotoxinas aflatoxinas, patulina, ocratoxina A, zearalenona, toxina T-2, diacetoxiscirpenol y rubratoxina A, sin embargo la aplicación práctica de estos sistemas está aun en proceso de estudio y desarrollo (Smith *et al.*, 1994).

8.6.- En la elaboración de ensilados

Finalmente queremos destacar los cuidados que hay que tener en la elaboración de los ensilados para la alimentación de las vacas lecheras. En el caso de éstos, los valores de humedad o agua libre y consecuentemente de actividad de agua (aw) son y deben ser de una forma natural substancialmente elevados y por lo tanto ideales para el crecimiento de hongos y la posible formación de micotoxinas. Recordemos que lo que es un factor constante y totalmente indispensable para el crecimiento del hongo y la posible producción de micotoxinas, es el oxígeno o mejor dicho la relación "redox" (oxígeno/anhídrido carbónico) ya que tal como dijimos anteriormente, la mayor parte de los hongos son aerobios. Por este motivo, es de vital y decisiva importancia asegurar en la elaboración de los ensilados una atmósfera completamente anaerobia.

Daremos pues unas recomendaciones practicas para la elaboración de los ensilados y consecuentemente evitar la contaminación de los mismos con hongos y micotoxinas (Gotlieb, 2002)

1. Que el cereal o la materia prima ha ensilar sea resistente al ataque de los insectos y a las enfermedades de plantas que causan problemas de podredumbre en la espiga y tallo.
2. Cosechar el cereal y ensilar con la madurez y nivel de agua libre (humedad) adecuado para el sistema de almacenamiento del que se dispone. No dejar el cereal en el campo después de completar el periodo de madurez.
3. Cortar los tallos de una forma homogénea y afilada y que éstos tengan la correcta longitud para un buen empacado.
4. No retardar la cosecha del forraje y empacar de una forma compacta dejando la menor cámara de aire posible.
5. Incorporar al ensilado aditivos acidificantes y mezclas fungistáticas, para incrementar el proceso de fermentación y asegurar un mejor y más seguro almacenamiento.
6. Asegurarse de que el silo esta bien cerrado de forma a conseguir una atmósfera anaerobia. Cubrir el forraje con plásticos y colocar pesos encima, el uso de neumáticos es práctico y da buenos resultados.
7. Eliminar las partes del forraje que estén estropeadas.
8. Cuando llueve procurar que no entre agua en el interior de los silos.
9. Retirar los restos de forraje remanentes en los comederos y limpiar estos antes de colocar nuevo alimento.



**DISPONIBILIDAD DE MÉTODOS DE ANÁLISIS
DE MICOTOXINAS. LA ZEARELENONA Y LA
VOMITOXINA COMO BIOMARCADORES.**

DEOXINIVALENOL Y ZEARELENONA GLUCOSIDOS.

9.- DISPONIBILIDAD DE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE MICOTOXINAS. LA ZEARALENONA Y LA VOMITOXINA COMO BIOMARCADORES.

De entre los diferentes métodos de análisis de micotoxinas de que hoy día se dispone, tenemos los que se basan en la cromatografía en capa fina (TLC), la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) previo uso de las columnas de inmunoafinidad con anticuerpos monoclonales específicos de la micotoxina que se va a analizar o bien sin el uso de estas columnas, la cromatografía de gases-espectrometría de masas y los métodos que se basan en ELISA (enzyme-linked immunoabsorbent assay). Queremos destacar que en estos últimos y cuando los resultados son positivos, es aconsejable reconfirmar por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) o por cromatografía de gases-espectrometría de masas. Todo esto es debido a la posibilidad de obtener falsos positivos, esencialmente en los piensos, como consecuencia de los anticuerpos policlonales contenidos en el kit de ELISA. Con el kit de ELISA también se corre el riesgo de obtener concentraciones de micotoxina más elevadas que las que en realidad existen.

A pesar de que los métodos de análisis basados en ELISA han mejorado mucho, ellos continúan a ser técnicas de “screening”, y no son técnicas analíticas finales.

Los mejores métodos para el análisis de las micotoxinas tricotecenas son aquellos que se basan en la cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Es de vital importancia que la muestra de alimento para analizar sea representativa de la masa alimentar a la que corresponde, para ello hay que seguir las normas oficiales de muestreo que están publicadas en el Diario Oficial de la Unión Europea, 2006. Cuanto más lejos se este de esa representatividad más riesgo se corre de que los resultados de análisis obtenidos puedan dar conclusiones erradas al respecto del caso en cuestión.

Como hemos visto, la zearalenona y la vomitoxina o deoxinivalenol no tienen importancia significativa en la avicultura, con excepción de la vomitoxina en gallinas y los posibles sinergismos por la presencia de estas dos micotoxinas. Sin embargo, es importante analizarlas en el pienso de pollos y la zearalenona en el pienso de gallinas, ya que nos pueden servir de biomarcadores que nos indiquen que su presencia pueda implicar que existan otras micotoxinas de *Fusarium* como la toxina T-2 y el diacetoxiscirpenol, las cuales tengamos también que analizar.

10.- DEOXINIVALENOL Y ZEARALENONA GLUCOSIDOS

Con la glucosa del alimento, DON y ZEN forman complejos conjugados en el propio alimento, DON y ZEN glucósidos. Durante la digestión del alimento esos complejos se desdoblan (por hidrólisis) y se libera DON y ZEN originales. El problema de micotoxicosis se puede producir, sin embargo, los análisis de DON y ZEN en el alimento compuesto dan negativos porque las micotoxinas están en forma de complejos conjugados y no en su forma original que es tal como se analizan.

Así pues, habría que analizar también DON y ZEN glucósidos (llamados vulgarmente micotoxinas enmascaradas) y en realidad, si en el método de análisis aplicamos una hidrólisis adecuada, estos glucósidos volverán a las micotoxinas originales, dándonos así el valor correcto del contenido de estas micotoxinas (Gareis *et al.*, 1990; Berthiller *et al.*, 2005; Berthiller *et al.*, 2006) .



COMENTARIOS, INFORMACIÓN Y CONSIDERACIONES.



11.- COMENTARIOS, INFORMACIÓN Y CONSIDERACIONES

Respecto a la aflatoxina B₁, vemos que todas las especies animales citadas son sensibles a la acción tóxica de esta micotoxina en especial los animales jóvenes, sin embargo y tal como anteriormente se cita, es de destacar que los pollos de una cierta edad tienen una gran resistencia a los problemas de aflatoxicosis. Destacamos también, que los conejos son muy sensibles a la acción tóxica de la aflatoxina B₁ visto que concentraciones tan bajas como 15 ppb ya pueden provocar trastornos.

La Legislación de la Unión Europea (UE) (Official Journal of the European Union, 2003b) establece las siguientes concentraciones máximas permitidas de aflatoxina B₁ en alimentos compuestos y materias primas con un valor de humedad o agua libre del 12%, a saber:

- a.- Alimentos completos para bovinos, ovinos y caprinos (excepto los destinados a ganado bovino lechero, terneros y borregos), 20 ppb.**
- b.- Ganado bovino lechero, 5 ppb.**
- c.- Terneros y borregos, 10 ppb.**
- d.- Alimentos completos para cerdos y aves de corral (excepto los destinados a animales jóvenes), 20 ppb.**
- e.- Otros alimentos completos, 10 ppb** (aquí se incluyen las aves de corral, cerdos jóvenes y conejos)
- f.- Alimentos complementares para bovinos, ovinos y caprinos (excepto los destinados a terneros y borregos y ganado bovino lechero), 20 ppb.**
- g.- Alimentos complementares para cerdos y aves de corral (excepto los destinados a animales jóvenes), 20 ppb.**
- h.- Otros alimentos complementares, 5 ppb**
- i.- Todas las materias primas, 20 ppb.**

Esta gran rigurosidad en el ganado bovino lechero se debe principalmente a las normas legislativas establecidas en lo que se refiere a la concentración máxima permitida de residuos de aflatoxina M₁ en la leche destinada a consumo humano y que tal como fue referido anteriormente, es de 0,05 ppb para leche cruda, leche para la elaboración de productos lácteos y leche tratada por el calor (Official Journal of the European Communities, 2002a; Official Journal of the European Communities, 2002b; Official Journal of the European Union, 2003; Micotoxinas, 2003) y en el caso de los niños de 0,025 ppb (Official Journal of the European Union, 2004)

Dejando el criterio de la Legislación Comunitaria o Unión Europea y a nivel de la práctica y observaciones de campo, se pueden establecer las siguientes concentraciones máximas

tolerables para aflatoxina B1 en el alimento compuesto destinado a las siguientes especies animales, a saber (Gimeno, 2009a):

Tabla 1.- Concentraciones máximas tolerables (ppb, microgramos/kg) para aflatoxina B1 en el alimento completo y en diferentes especies animales.

Animales	ppb
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	10
Aves adultas (pollos, patos, pavos)	20
Gallinas ponedoras y reproductoras	20
Cerdos jóvenes (< 34 kg peso vivo)	20
Cerdos adultos (34-57 kg peso vivo)	50
Cerdos adultos (> 57 kg peso vivo)	100
Cerdas	25
Verracos	25
Terneros, Corderos, Cabritos	10
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos no lecheros	25
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos lecheros	5-25
Caballos adultos no reproductores	50
Conejos gazapos	10
Conejos adultos	10
Conejas	10

Existen artículos publicados donde se indica que dietas contaminadas con 2500 y 5000 ppb de AFB1 fueron dadas a pollos de 23 días de edad durante 32 días. Parece ser que no se observaron mayores problemas que los de un hígado ligeramente friable y una reducción de la concentración de calcio en el suero; las lesiones histológicas fueron una vacuolización de los hepatocitos y una infiltración grasa. Con la edad, los pollos son extraordinariamente más resistentes a la acción tóxica de las aflatoxinas (Fernandez *et al*, 1994; Lanza *et al*, 1980).

En lo que respecta a la toxicidad de la aflatoxina B1, se podría también establecer para los bovinos, ovinos y caprinos lecheros una concentración máxima tolerable de 25 microgramos/Kg. Sin embargo y como consecuencia de que la aflatoxina B1 se transforma dentro del animal en aflatoxina M1 y esta última va a la leche, la concentración máxima tolerable para aflatoxina B1 en esos animales debe ser más rigurosa, concretamente 5 microgramos/kg (ppb), a fin de que la concentración de aflatoxina M1 en la leche no represente riesgo para los humanos consumidores de ese alimento (Gimeno, 2005).

Con respecto a la ocratoxina A, los pollos, gallinas, patos, pavos y cerdos son bastante sensibles a la acción tóxica de esta micotoxina, no ocurriendo lo mismo en vacas lecheras y conejos. Como antes hemos referido y en lo que respecta a las vacas lecheras, la acción detoxificante del fluido ruminal puede ser la principal causa de esta falta de sensibilidad. Sin

embargo y teniendo presente que el tipo de alimentación tiene una gran influencia en una mejor o peor detoxificación, tal como se explicó anteriormente, no tenemos datos de cuales serían los niveles de ocratoxina A y los efectos tóxicos que produciría en vacas lecheras, en el caso de que una alimentación inadecuada retardara o anulara el efecto detoxificante del fluido ruminal.

De momento no existe Legislación Comunitaria que establezca unas concentraciones máximas permitidas de ocratoxina A en productos destinados a la alimentación animal, sin embargo, la Recomendación de la Comisión (UE) del 17 de Agosto de 2006 (Official Journal of the European Union, 2006), publicó en el Diario Oficial de la Unión Europea unas concentraciones máximas orientativas de contaminación con ocratoxina A en productos destinados a la alimentación animal con un contenido de humedad o agua libre del 12%. Estos valores orientativos son los siguientes:

a.- En los cereales y productos a base de cereales (los forrajes y forrajes groseros de cereal están también incluidos), **250 ppb**.

b.- En piensos complementarios y completos para cerdos y aves de corral, **50 y 100 ppb**, respectivamente.

Dejando el criterio de la Unión Europea y a nivel de la práctica y observaciones de campo, se pueden establecer las siguientes concentraciones máximas tolerables para ocratoxina A en el alimento compuesto destinado a las siguientes especies animales, a saber (Gimeno, 2009a):

Tabla 2.- Concentraciones máximas tolerables (ppb, microgramos/kg) para ocratoxina A en el alimento completo y en diferentes especies animales.

Animales	ppb
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	50
Aves adultas (pollos, patos, pavos)	100
Gallinas ponedoras y reproductoras	100
Cerdos jóvenes (< 34 kg peso vivo)	50
Cerdos adultos (34-57 kg peso vivo)	50
Cerdos adultos(> 57 kg peso vivo)	50
Cerdas	50
Verracos	50
Terneros, Corderos, Cabritos	-
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos no lecheros	-
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos lecheros	-
Caballos adultos no reproductores	-
Conejos gazapos	2500
Conejos adultos	5000
Conejas	5000

Respecto a la zearalenona y con los datos anteriormente expuestos, podríamos concluir que los pollos y las gallinas son muy resistentes a la acción de la zearalenona. No siendo lo mismo cuando nos referimos a cerdos, vacas lecheras y conejos.

De momento, tampoco tenemos Legislación para zearalenona, sin embargo y al igual que anteriormente, existen publicados unos valores máximos de contaminación orientativos en productos destinados a la alimentación animal con una humedad o agua libre de 12% (Official Journal of the European Union, 2006), así pues:

a.- En cereales y productos a base de cereales (los forrajes y forrajes groseros de cereal están también incluidos) excepto los subproductos de maíz, **2000 ppb.**

b.- En subproductos de maíz, **3000 ppb.**

c.- En piensos complementarios y completos para lechones y cerdas nulíparas, **100 ppb.**

d.- En piensos complementarios y completos para cerdas y cerdos de engorde, **250 ppb.**

e.- En piensos complementarios y completos para terneros, ganado lechero, ovejas (incluidos los corderos) y cabras (incluidos los cabritos), **500 ppb.**

Dejando el criterio de la Unión Europea y a nivel de la práctica y observaciones de campo, se pueden establecer las siguientes concentraciones máximas tolerables para zearalenona en el alimento compuesto destinado a las siguientes especies animales, a saber (Gimeno, 2009a):

Tabla 3.- Concentraciones máximas tolerables (ppb, microgramos/kg) para zearalenona en el alimento completo y en diferentes especies animales.

Animales	ppb
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	30000
Aves adultas (pollos, patos, pavos)	40000
Gallinas ponedoras y reproductoras	30000
Cerdos jóvenes (< 34 kg peso vivo)	100
Cerdos adultos (34-57 kg peso vivo)	200
Cerdos adultos(> 57 kg peso vivo)	200
Cerdas	50
Verracos	50
Terneros, Corderos, Cabritos	250
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos no lecheros	250
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos lecheros	250
Caballos adultos no reproductores	100
Conejos gazapos	100
Conejos adultos	100
Conejas	100

En lo que se refiere a la fumonisina B1, las concentraciones de esta micotoxina en el alimento compuesto que pueden provocar problemas en los animales mencionados anteriormente, son más elevadas en vacas lecheras, pollos, gallinas, patos y pavos que en lo que respecta a conejos y cerdos. Así pues, podríamos decir que los cerdos y conejos son más sensibles a la acción tóxica de la fumonisina B1 que los otros animales antes mencionados, siendo las vacas lecheras, patos y pavos los que tienen menor sensibilidad.

De momento, solo disponemos de unos valores máximos de contaminación orientativos para la suma de las fumonisinas B1 y B2 publicados en el Diario Oficial de la Unión Europea (Official Journal of the European Union, 2006), en productos destinados a la alimentación animal con un 12% de humedad o agua libre son los siguientes:

a.- En maíz y productos a base de maíz (están incluidos los forrajes y forrajes groseros de maíz), 60000 ppb.

En piensos complementarios y completos para:

b.- Cerdos, caballos (équidos), conejos y animales de compañía, 5000 ppb.

c.- Peces, 10000 ppb.

d.- Aves de corral, terneros (menores de 4 meses), corderos y cabritos, 20000 ppb.

e.- Rumiantes mayores de 4 meses y visones, 50000 ppb.

Hubo un caso en donde una concentración de fumonisina B1 en alimento completo tan baja como 100 ppb durante 8 semanas, provocó en cerdos machos una significativa desigualdad de crecimiento durante las 5 primeras semanas, incluso el consumo de pienso fue un poco más alto que el del grupo control durante las 4 primeras semanas pero después disminuyó en un 6-7% cada semana. Con 1000 ppb hubo una disminución de la ganancia de peso vivo de un 8%. Los autores indican que los cerdos machos son más sensibles a la fumonisina B1 que las cerdas (Rotter *et al.*, 1996).

Normalmente, los estudios sobre la toxicidad de las fumonisinas se centran en la concentración de FB1, sin embargo, hay que tener en cuenta que la presencia de la FB2 junto con la FB1 es muy frecuente, y que la concentración de contaminación con FB2 representa de un 15 a un 35% de la concentración de FB1 (Hascheck *et al.*, 2001).

Dejando el criterio de la Unión Europea y a nivel de la práctica y observaciones de campo, se pueden establecer las siguientes concentraciones máximas tolerables para fumonisina B1 en el alimento compuesto destinado a las siguientes especies animales, a saber (Gimeno, 2009a):

Tabla 4.- Concentraciones máximas tolerables (ppb, microgramos/kg) para fumonisina B1 en el alimento completo y en diferentes especies animales.

Animales	ppb
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	5000
Aves adultas (pollos, patos, pavos)	8000
Gallinas ponedoras y reproductoras	4000
Cerdos jóvenes (< 34 kg peso vivo)	1500
Cerdos adultos (34-57 kg peso vivo)	1500
Cerdos adultos(> 57 kg peso vivo)	1500
Cerdas	2000
Verracos	1500
Terneros, Corderos, Cabritos	15000
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos no lecheros	35000
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos lecheros	35000
Caballos adultos no reproductores	2000
Conejos gazapos	1000
Conejos adultos	1500
Conejas	1500

Para la vomitoxina o deoxinivalenol, los pollos, conejos y pavos son muy resistentes a la acción tóxica de DON, no siendo lo mismo para las gallinas, cerdos y vacas lecheras. Parece ser que en patos, concentraciones relativamente moderadas de DON del orden de 5800 ppb en periodos de suministro cortos, no provocan efectos adversos.

Igual que anteriormente y de acuerdo con lo publicado en el Diario Oficial de la Unión Europea, las concentraciones máximas de contaminación orientativas para DON en productos destinados a la alimentación animal con una humedad o agua libre del 12% (Official Journal of the European Union, 2006), son los siguientes:

- a.-** En cereales y productos a base de cereales (los forrajes y forrajes groseros de cereal están también incluidos) excepto los subproductos de maíz, **8000 ppb**.
- b.-** En subproductos de maíz, **12000 ppb**.
- c.-** En piensos complementarios y completos, **5000 ppb** con excepción de:
- d.-** En piensos complementarios y completos para cerdos, **900 ppb**.
- e.-** En piensos complementarios y completos para terneros, (menores de cuatro meses), corderos y cabritos, **2000 ppb**.

Dejando el criterio de la Unión Europea y a nivel de la práctica y observaciones de campo, se pueden establecer las siguientes concentraciones máximas tolerables para deoxinivalenol en el alimento compuesto destinado a las siguientes especies animales, a saber (Gimeno, 2009a):

Tabla 5.- Concentraciones máximas tolerables (ppb, microgramos/kg) para deoxinivalenol en el alimento completo y en diferentes especies animales.

Animales	ppb
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	15000
Aves adultas (pollos, patos, pavos)	15000
Gallinas ponedoras y reproductoras	200
Cerdos jóvenes (< 34 kg peso vivo)	200
Cerdos adultos (34-57 kg peso vivo)	250
Cerdos adultos(> 57 kg peso vivo)	250
Cerdas	250
Verracos	250
Terneros, Corderos, Cabritos	1000
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos no lecheros	1000
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos lecheros	250
Caballos adultos no reproductores	400
Conejos gazapos	10000
Conejos adultos	10000
Conejas	10000

Con los datos expuestos anteriormente, todas las especies animales referidas son sensibles a la acción tóxica de la toxina T-2. En pavos, las concentraciones de toxina T-2 que pueden provocar problemas deben ser superiores a 1000 ppb. Sin embargo, cuando la contaminación con toxina T-2 es acompañada de una contaminación con diacetoxiscirpenol en concentraciones hasta 1000 ppb, el conjunto ya puede provocar problemas graves de lesiones orales.

La Unión Europea no tiene, de momento, recomendaciones de concentraciones máximas de toxina T-2.

A nivel de la práctica y observaciones de campo, se pueden establecer las siguientes concentraciones máximas tolerables para toxina T-2 en el alimento compuesto destinado a las siguientes especies animales, a saber (Gimeno, 2009a):

Tabla 6.- Concentraciones máximas tolerables (ppb, microgramos/kg) para toxina T-2 en el alimento completo y en diferentes especies animales.

Animales	ppb
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	150
Aves adultas (pollos, patos, pavos)	150
Gallinas ponedoras y reproductoras	150
Cerdos jóvenes (< 34 kg peso vivo)	150
Cerdos adultos (34-57 kg peso vivo)	200
Cerdos adultos(> 57 kg peso vivo)	200
Cerdas	200
Verracos	200
Terneros, Corderos, Cabritos	-
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos no lecheros	100
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos lecheros	100
Caballos adultos no reproductores	50
Conejos gazapos	100
Conejos adultos	100
Conejas	100

Respecto al diacetoxiscirpenol, tanto las aves como los cerdos son sensibles a la acción tóxica de esta micotoxina, desconocemos si también las vacas lecheras y los conejos son sensibles, visto que no disponemos de datos para tal. En pavos, las concentraciones de diacetoxiscirpenol que pueden provocar problemas deben ser superiores a 1000 ppb. Sin embargo, cuando la contaminación con diacetoxiscirpenol es acompañada de una contaminación con toxina T-2 en concentraciones hasta 1000 ppb, el conjunto ya puede provocar problemas graves de lesiones orales.

A nivel de la práctica y observaciones de campo, se pueden establecer las siguientes concentraciones máximas tolerables para diacetoxiscirpenol en el alimento compuesto destinado a las siguientes especies animales, a saber (Gimeno, 2009a):

Tabla 7.- Concentraciones máximas tolerables (ppb, microgramos/kg) para diacetoxiscirpenol en el alimento completo y en diferentes especies animales.

Animales	ppb
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	150
Aves adultas (pollos, patos, pavos)	150
Gallinas ponedoras y reproductoras	150
Cerdos jóvenes (< 34 kg peso vivo)	150
Cerdos adultos (34-57 kg peso vivo)	200
Cerdos adultos(> 57 kg peso vivo)	200
Cerdas	200
Verracos	200
Terneros, Corderos, Cabritos	-
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos no lecheros	-
Bovinos, Ovinos y Caprinos adultos lecheros	-
Caballos adultos no reproductores	50
Conejos gazapos	-
Conejos adultos	-
Conejas	-

En lo que se refiere a las micotoxinas tricotecenas, monoacetoxiscirpenol, triacetoxiscirpenol y escirpentriol solo disponemos de datos de toxicidad referidos a pollos y gallinas. Los pollos son sensibles a estas micotoxinas, no sabemos si las gallinas lo son al triacetoxiscirpenol y escirpentriol visto que no tenemos información al respecto, sin embargo, si podemos indicar que en lo que se refiere a monoacetoxiscirpenol, las concentraciones de micotoxina que en los datos presentados causaron problemas son muy altas como para ser encontradas como contaminante natural.

Queremos destacar que, respecto a las micotoxinas tricotecenas T-2 y HT-2 no aparecen valores orientativos de concentraciones máximas de contaminación en productos destinados a la alimentación animal ya que la Comisión de la Unión Europea, considera (Official Journal of the European Union, 2006), textualmente, que hay una falta de datos fiables para ellas, y que

la amplia variación en su aparición de un año para otro, implica que sean recogidos más datos sobre la presencia de estas micotoxinas en los piensos compuestos y materias primas, además de los que ya tienen recopilados a raíz de una serie de programas de control coordinados y que ya están en funcionamiento desde el año 2002.

También nos gustaría dejar claro que lo publicado en el Diario Oficial de la Unión Europea (Official Journal of the European Union, 2006) no supone, ni mucho menos, la inmediata aparición de una legislación al respecto, que evidentemente será común a todos los países de la UE, así como lo son esos valores orientativos.

La UE dice que la susodicha Recomendación de la Comisión para esas micotoxinas es considerada como “Actos cuya publicación no es una condición para su aplicabilidad”. O sea, es una declaración de intenciones y podemos pues decir que empezó la cuenta atrás para que en un futuro, posiblemente en el año 2012 aparezca ya una legislación obligatoria para todas esas micotoxinas en alimentación animal y, por supuesto, común a todos los países de la UE. Ahora bien, lo ahora publicado es una recomendación, no una obligación. Sin embargo y a partir del 23 de agosto de 2006, cada Estado miembro es libre de establecer dentro de su propio país una legislación definitiva basándose en esas recomendaciones. Si después ese país tiene problemas comerciales y económicos con otros países, inherentes a su legislación interna, eso será un problema de él, no de la Unión Europea. Es muy posible que más adelante esos valores orientativos sean revisados y se proceda a las modificaciones pertinentes. Debemos señalar que la UE no da valores orientativos para la micotoxina zearalenona en piensos para aves, probablemente porque éstas son altamente resistentes a esta micotoxina, como antes hemos visto.

Teniendo en cuenta que los valores orientativos considerados por la Recomendación de la Comisión están indicados para productos destinados a la alimentación animal con un contenido de humedad o agua libre del 12%, igual que la legislación para aflatoxina B1. Esto implica que cuando hacemos el análisis de esas micotoxinas en la muestra o muestras representativas de la masa alimentaria, debemos analizar también la humedad o agua libre y extrapolar el valor de micotoxina obtenido para un 12% de humedad del sustrato, caso de que éste tenga un valor de la misma diferente al indicado, a fin de comparar con la legislación o con los valores máximos de contaminación orientativos, publicados en el Diario Oficial de la Unión Europea (Official Journal of the European Union, 2006)

Es muy difícil sacar conclusiones significativas en un tema tan complejo como es el de la micotoxicosis en humanos y mucho más cuando los riesgos están mezclados con otros tanto o más importantes, como son las contaminaciones con metales pesados, hidrocarburos, dioxinas, contaminaciones bacterianas, etc. Si a todo esto le sumamos algunos de los factores antes mencionados que agravan la toxicidad como pueden ser, un mal estado fisiológico del

individuo o de su salud, la toma de conclusiones se nos hace aun más complicada.

El establecer una legislación para micotoxinas esta sujeto a toda una serie de factores primarios que dificultan este objetivo, a saber: Disponibilidad de datos toxicológicos; Disponibilidad de datos respecto a la incidencia de micotoxinas en varios alimentos; Homogeneidad de la micotoxina en la masa alimentar; Disponibilidad de métodos analíticos y concentraciones mínimas detectables y cuantificables de micotoxinas; Legislación en otros países con los que hay contactos comerciales y la necesidad en algunos países de ser abastecidos suficientemente en cuanto a alimentos (Van Egmond, H.P, 1999).

Independiente de los países referidos en el artículo con respecto a la legislación o reglamentaciones para micotoxinas se puede obtener un gran información mundial al respecto consultando la referencia CAST, 2003, en donde están referidos unos 88 países.

De las micotoxinas descritas como riesgo para los humanos, la AFB1 continua a liderar con su potencial carcinogénico los riesgos a nivel mundial en lo que se refiere a cáncer de hígado. Las referencias anteriormente indicadas (CCFAC, 1999; CCFAC, 2000; CCFAC, 2001; CODEX, 2002) contienen los resultados de las discusiones establecidas al respecto del nivel máximo de contaminación con AFM1 de 0,05 ppb (UE) “versus” 0,50 ppb (USA y otros países). Teniendo en cuenta las preocupaciones con la salud pública, la UE continua manteniendo el nivel máximo de 0,05 ppb en la leche y de 0,025 ppb en los alimentos lácteos para lactantes. Así, debe aplicarse el principio ALARA (As low As Reasonable Achievable) , es decir, que el nivel máximo debe ser tan bajo como sea razonablemente posible, al contrario de la opinión de los países que están contra ese nivel y defienden el de 0,50 ppb.

Aunque la AFM1 tenga una potencia carcinogénica 9 a 10 veces menor que la AFB1, y aunque después de los estudios presentados y mencionados anteriormente (JECFA, 2001; WHO, 2002) el riesgo adicional de cáncer de hígado pronosticado era insignificante si se pasaba de 0,05 ppb a 0,50 ppb, la exposición a cualquier nivel cuando se trata de un carcinógeno genotóxico, como es el caso de la AFM1, puede suponer un riesgo sanitario para los consumidores, en especial para los niños. Esto refuerza la aplicación del principio ALARA, que dice que para ese tipo de carcinógenos, no hay una dosis máxima por debajo de la cual no se produzcan tumores malignos, por lo que que el nivel de exposición debería ser de 0 para tener un riesgo nulo a padecer cáncer de hígado que pueda ser provocado por las aflatoxinas en general.

El Comité científico de la Unión Europea indica que hay que valorar cuidadosamente los riesgos derivados de la exposición a estas micotoxinas, ya que la ingesta de leche y derivados entre lactantes y niños puede ser considerable.

No existen aún suficientes evidencias de que la OTA sea cancerigena para los humanos, sin embargo existe una conciencia de que hay que disminuir los riesgos de exposición a la micotoxina mismo para reducir los problemas de nefropatía atribuidos en algunos países, al

consumo de géneros alimenticios contaminados con OTA. La UE tiene ya establecida una legislación rigurosa para OTA en una significativa variedad de géneros alimenticios para humanos.

A pesar de que las fumonisinas han sido consideradas como posibles micotoxinas carcinogénicas, los países donde la incidencia de cáncer de esófago y problemas gastrointestinales es significativa, continúan a relacionar toda esta problemática con el consumo de géneros alimenticios contaminados con fumonisinas en especial con la FB1. Solo el FDA establece unas reglamentaciones para algunos géneros alimenticios y consideramos que se deben realizar más estudios sobre los riesgos de la exposición a esta micotoxina.

Parece ser que la vomitoxina o deoxinivalenol tiene una especial atención en algunos países donde los niños y niñas son grandes consumidores de productos del trigo, ya que el riesgo que ellos corren de que la exposición a esta micotoxina interfiera negativamente en su rápido crecimiento, es motivo de preocupación. Sin embargo, la vomitoxina puede contaminar el género alimenticio junto con otras micotoxinas pertenecientes también a la familia de los tricotecenos como es el caso de la toxina T-2 y otras, situación tal que complica la evaluación de riesgos para esta micotoxina

Quizás la patulina sea de momento la micotoxina menos relevante en cuanto a micotoxicosis en humanos, sin embargo los estudios sobre su toxicidad continúan a ser efectuados y muy en especial pensando en el riesgo que puede suponer para los niños y niñas que son grandes consumidores de zumos de fruta. Tal como ya referimos anteriormente la UE tiene legislación para esta micotoxina.

No pretendemos con este manual provocar situaciones de alarma al respecto y simplemente queremos comunicar una situación lo más actualizada posible al tema en cuestión. El consumo variado de géneros alimenticios reduce los riesgos de micotoxicosis, sin embargo hay países y mismo ciertas poblaciones dentro de un mismo país que por deficiencias económicas no se pueden valer de esta variedad en sus hábitos alimentares. Es por ese motivo que los esfuerzos y ayudas económicas para conseguir mejores y más seguros métodos de prevención, detoxificación e inactivación a la vez que la rigurosidad en la exigencia de calidad en los alimentos compuestos para animales y en los géneros alimenticios para los humanos deben ser cada vez mayores.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdelhamid, A.M.; Kelada, I.P.; Ali, M.M.; el-Ayouty, S.A. (1992). *Archiv fur Tierernahrung*, 42: pp.63-70.
- Abramson, D.; Mills, J.T.; Boycott, B.R. (1983). *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 47: 23-26.
- Ademoyero, A.A. y Hamilton, P.B. (1991a). *Poultry Science*, 70:2082-2089.
- Ademoyero, A.A. y Hamilton, P.B. (1991b). *Poultry Science*, 70: 2271-2274.
- Ademoyero, A.A.; Hamilton, P.B.; Cullen, J.M. (1991). *Poultry Science*, 70: 2090-2093.
- Allcroft, R. (1965). *Mycotoxins in Foodstuffs* by Wogan, G.N. MIT Press, pp. 154-160.
- Allen, N.K.; Jevne, R.L.; Mirocha, C.J.; Lee, Y.W. (1982). *Poultry Science*, 61:2172-2175.
- Applebaum, R.S.; Brackett, R.E.; Wiseman, D.W.; Marth, E.H. (1982). *Journal of Dairy Science*, 65: 1503-1508.
- Asplin, F.D. y Carnaghan, R.B.A. (1961). *The Veterinary Record*, 73: 1215.
- Bacon, C.W. y Marks, H.L. (1976). *Poultry Science*, 55: 1531-1535.
- Bamburg, J.R. (1976). "Chemical Biochemical Studies of the Trichothecene Mycotoxins" in *Mycotoxins Other Fungal Related Food Problems*. J.V.Rodricks (Ed.). American Chemical Society, Washington, DC, pp. 144-162.
- Bergsjø, B.; Herstad, O.; Nafstad, I. (1993a) *British Poultry Science*, 34: 147-159.
- Bergsjø, B.; Langseth, W.; Nafstad, I.; Jansen, J.H.; Larsen, H.J. (1993b). *Veterinary Research Communications*, 17: 283-294.
- Bermudez, A.J.; Ledoux, D.R.; Rottinghaus, G.E. (1995). *Avian Diseases*, 39: 879-886.
- Bermudez, A.J.; Ledoux, D.R.; Rottinghaus, G.E.; Bennett, G.A. (1997). *Avian Diseases*, 41: 304-311.
- Berthiller, F.; Dall'Asta C.; Schuhmacher, R.; Lemmens, M.; Adam G.; Krska R. (2005). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:3421-3425.
- Berthiller, F.; Werner, U.; Sulyok, M.; Krska, R.; Hauser, M.T.; Schuhmacher, R. (2006) *Food Additives and Contaminants*, 23:1194-1200.
- Betina, V. (1989). "Trichothecenes, Chemical, Biological Environmental Aspects" in *Mycotoxins*. Elsevier Science Publishing Company, Inc.; New York, USA. Vol.9, pp. 193-238.

- Biro, K.; Barna-Vetró, L.; Pécsi, T.; Szabó, E.; Winkler, G.; Frink-Gremmels, J.; Solti, L. (2003). *Theriogenology*, 60: 199-207.
- Boston, S.; Wobeser, G.; Gillespie, M. (1996). *Journal of Wildlife Diseases*, 32: 17-22.
- Broomhead, J.N.; Ledoux, D.R.; Bermudez, A.J.; Rottinghaus, G.E. (2002). *Poultry Science*, 81: 56-61.
- Brown, R.W.; Pier, A.C.; Richard, J.L.; Krogstad, R.E. (1981). *American Journal of Veterinary Research*, 42: 927-933.
- Bucci, T.J.; Hansen, D.K.; LaBorde, J.B. (1996). *Natural Toxins*, 4: 51-52.
- Burditt, S.J.; Hagles, W.M Jr.; Hamilton, P.B. (1984). *Poultry Science*, 63: 2172-2174.
- Burns, R.B.; Maxwell, M.H. (1987). *Research in Veterinary Science*, 42: 395-403.
- Butler, W.H. (1974). "Aflatoxin" in *Mycotoxins*. I.F.H. Purchase (Ed.). Elsevier Press. Amsterdam, The Netherlands, p.19.
- Carlton, W.W. y Krogh, P. (1979). "Ochratoxins" in *Conference on Mycotoxins in Animal Feeds Grain Related to Animal Health*. PB-300 300. Sponsored by Bureau of Veterinary Medicine. Food Drug Administration, June 8, Rockville, Maryland (USA), pp. 165-287.
- CAST (Council for Agricultural Science Technology), (2003). "Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, Human Systems". Task Force Report, n° 139, Ames, Iowa, January 2003, pp.1-199.
- CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants), 1999. *Micotoxinas presentes en Alimentos y Piensos (Tema 16 del programa)* "Observaciones sobre el proyecto de nivel máximo para la aflatoxina M1 en la leche (Tema 16ª del programa)". En Internet: <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/x7137s/x7137s0n.htm> (Consultado en 10-11-2010).
- CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants), 2000. *Micotoxinas en los Alimentos y los Piensos (Tema 15 del programa)*. "Observaciones sobre el proyecto de nivel máximo para la aflatoxina M1 en la leche (Tema 15ª del programa)". En Internet: <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/y0474s/y0474s0m.htm> (Consultado en 22-10-2010).
- CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants), 2001. *La Comisión Europea; Seguridad Alimentaria*. (2001). *Observaciones de la Comunidad Europea para la Comisión del Codex Alimentarius, 24ª Reunión*. 2-7 de Julio de 2001, Ginebra, Suiza. "Proyecto del nivel máximo para la aflatoxina M1 en la leche (ALINORM 01/12 A-*appendice X*)". En internet: http://europa.eu.int/comm/foods/fs/ifsi/eupositions/cac/archives/cac_item10a_es.html (Consultado en 10-05-2010).
- Chan, P.K. y Gentry, P.A. (1984). *Toxicology Applied Pharmacology*, 73: 402-410.

- Chang, C.F.; Doerr, J.A.; Hamilton, P.B. (1981). *Poultry Science*, 60:114-119.
- Chang, C.F.; Huff, W.E.; Hamilton, P.B. (1979). *Poultry Science*, 58: 555-558.
- Charmley, E.; Trenholm, H.L.; Thompson, B.K.; Vudathala, D.; Nicholson, J.W.; Prelusky, D.B.; Charmley, L.L. (1993) *Journal of Dairy Science*, 76: 3580-3587.
- Chi, M.S. y Mirocha, C.J. (1978). *Poultry Science*, 57: 807-808.
- Chi, M.S.; Mirocha, C.J.; Kurtz, H.J.; Weaver, G.; Bates, F.; Shimoda, W. (1977a). *Poultry Science*, 56: 628-637.
- Chi, M.S.; Mirocha, C.J.; Kurtz, H.J.; Weaver, G.; Bates, F.; Shimoda, W. (1977b) *Poultry Science*, 56: 306-313.
- Christensen, C.M. (1979). "Zearalenone" in Conference on Mycotoxins in Animal Feeds Grains Related to Animal Health. W. Shimoda (Ed.). Sponsored by Bureau of Veterinary Medicine. Food Drug Administration, Rockville, Maryland, USA, PB-300 300, Jun8, pp.1-79.
- Clark, J.D.; Green, C.E.; Calpin, J.P.; Hatch, R.C.; Jain, A.V. (1986). *Toxicology Applied Pharmacology*, 86: 353-361.
- CODEX, 2002. Examen de normas del Codex y textos afines (Tema 10 del programa). "Proyecto de Nivel Máximo para la aflatoxina M1 en la Leche". En internet: <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/y1560S/y1560s0d.htm> (Consultado em 15-12-2010).
- COST (European cooperation in the field of scientific technical research), (2001). "Occurrence of toxicogenic fungi mycotoxins in plants, food feed in Europe". In: A. Logrieco (Ed.), *Agriculture biotechnology*. European Commission (COST Action 835), Luxembourg, pp. 1-207.
- Diário da Republica (1999) -I Serie A, n.º 119/99, 22 de Maio de 1999. Decreto Lei n.º 182/99: 2829-2835 (Portugal).
- Diário Oficial de la Unión Europea (2006). Reglamento (CE) n.º 401/2006 de la Comisión de 23 de febrero de 2006. L 70/12- L7034.
- Doerr, J.A.; Huff, W.E.; Tung, H.T.; Wyatt, R.D.; Hamilton, P.B. (1974). *Poultry Science*, 53: 1728-1734.
- Doerr, J.A.; Huff, W.E.; Wabeck, C.J.; Chaloupka, G.W.; May, J.D.; Merkley, J.W. (1983). *Poultry Science*, 62:1971-1977.
- Duff, S.R.; Burns, R.B.; Dwivedi, P. (1987). *Research in Veterinary Science*, 43: 301-307.
- Echave, R.S.; de Teran Diaz, G.R.; LLano, B.P.; Casado, P.G. (2008). *ALBEITAR*, n.º112, pp. 34-38.

Ewald, C.; Rehm, A.; Haupt, C. (1991). *Berl.Munch.Tierarztl.Wochenschr.* 104(5), pp.161-166.

EC (European Commission), (1999). "Opinion on Fusarium Toxins, Part 1: Deoxynivalenol (DON)". Scientific Committee on Food (SCF/CS/CNTM/MYC/19 Final). Brussels. December 2, 1999. pp. 1-5.

EC (European Commission), (2000). "Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium Toxins, Part 3: Fumonisin B1 (FB1)". Scientific Committee on Food (SCF/CS/CNTM/MYC/24 Final). Brussels. October 17, 2000. pp.1-33.

Edds, G.T. (1979). "Aflatoxins" in Conference on Mycotoxins in Animal Feeds Grains Related to Animal Health, W.Shimoda (Ed.) PB-300 300. Sponsored by: Bureau of Veterinary Medicine, Food Drug Administration, June 8, Rokville, Maryl (USA), pp.80-164.

Edds, G.T.; Nair, K.P.C.; Simpson, C.F. (1976). *American Journal of Veterinary Research*, 37: 65-68.

EHSO (Environment, Health and Safety Online) "Aflatoxins in Your Food-and their Effect on Your Health". U.S. FDA (Food and Drug Administration) REGULATIONS. En internet: <http://www.ehso.com/ehshome/aflatoxin.php> (Consultado en 10-07-2010).

Eich, K.O. (1990). "Fusariotoxicosis" en el Manual de Enfermedades del Cerdo. Grünland (Eds). Edición Española, pp.254-257.

Espada, Y.; Gopegui, R.R.; Cuadras, C.; Cabañes, F.J. (1994). *Avian Diseases*, 38: 454-460.

Estudio FAO, Alimentación y Nutrición 73. ISSN-1014-2916.

FAO (Food Agriculture Organisation), (1997). "Worldwide Regulations for Mycotoxin 1995". A compendium. FAO Food Nutrition: Paper 64. (Rome: Food Agriculture Organization of the United Nations).

FDA (Food and Drug Administration), 2000. "Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed". En internet: <http://vm.cfsan.fda.gov/~lrd/fdaact.html> (Consultado en 10-11-2010).

FDA (Food Drug Administration), (2000a). "Background Paper in Support of Fumonisin Levels in Corn Corn Products Intended for Human Consumption". June 6, 2000. pp. 1-8.

FDA (Food Drug Administration), (2000b). "Patulin in Apple Juice, Apple Juice Concentrates Apple Juice Products". (Draft) Guidance for FDA Components Industry: Apple Juice, Apple Juice Concentrates, Apple Juice Products - Adulteration with Patulin. June 15, 2000, pp. 1-12.

Fernández, A.; Verde, M.T.; Gascon, M.; Ramos, J.; Gomez, J.; Luco, D.F.; Chavez, G. (1994). *Avian Pathology*, 23: 37-47

Fink-Gremmels, J. (2008). *The Veterinary Journal*, 176:84-92.

Galvano, F.; Galofaro, V.; De Angelis, A.; Galvano, M.; Bognanno, M.; Galvano, G. (1998). *Journal of Food Protection*, 61: 738-741.

Galvano, F.; Galofaro, V.; Ritieni, A.; Bognanno, M.; De Angelis, A.; Galvano, G. (2001). *Food Additives and Contaminants*, 18: 644-646.

Gareis, M.; Bauer, J.; Thiem, J.; Plank, G.; Grabley S, Gedek, B. (1990) *Zentralbl Veterinarmed B.*, 37: 236-240.

Gbodi, T.; Nwude, N. (1988). *Veterinary and Human Toxicology*, 30: 235-245.

Giambrone, J.J.; Diener, U.L.; Davis, N.D.; Panangala, V.S.; Hoerr, F.J. (1985). *Poultry Science*, 64: 1678-1684.

Giddey, C.; (1977). "Mecanismos de detoxificación de las micotoxinas y procedimientos industriales para tratamiento de los alimentos para animales". XV Symposium Científico de la Asociación Española Mundial de Avicultura Científica. Barcelona, España, 29 de Noviembre a 1 de Diciembre, 1977. pp. 53-67 (Libro del Symposium).

Gimeno, A. (1987) "Curso Teórico Práctico sobre Micotoxinas y Hongos toxicogénicos". Departamento de Patología Animal I. Sanidad Animal (U.D. Microbiología), Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense. Madrid 6 a 10 de Julio. pp. 13-19 (Libro del Curso)

Gimeno, A. (1988). "Detoxificación fisiológica de la aflatoxina B1 utilizando aditivos adsorbentes". XXVI Symposium de Avicultura. Sección Española de la Asociación Mundial de Avicultura Científica. Reus (Tarragona) España, 23 a 25 de Noviembre. pp. 167-184 (Libro del Symposium).

Gimeno, A. (1999) "Revisión Genérica del Problema de los Hongos y las Micotoxinas en la Alimentación Animal". pp.1-53, en www.mycotoxin.com (consultado en 7-11-2010).

Gimeno, A. (2002) "Los hongos y las Micotoxinas en la Alimentación Animal; Conceptos, Problemas, Control y Recomendaciones". pp. 1-49, en www.engormix.com (Ir a: micotoxinas. Sección en español. Artículos técnicos de Alberto Gimeno. Ir al listado completo de artículos técnicos) (<http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/los-hongos-micotoxinas-alimentacion-t362/p0.htm>) (consultado en 4-03-2011).

Gimeno, A. (2003). "Deoxynivalenol, a risk Mycotoxin for Children. Analytical Methods. Deoxynivalenol Levels in Wheat-Based Food Products", en www.engormix.com (Go to: mycotoxins. Area en ingles). Consultado en 25-10-2010)

Gimeno, A. (2004). *Revista da Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais – IACA*. 49: 26-34.

Gimeno, A. (2004a). Nuestra Cabaña. 337: 39-50.

Gimeno, A. (2005). En: www.engormix.com
(Ir a Micotoxinas en español. Artículos técnicos de Alberto Gimeno. Ir al listado completo).
(<http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/aflatoxina-leche-riesgos-salud-t372/p0.htm>). Consultado en 3-04-2011.

Gimeno, A. (2009). En: www.engormix.com
(Ir a Micotoxinas en español. Artículos técnicos de Alberto Gimeno. Ir al listado completo).
(<http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/aditivos-antimicotoxinas-t2730/p0.htm>). Consultado en 4-03-2011.

Gimeno, A. (2009a). En: www.engormix.com
(Ir a Micotoxinas en español. Artículos técnicos de Alberto Gimeno. Ir al listado completo).
(<http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/revision-concentraciones-maximas-tolerables-t2552/p0.htm>). Consultado en 2-02-2011

Gimeno, A. (2011). En: www.engormix.com
(Ir a Micotoxinas en español. Artículos técnicos de Alberto Gimeno. Ir al listado completo).
(<http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/micotoxinas-en-el-ganado-vacuno-lechero-t3029/165-p0.htm>). Consultado en 3-02-2011.

Gimeno, A.; Martins, M.L. (1982). "Toxicidad y Control de Micotoxinas". I Symposium Iberico de Avicultura (WPSA), 24-26 de Noviembre, Lisboa (Portugal). pp. 113-141 (Libro del Symposium).

Gimeno, A.; Martins, M.L. (1987). "Influencia de algunas micotoxinas en los problemas de salud humana". Curso Teorico Practico sobre Micotoxinas y Hongos Toxicogenicos. Universidad Complutense de Madrid (Facultad de Veterinaria), 6 a 10 de Julio, 1987. pp.1-27 (Libro del Curso).

Gimeno, A.; Martins, M.L. (2000). "Problemas de Micosis y Micotoxicosis en Pollos". pp. 1-44, en www.mycotoxin.com (consultado en 25-08-03) y en Hongos y Micotoxinas en Pollos. Cursos de Formación CESAC (Centre de Sanitat Avícola de Catalunya). 1 de Octubre 1997. Reus (Tarragona) España. pp. 1-58 (Libro del curso).

Gimeno, A.; Martins, M.L. (2000a). "Micotoxicosis", ENFERMEDADES DEL CONEJO (Tomo I, Generalidades.; ISBN:84-7114-908-7).; Coordinador: Juan María Rosell.; Ed. MUNDI-PRENSALIBROS,S.A.; Capitulo 5. pp.439-464.

Gimeno, A.; Martins, M.L. (2000b). Albéitar, 37: 44-46.

Gimeno, A.; Martins, M.L. (2000c). Albéitar, 36: 40-42.

- Gimeno, A.; Martins, M.L. (2001). "Micotoxinas de *Fusarium* en Avicultura y su Control Analítico". pp.1-31, en www.mycotoxin.com (consultado en 20-10-2007) y en XIII Curso AVIMEX de Salud y Productividad. Julio 20, 2001. Ciudad de México. pp. 65-96 (Libro del Curso).
- Gimeno, A.; Martins, M.L.; Segura, A. (2001). *Cunicultura*. 26: 225-231.
- Gimeno, A.; Martins, M.L. (2002). "Primer Encuentro Técnico Sobre la Nutrición y Control de la Micotoxicosis en el Ganado Lechero". Abril de 2002. Miami, Florida, USA. pp. 1-19 (Libro del Symposium) y en Gimeno, A. y Martins, M.L. (2002). *Albéitar*, 53: 52-54.
- Gimeno, A.; Martins, M.L. (2002a). *Albéitar*. 53: 52-54.
- Gimeno, A.; Martins, M.L. (2003). *Albéitar*, 63: 42-44 y en www.engormix.com (Ir a: micotoxinas. Sección en español. Artículos técnicos de Alberto Gimeno. Ir al listado completo) (<http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/fusariomicotoxicosis-comparativa-entre-pollos-t242/165-p0.htm>). Consultado en 8-12-2007.
- Gimeno, A.; Martins, M.L. (2003a). "Análisis de Riesgo de las más Relevantes Micotoxicosis en Humanos". I Symposium Panamericano de Micotoxinas para la Industria (X Aniversario de la Sociedad Latinoamericana de Micotoxicología). 1 a 4 de Abril de 2003 en Ciudad de México. Abstract. p. 34 (Libro del Symposium).
- Gimeno, A.; Martins, M.L. (2003b). "Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos". Special Nutrients, Inc. USA (Ed.). Talleres graficos del SRL, Buenos Aires (Argentina). pp. 1-160.
- Gimeno, A.; Martins, M.L. (2006). "Mycotoxins and Mycotoxicosis in Animals and Humans" Special Nutrients, Inc. USA (Ed.). Victor Mireles Communications, Mexico City. pp. 1-127
- Gimeno, A.; Martins, M.L.; Perestrelo, R.V. (2003). "Micotoxicoses em Avicultura, Controlo e Prevenção". Publicações Ciência e Vida, Lda (Ed.). Coleção Veterinária XXI-nº 10. Lisboa. ISBN 972-590-075-8. pp.1-59.
- Gotlieb, A. (2002). "Mycotoxins In Silage: A Silent Loss in Profits" in The Vermont Crops Soils Home Page, <http://pss.uvm.edu/vtcrops/Articles/Mycotoxart.htm> (consultado en 30-10-2004).
- Gumprecht, L.A.; Marcucci, A.; Weigel, R.M.; Vesonder, R.F.; Riley, R.T.; Showker, J.L.; Beasley, V.R.; Haschek, W.M. (1995). *Natural Toxins*, 3: 395-403.
- Halloran, H.R. (1983). *Feedstuffs*. May 2, p.18.
- Hamilton, P.B.; Harris, J.R. (1971). *Poultry Science*, 50:906-912.
- Hamilton, P.B.; Huff, W.E.; Harris, J.R.; Wyatt, R.D. (1982). *Poultry Science*, 61: 1832-1841.

- Hamilton, R.M.G.; Thompson, B.K.; Trenhom, H.L. (1981). *Poultry Science*, 60: 1666 (Abstract).
- Harvey, R.B.; Elissalde, M.H.; Kubena, L.F.; Weaver, E.A.; Corrier, D.E.; Clement, B.A. (1992). *American Journal of Veterinary Research*, 53: 1966-1970.
- Harvey, R.B.; Kubena, L.F.; Elissalde, M.H.; Rottinghaus, G.E.; Corrier, D.E. (1994). *American Journal of Veterinary Research*, 55: 1757-1761.
- Harvey, R.B.; Kubena, L.F.; Huff, W.E.; Corrier, D.E.; Clark, D.E.; Phillips, T.D. (1989). *American Journal of Veterinary Research*, 50: 602-607.
- Harvey, R.B.; Kubena, L.F.; Elissalde, M.H.; Corrier, D.E.; Huff, W.E.; Rottinghaus, G.E.; Clement, B.A. (1991). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 3: 155-160.
- Hascheck, W.M.; Gumprecht, L.A.; Smith, G.; Tumbleson, M.E.; Constable, P.D. (2001). "Fumonisin Toxicosis in Swine: An Overview of Porcine Pulmonary Edema and Current Perspectives". In: *Environmental Health Perspectives*. Vol. 109. Supplement 2, pp. 251-257.
- Hedman, R.; Pettersson, H. (1997). *Archiv fur Tierernahrung*, 50: 321-329.
- Hesseltine, C.W. (1976). "Conditions Leading to Mycotoxin Contamination of Foods Feeds" in *Mycotoxins Other Fungal Related Food Problems*. Joseph V. Rodricks (Ed), American Chemical Society, Washington DC, pp.1-22.
- Hoerr, F.J.; Carlton, W.W.; Yagen, B.; Joffe, A.Z. (1981). *Avian Pathology*, 11:369-383.
- Hoerr, F.J.; Carlton, W.W.; Yagen, B.; Joffe, A.Z. (1982). *Fundamental and Applied Toxicology*, 2:121-124.
- Hohler, D.; Sudekum, K.H.; Wolfram, S.; Frohlich, A.A.; Marquardt, R.R. (1999). *Journal of Animal Science*, 77: 1217-1223.
- Hsu, I.C.; Smalley, E.B.; Strong, F.M.; Ribelin, W.E. (1972). *Applied Microbiology*, 24: 685-690.
- Huff, W.E.; Hamilton, P.B. (1975). *Poultry Science*, 54:1659-1662.
- Huff, W.E.; Kubena, L.F.; Harvey, R.B.; Hagler, W.M Jr.; Swanson, S.P.; Phillips, T.D.; Creger, C.R. (1986). *Poultry Science*, 65: 1291-1298.
- Huff, W.W.; Wyatt, R.D.; Hamilton, P.B. (1975). *Applied Microbiology*, 30: 48-51.
- Huff, W.W.; Wyatt, R.D.; Tucker, T.L.; Hamilton, P.B. (1974). *Poultry Science*, 53: 1585-1591.

Huff, W.E.; Harvey, R.B.; Kubena, L.F.; Rottinghaus, G.E. (1988). *Poultry Science*, 67: 1418-1423.

IARC (International Agency for Research on Cancer), 1993. "Toxins derived from *F.moniliforme*: Fumonisin B1 B2 and Fusarin C: In some naturally occurring substances: Food items constituents, heterocyclic aromatic amines mycotoxins". IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Lyon. 56: 445-466.

Iverson, F.; Armstrong, C.; Nea, E.; Truelove, J.; Fernie, S.; Scott, P.M.; Stapley, R.; Hayward, S.; Gunner, S. (1995). *Teratogenesis Carcinogenesis Mutagenesis*, 15: 283-306.

JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). (1995). "Evaluation of certain food additives contaminants". Forty-fourth report. WHO Technical Report Series 859, pp.35-36.

JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). (2001). Fifty-sixth meeting, Geneva, 6-15 February 2001, pp.1-33.

Jemmali, M.; (1983). "Decontamination of mycotoxins". International Symposium on Mycotoxins. Cairo, Egypt, 6-8 September, 1981. Proceedings Book, pp. 143-150.

Jones, F.T.; Genter, M.B.; Hagler, W.M.; Hansen, J.A.; Mowrey, B.A.; Poore, M.H.; Whitlow, L.W. (1994) (Reviewed September 2007). Understanding and Coping with Effects of Mycotoxins in Livestock Feed and Forage. Published by North Carolina Cooperative Extension Service (North Carolina State University, Raleigh, North Carolina). Electronic Publication DRO-29, December, publication number AG-523, p. 1-31 in Internet: http://www.ces.ncsu.edu/disaster/drought/Understanding_mycotoxins.pdf (Consultado en 20-11-2010).

Jonker, M.A.; Van Egmond, H.P.; Stephany, R.W. (1999). "Mycotoxins in food of animal origin: a review" in CRL, document 389002 095 from European Commission, European Union Community Reference Laboratory and National Institute of Public Health and the Environment. pp.1-39.

Josephs, R.D., Ulberth, F., Van Egmond, H.P., and Emons, H. (2005). *Food Additives and Contaminants*, 22(9): 864-874.

Khera, K.S.; Whalen, C.; Angers, C. (1986). *Food Chemical Toxicology*, 24: 421-424.

Kiessling, K.H.; Pettersson, H.; Sholm, K.; Olsen, M. (1984). *Applied Environmental Microbiology*, 47: 1070-1073.

Kubena, L.F.; Harvey, R.B.; Huff, W.E.; Corrier, D.E.; Philips, T.D.; Rottinghaus, G.E. (1989). *Poultry Science*, 68: 867-872.

Kubena, L.F.; Huff, W.E.; Harvey, R.B.; Phillips, T.D.; Rottinghaus, G.E. (1989a) *Poultry Science*, 68: 622-626. Kubena, L.F.; Harvey, R.B.; Edrington, T.S.; Rottinghaus, G.E. (1994).

Poultry Science, 73: 408-415.

Kubena, L.F.; Edrington, T.S.; Harvey, R.B.; Buckley, S.A.; Phillips, T. D.; Rottinghaus, G.E.; Casper. (1997). Poultry Science, 76: 1239-1247.

Kubena, L.F.; Edrington, T.S.; Harvey, R.B.; Phillips, T.D.; Sarr, A.B.; Rottinghaus, G.E. (1997a). Poultry Science, 76: 256-264.

Kuiper-Goodman, T. (1990). Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 68: 1017-1024.

Kuiper-Goodman, T. (1994). "Prevention of Human Mycotoxicoses Through Risk Assessment Risk Management". In: J.D. Miller H.L. Trenholm (eds.), Mycotoxins In Grain, Compounds Other Than Aflatoxin. Eagan Press, St. Paul, Minnesota, pp. 439-469.

LaBorde, J.B.; Terry, K.K.; Howard, P.C.; Chen, J.J.; Collins, T.F.; Shackelford, M.E.; Hansen, D.K. (1997). Fundamental Applied Toxicology, 40: 120-128.

Lanza, G.M.; Washburn, R.W.; Wyatt, R.D. (1980). Poultry Science, 59: 282-288.

Lebas, F.; Perez, J.M. (1998). Cuniculture. n° 139 - 25: 17-22 -Janvier/Fevrier.

Leeson, S.; Diaz, G.J.; Summers, J.D. (1995). "Trichotecenes" in Poultry Metabolic Disorders Mycotoxins (Published by University Books - P.O. Box 1326 - Guelph, Ontario, Canada -N1H 6N8), pp. 190-226.

Leeson, S.; Diaz, G.J.; Summers, J.D. (1995). "Trichotecenes" in Poultry Metabolic Disorders Mycotoxins (Published by University Books - P.O. Box 1326, Guelph, Ontario, Canada -N1H6N8), pp. 211 y 212. pp.1-351

Leoni, L.A.B.; Valente Soares, L.M.; Oliveira, P.L.C. (2000). Food Additives Contaminants, 17: 867-870.

Li, Y.C.; Ledoux, D.R.; Bermudez, A.J.; Fritsche, K.L.; Rottinghaus, G.E. (2000). Poultry Science, 79: 871-878.

Lino, C.M.; Silva, L.J.G.; Pena, A.S. (2004). Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 99:181-192.

Long, G.G.; Turek, J.; Diekman, M.A.; Scheidt, A.B. (1992). Veterinary Pathology, 29:60-7.

McEvoy, T.G., Robinson, J.J., Ashworth, C.J., Rooke, J.A., Sinclair, K.D. 2001. Theriogenology, 55:113-129.

Mallmann, C.A.; Dilkin, P. (2007). Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos. Sociedade Vicente Pallotti-Editora, Santa Maria, Brasil. pp.1-238.

- Mann, D.D.; Buening, G.M.; Hook, B.S.; Osweiler, G.D. (1982). *InfectionImmunity*, 36: 1249-1252.
- Mann, D.D.; Buening, G.M.; Osweiler, G.D.; Hook, B.S. (1984). *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 48: 308-312.
- Marasas W.F.O. (1995). *Natural Toxins* 3: 193-198.
- Marks, H.L. y Bacon, C.W. (1976). *Poultry Science*, 55: 1864-1870.
- Martins, M.L.; Martins, H.M. (2000). *Food Additives and Contaminants*, 17: 871-874.
- Martins, M.L. y Martins, H.M. (2001). *Journal of Food Protection*, 64: 1848-1850.
- Martins, M.L.; Martins, H.M. (2004). *International Journal of Food Microbiology*, 91: 315-317.
- Martins, M.L.; Gimeno, A.; Martins H.M.; Bernardo, F. (2002). *Food Additives and Contaminants*, 19: 568-574.
- Martins, M.L.; Martins, H.M.; Bernardo, F. (2001). *Food Additives and Contaminants*, 18: 315-319.
- Merrill, A.H Jr.; Lingrell, S.; Wang, E.; Nikolova-Karakashian, M.; Vales, T.R.; Vance, D.E. (1995). *The Journal of Biological Chemistry*, 270:138-141.
- Merrill, A.H Jr.; Sullards, M.C.; Wang, E.; Voss, K.A.; Riley, R.T. (2001). *Environmental Health Perspectives*, 109. Suppl. 2:283-289.
- Micotoxinas, 2003. Revisión Diciembre 2003. "Legislación Comunitaria sobre contenidos máximos de micotoxinas en productos alimenticios". En Internet: <http://www.mcx.es/plaguicidas/MicotoxUE.asp> (consultado el 12-10-2009)
- Mirocha, C.J.(1977). "Micotoxinas: Química, Metabolismo y Efectos sobre la Salud Animal". XV Symposium Científico, Sección Española de la Asociación Mundial de Avicultura Científica (WPSA). Barcelona (España), 29 de Noviembre a 1 de Diciembre. pp.9-44 (Libro del Symposium).
- Mirocha, C.J. (1979). "Trichotecene Toxins Produced by Fusarium" in Conference on Mycotoxins in Animal Feeds Grains Related to Animal Health. W.Shimoda (Ed.). PB-300 300. Food Drug Administration, Rockville, MD, June 8, report FDA/BVM-79/139, pp.288-373.
- Mirocha, C.J. y Christensen, C.M. (1974). "Oestrogenic Mycotoxins Synthesized by Fusarium" in *Mycotoxins*; I.F.H. Purchase (Ed.). Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, The Netherlands, pp.143.
- Mirocha, C.J. y Christensen, C.M. (1974). "Oestrogenic Mycotoxins Synthesized by

Fusarium" in Mycotoxins. I.F.H.Purchase (Ed.). Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, The Netherlands, pp.129-148.

Mirocha, C.J.; Pathre, S.V.; Christensen, C.M. (1977). "Zearalenone" in Mycotoxins in Human Animal Health. J.V. Rodricks, C.W.Hesseltine M.A. Melhman (Eds.). Pathotox Publishers, Inc.; Park Forest South, Illinois, pp. 345-364.

Mirocha, C.J.; Weaver, G.; Whitmore, H.L.; Allen, N.; Pathre, S.V.; Robison, T.S.; Bates, F.; Kurtz, H. (1978). "Pharmacological Toxicological Studies on Zearalenone in food producing animals" in Quaterly Report IV. Contract No. 233-77-7211. FDA.

Morris, C.M.; Li, Y.C.; Ledoux, D.R.; Bermudez, A.J.; Rottinghaus, G.E. (1999). Poultry Science, 78: 1110-1115.

Muller, H.M.; Lerch, C.; Muller, K.; Eggert, W. (1998). Natural Toxins, 6: 251-258.

Neiger, R.D.; Johnson, T.J.; Hurley, D.J.; Higgins, K.F.; Rottinghaus, G.E.; Stahr, H. (1994). Avian Diseases, 38:738-743.

Official Journal of the European Communities. (1999). L-115. (199/29/EEC). May 4.

Official Journal of the European Communities. (2002a). L41/12. 12/2/02. Reg (EC) N° 257/2002.

Official Journal of the European Communities. (2002b). "Amending Regulation (EC) 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs" L75/20. 12/3/02. Reg (EC) N° 472/2002.

Official Journal of the European Union, 2003. "Amending Regulation (EC) 466/2001 as regard aflatoxins". 12 December 2003. Commision Regulation (EC) No. 2174/2003. L326/12.

Official Journal of the European Union. (2003a). "Amending Regulation (EC) 466/2001 as regards patulin". 11 August 2003. Commision Regulation (EC) No. 1425/2003. L.203/1

Official Journal of the European Union. (2003b). Amending Annex I to Directive 2002/32/ EC of the European Parliament and the Council on undesirable substances in animal feed. Commision Directive 2003/100/EC of 31 October 2003. L285/33.

Official Journal of the European Union (2004). "Amending Regulation (EC) 466/2001 as regards aflatoxins and ochratoxin A in foods for infants and young children". 13 April 2004. Commision Regulation (EC) No. 683/2004. L106/3.

Official Journal of the European Union. (2005). "Amending Regulation (EC) 466/2001 as regards ochratoxin A". 26 January 2005. Reg (EC) N° 123/2005.

Official Journal of the European Union (2006). Commision Recommendation of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 toxins and

fumonisin in products intended for animal feeding. L229, 2006/576/EC, published 23 August 2006

Ohtsubo, K. y Saito, M. (1977). "Chronic Effects of Trichothecene Toxins" in *Mycotoxins in Human Animal Health*. J.V. Rodricks, C.W. Hesseltine, M.A. Melhman (Eds.). Pathotox Publishers, Inc, Park Forest South, IL.; pp. 254-262.

Osborn, R.G.; Osweiler, G.D.; Foley, C.W. (1988). *American Journal of Veterinary Research*, 49: pp.1382-1386.

Oswald, I.P.; Desautels, C.; Laffitte, J.; Fournout, S.; Peres, S.Y.; Odin, M.; Le Bars, P.; Le Bars, J.; Fairbrother, J.M. (2003). *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 5870-5874.

Ottener, H. Majerus, P. (2000). *Food Additives and Contaminants*, 17: 793-798.

Page, R.K.; Stewart, G.; Wyatt, R.; Bush, P.; Gletcher, O.J.; Brown, J. (1980). *Avian Diseases*, 24: 777-780.

Pathre, S.V. y Mirocha, C.J. (1977). "Assay Methods for Trichothecenes Review of Their Natural Occurrence" in *Mycotoxins in Human Animal Health*. J.V. Rodricks, C.W. Hesseltine, M.A. Melhman (Eds.). Pathotox Publishers, Inc, Park Forest South, IL.; pp. 229-253.

Pier, A.C.; Richard, J.L.; Thurston, J.R. (1978). "Interactions of Mycotoxins in Animal Production", Washington : National Academy of Sciences, pp.56-66.

Pieters, M.N.; Fiolet, D.C.M.; Baars, A.J. (1999). "Deoxynivalenol: Derivation of concentration limits in wheat containing food products". RIVM (Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieu), RIVM report 388802 018. Bilthoven. October, 1999. pp.1-32.

Pietri, A.; Bertuzzi, T.; Pallaroni, L.; Piya, G. (2001). *Food Additives and Contaminants*, 18: 647-654.

Picha, J.; Cerovsky, J.; Pichova, D. (1986). *Veterinary Medicine*. 31(6): 347-57.

Prelusky, D.B.; Rotter, B.A.; Rotter, R.G. (1974). "Toxicology of Mycotoxins" in *Mycotoxins In Grain*. J.D. Miller H.L. Trenholm (Eds.). Eagan Press, St. Paul, Minnesota, USA. pp.376-379.

Rafai, P.; Tuboly, S.; Bata, A.; Tilly, P.; Vanyi, A.; Papp, Z.; Jakab, L.; Tury, E. (1995a). *The Veterinary Record*, 136: 511-514.

Rafai, P.; Tuboly, S.; Bata, A.; Tilly, P.; Vanyi, A.; Papp, Z.; Jakab, L.; Tury, E. (1995b). *The Veterinary Record*, 136: 485-489.

Rainer, M.R.; Tubbs, R.C.; Bennett, L.W.; Cox, N.M. (1990). *Journal of Animal Science*, 68: 2015-2022.

Richard, J.L.; Meerdink, G.; Maragos, C.M.; Tumbleson, M.; Bordson, G.; Rice, L.G.; Ross, P.F. (1996). *Mycophatologia*, 133: 123-126.

Romer, T.R. (1983). *Feedstuffs*. April 11, pp.30-31.

Rotter, B.A.; Thompson, B.K.; Prelusky, D.B.; Trenholm, H.L.; Stewart, B.; Miller, J.D.; Savard, M.E. (1996). *NaturalToxins*, 4: 42-50.

Rodricks J.V y Stoloff, L. (1977). "Aflatoxin Residues from Contaminated Feed in Edible Tissues of Food-Producing Animals" in *Mycotoxins in Human and Animal Health*. Edited by : Joseph V.Rodricks, Clifford H.Hesseltine and Myron A.Melhma. Pathotox Publishers, INC . Park Forest South Illinois., pp.67-79.

Roy, T.J.; Prieto,L.; Oropesa, A.; Pérez,M.; Soler,F. (2005). "Micotoxinas e reprodução em animais domésticos". *Albéitar* (Portugal). 1: 40-44.

Sahoo, P.K.; Chattopadhyay, S.K.; Charan, K. (1993). *Indian Veterinary Journal*, 70: pp.909-913.

Sato, N. y Ueno, Y. (1977). "Comparative Toxicities of Trichothecenes" in *Mycotoxins in Human Animal Health*. J.V.Rodricks, C.W.Hesseltine, M.A. Melhma (Eds.). Pathotox Publishers, Inc, Park Forest South,IL.; pp. 294-307.

Sharma, R. P.; (1993). *Journal of. Dairy Science*, 76: 892-897.

Shlosberg, A.S.; Klinger, Y.; Malkinson, M.H. (1986). *Avian Diseases*, 30: 820-824.

SCIENTIFIC REPORT submitted to EFSA (European Food Safety Authority) (2009). Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety1. Prepared by: AFSSA (France) ; INRA Clermont-Ferrand (France) ; CODA-CERVA(Belgium); INRA Toulouse (France) ; IRTA (Italy).
In Internet: <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/22e.pdf>
Consultado en: 8-04-2011.

Sieber, R. y B.Blanc, 1978. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmittel-untersuchung un Hygiene*, 69: 477-491.

Silvotti, L.; Petterino, C.; Bonomi, A.; Cabassi, E. (1997) *The Veterinary Record*, 141: 469-472.

Sklan, D.; Shelly, M.; Makovsky, B.; Geyra, A.; Klipper, E.; Friedman, A. (2003). *Poultry Science*, 44: 46-52.

Smalley, E.B. y Strong, F.M. (1974). in *Mycotoxins*. I.F.H. Purchase (Ed.). Elsevier Scientific Publishing Co.; Amsterdam, The Netherlands, pp. 198-228.

Smith, J.E.; Solomons, G.L.; Lewis, C.W.; Erson, J.G. (1994). *Mycotoxins in Human*

Nutrition Health. Directorate-General XII Science, Research Development (ed.), European Commission, pp. 1-300.

Solti, L.; Pésci, T.; Barna-Vetró, I.; Biró, K.; Szabó, E. (1999). *Animal Reproduction Science*, 56: 123-132.

Szilagyi, M.; Fekete, S.; Huszenicza, G.Y.; Albert, M. (1994). *Acta Biologica Hungarica*, 45: 69-76.

Tobias, S.; Rajic, I.; Vánji, A. (1992). *Acta Veterinaria Hungarica*, 40: 47-54.

Trenholm, H.L.; Cochrane, W.P.; Cohen, H.; Elliot, J.I.; Farnworth, E.R.; Friend, D.W.; Hamilton, R.M.G.; Stish, J.F.; Thompson, B.K. (1983). *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 66: 92-97.

Tucker, T.L. y Hamilton, P.B. (1971). *Poultry Science*, 50:1637.

Ueno, Y. (1977). "Trichothecenes: Overview Address" in *Mycotoxins in Human Animal Health*. J.V Rodricks, C.W.Hesseltine, M.A. Melhman (Eds.). Pathotox Publishers, Inc, Park Forest South, IL.; pp. 187-207.

Upadhaya, S.D.; Park, M.A.; Ha, J.K. (2010). *Journal of Animal Science*, 23(9): 1250-1260

Van Egmond, H.P., 1989. "Aflatoxin M1: Occurrence, Toxicity, Regulation" in *Mycotoxins in Dairy Products*. Hans P. Van Egmond (Ed.) Elsevier Applied Science, London and New York. Chapter 2, pp.11-55.

Van Egmond, H.P. (1999). "Worldwide Regulations for Mycotoxins". Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxins (MYC-CONF/99/8a). Tunis, Tunisia 3-6 March, 1999. pp. 1-8. En Internet: <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/Economic/ESN/mycoto/mycoto-s.htm> (Consultado en 29-09-2008).

Ványi, A.; Sályi, G.; Majorros, G.; Glávits, R.; Sándor, G.; Bagó, G. (1989). *Acta Veterinaria Hungarica*, 37: 327-333.

Varga, I. y Ványi, A. (1992). *International Journal for Parasitology*, 22: 523-525.

Verma, R.J. y Mathew, S. (1998). *Indian Journal of Experimental Biology*, 36: pp.424-425.

Veterinary News (1996). Cooperative Extension, College of Agricultural Sciences. The Pennsylvania State University, 115 William L. Henning Building. University Park, PA 16802. May 19-23. 5th International Symposium on Poisonous Plants. San Angelo, Texas. pp. 1-21

Visconti, A.; Boenke, A.; Bruno D.M.; Solfrizzo, M.; Pascale, M. (1995). *Natural Toxins*, 3: pp.269-274.

Weibking, T.S.; Ledoux, D.R.; Bermudez, A.J.; Turk, J.R.; Rottinghaus, G.E. (1993). *Poultry Science*, 72: 456-466.

Weibking, T.S.; Ledoux, D.R.; Brwon, T.P.; Rottinghaus, G.E. (1993). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 5: 75-83.

Weibking, T.S.; Ledoux, D.R.; Bermudez, A.J.; Rottinghaus, G.E. (1994). *Poultry Science*, 73: 1517-1525.

WHO (World Health Organization). (2002). "Evaluation of Certain Mycotoxins in Food". Fifty-sixth report of the Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 906. Geneva, pp. 1-62

Whitlow, L. M.; Nebel, R.L.; Behlow, R.F.; Hagler, W.M.; Brownie, C.F.-G. (1986). *Journal of Dairy Science*, 69 (Suppl. 1):223.(Abstr.)

Whitlow, L. W.; W. M. Hagler, W.M. (1987). The association of productivity losses in dairy cows with deoxynivalenol. Page E1 in *Recent Developments in the Study of Mycotoxins*. Kaiser Chemicals, Cleveland, OH.

Wyatt, R.D.; Hamilton, P.B.; Burmeister, H.R. (1972). *Appl.Microbiol.*; 24: 251-257.

Wyatt, R.D.; Hamilton, P.B.; Burmeister, H.R.(1973). *Poultry Science*, 52: 1853- 1859

Xiao, H.; Marquardt, R.R.; Frohlich, A.A.; Phillips, G.D Vitti, T.G. (1991). *Journal of Animal Science*, 69: 3706-3714 and 3715-3723.

Yousef, A.E.; Marth, E.H. (1989). "Stability Degradation of Aflatoxin M1". In: Hans P.Van Egmond (Ed.), *Mycotoxins in Dairy Products*. Elsevier Science Publishing Co, INC, New York, pp. 127-161.

Young, L.G.; McGirr, L.; Valli, V.E.; Lumsden, J.H.; Lun, A. (1983). *Journal of Animal Science*, 57: 655-664.

Zoller, O.; Sager, F.; Zimmerli, B. (1994). *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*. 85: 81-99.

Zomborszky, M.K.; Vetési, F.; Repa, I.; Kovács, F.; Bata, A.; Horn, P.; Tóth, A.; Romvári, R. (2000). *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 47: 277-286.

Zomborszky, M.K.; Vetési, F.; Horn, P.; Repa, I.; Kovács, F. (2002). *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 49: 197-201.

AGRADECIMIENTOS

A los autores – Dr. Alberto Gimeno y Dra. Maria Lúgia Martins por la elaboración de los textos y la cesión de las fotografías.

Al Laboratorio AVIMEX de México, al Dr. Pedro Barreiros de PROVIMI de Portugal, a los Drs. Horacio Lopez Bonilla y Ruben Ribera (Laboratorio Avimex de México) y al Dr. Douglas Zaviezo (Special Nutrients) por la cesión de algunas fotografías.

SPECIAL NUTRIENTS, INC
2766 SW Douglas Rd.
Miami, Florida 33133 USA

NOTA

Algunas de las fotografías que aparecen en la portada fueron obtenidas gracias a:

USDA(United States Department of Agriculture), ARS (Agricultural Research Service), IS Photo Unit. Las de cerdos (k9441-1; autor: ScottBauer), pollitos (k3627-16; autor: Keith Weller), pavos (k7038-4; autor: Scott Bauer).

USDA (United States department of Agriculture) Photography Center. La de humanos (03cn0716-19a; autor: Ken Hammond).

Prof. Catedrático, Dr. Fernando Bernardo (Facultad de Medicina Veterinaria de Lisboa, Portugal). La de conejos.

MYCO-AD[®]

MYCOAD A-Z[®]

MYCO-AD^{DF}

**El especialistas en Micotoxinas
por
25
años**



SPECIAL NUTRIENTS, INC.
El especialista en micotoxinas

2766 Douglas Road
Miami Florida 33133 USA
Tel (305) 857 9830
Fax (305) 857 6973
worldwide@specialnutrients.com

