Micotoxinas en Ingredientes para Alimento Balanceado de Aves

Carlos Augusto Mallmann[1], Paulo Dilkin[2], Leandro Zanini Giacomini[3],
Ricardo Hummes Rauber[3], Cristiano Emanuelli Pereira[4]
UFSM
Brasil
mallmann@lamic.ufsm.br

1 Prof. Titular, Dr. del Departamento de Medicina Veterinaria Preventiva de la Universidad Federal de Santa Maria, Coordinador del Laboratorio de Análisis Micotoxicológicas (LAMIC). mallmann@lamic.ufsm.br. Prédio 44, 4º andar, Ala Norte. Santa Maria – RS. CEP: 97.015-001. Teléfono/Fax: +55 55 3220 8445.
2 Profesor, Dr., investigador LAMIC/UFSM.
3 Médico Veterinario, MSc, Investigador LAMIC/UFSM.
4 Médico Veterinario, Maestrando, Investigador LAMIC/UFSM.

FACTORES QUE INTERFIEREN EN LA PRODUCCIÓN DE MICOTOXINAS

Micotoxinas son substancias tóxicas resultantes del metabolismo secundario de diferentes cepas de hongos filamentosos. Son compuestos orgánicos, de bajo peso molecular y no poseen inmunogenicidad. En climas tropicales y subtropicales, el desarrollo fúngico se ve favorecido por factores como excelentes condiciones de humedad y temperatura. Los hongos crecen y proliferan bien en cereales, principalmente en cacahuetes o maníes, maíz, trigo, cebada, sorgo y arroz, en los que generalmente encuentran un substrato altamente nutritivo para su desarrollo. El crecimiento fúngico y la producción de micotoxinas en cereales pueden ocurrir en las diversas fases del desarrollo, maduración, cosecha, transporte, procesamiento o almacenamiento de los granos. Por eso, la reducción de la humedad de los cereales a través del secado es de fundamental importancia para reducir los niveles de contaminación. Más de 400 micotoxinas, conocidas en la actualidad son producidas por aproximadamente una centena de hongos. Se puede dividir a las principales micotoxinas en tres grupos: las aflatoxinas, producidas por hongos del género *Aspergillus* como A. *flavus* y *parasiticus*; las ocratoxinas, producidas por el *Aspergillus ochraceus* y diversas especies del género *penicillium*; y las fusariotoxinas, que poseen como principales representantes los tricotecenos, la zearalenona y las fumonisinas, producidas por diversas especies del género *Fusarium* (Pinto & Vaamonde, 1996). La formación de micotoxinas depende de una serie de factores (Figura 1), como la humedad, temperatura, presencia de Oxígeno, tiempo para el crecimiento fúngico, constitución del substrato, lesiones a la integridad de los granos causadas por insectos o daño mecánico/térmico, cantidad de inóculo fúngico, así como la interacción/competencia entre las líneas fúngicas. Las características genéticas representan un factor cada vez más decisivo en la solución del problema. Esta gama de factores demuestra que el control de los mismos, en el sentido de prevención, muchas veces resulta muy difícil. Por ejemplo, las condiciones climáticas brasileñas en el período de cosecha de los cereales, en función del régimen pluviométrico, no favorecen el secado de los granos, especialmente del maíz.

Figura 1 – FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRODUCCIÓN DE LAS MICOTOXINAS

Micotoxinas en Ingredientes para Alimento Balanceado de Aves

El sistema de secado y almacenamiento existente también contribuye para la evolución del problema en nuestras condiciones. La temperatura de la masa de granos en el interior de los silos en muchos casos supera los 18°C recomendados, permitiendo un crecimiento fúngico intenso, especialmente por la deficiente aireación de la mayoría de las unidades almacenadoras que, incluso existiendo, debido al exceso y mala distribución de las impurezas no son efectivas en el control de los puntos de calor en la masa de granos.

Esta y muchas otras razones explican el alto predominio de micotoxinas como contaminantes habituales de los cereales en Brasil y en países con un clima similar.

Cuando se ingieren micotoxinas, los diferentes efectos se deben a las diferentes estructuras químicas de estas substancias. También influye que sean ingeridas por diferentes organismos animales superiores y también por una diversidad de especies, raza, sexo, edad, factores ambientales, manejo, condiciones nutricionales y otras substancias químicas. La micotoxicosis implica enormes pérdidas de orden económico, sanitario y comercial, principalmente por sus propiedades anabolizantes, estrogénicas, carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas (Hayes & Campbell, 1986). Sin embargo, el mayor problema de las micotoxicosis se atribuye a los daños relacionados con los diversos órganos y sistemas de los animales, implicando la reducción del rendimiento productivo de los mismos. Las manifestaciones agudas ocurren cuando los individuos consumen dosis moderadas a altas de micotoxinas. Pueden aparecer signos clínicos y un cuadro patológico específico, dependiendo de la micotoxina ingerida, de la susceptibilidad de la especie, de las condiciones individuales del organismo y de la interacción o no con otros factores. Las lesiones dependerán de cada micotoxina, siendo las más encontradas, hepatitis, hemorragias, nefritis, necrosis de las mucosas digestivas y finalmente, muerte. La micotoxicosis crónica es la más frecuente, ocurre cuando existe un consumo de dosis moderadas a bajas. En estos casos, los animales presentan un cuadro que se caracteriza por la reducción de la eficiencia reproductiva, peor conversión alimenticia, reducción de la tasa de crecimiento y de la ganancia de peso. Este cuadro solamente se detecta mediante cuidados especiales o a través de un programa de análisis de micotoxinas presentes en la alimentación. Los signos clínicos aun pueden confundirse con deficiencias de manejo, otras enfermedades, inclusive las resultantes de esta micotoxicosis o con deficiencias nutricionales.

2. PRINCIPALES MICOTOXINAS DE INTERÉS EN LA AVICULTURA

En la Tabla 1 se listan las micotoxinas con mayor impacto en la producción avícola, así como los hongos que producen cada una de ellas y las condiciones que favorecen la formación de estos compuestos.

Tabla 1 - Principales micotoxinas, hongos productores, alimentos más contaminados y condiciones en que ocurren en la avicultura.

Micotoxina	Hongos que más producen	Alimentos más propensos a la contaminación	Factor desencadenante de la contaminación
Aflatoxinas	*Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*	Cacahuetes, castañas, nueces, maíz y cereales en general	Almacenamiento en condiciones inadecuadas
Ácido Ciclopiazónico	*Aspergillus flavus*	Maíz y cacahuetes	Almacenamiento en condiciones inadecuadas
Tricotecenos	*Fusarium sp.*	Maíz y cereales de invierno	Temperatura baja, alta humedad y problemas de almacenamiento
Fumonisinas	*Fusarium sp.*	Maíz y cereales de invierno	Estación seca seguida de alta humedad y temperaturas moderadas
Ocratoxina A	*Aspergillus ochraceus* y *Penicilium sp*	Maíz, café y granos almacenados	Deficiencias en el almacenamiento

2.1 Aflatoxinas

Aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos del género *Aspergillus*, sobretodo A. *flavus* y A. *parasiticus*. Fueron descubiertas en la década de 1960, luego de provocar un brote (*Turkey* X *disease*) altamente letal en pavos en Inglaterra. En dicho brote, miles de aves murieron después de consumir alimento balanceado conteniendo torta de cacahuetes. El principal hongo encontrado en la torta de cacahuetes fue el *Aspergillus flavus*, dándole el nombre a esta toxina.

En brotes de aflatoxicosis, una de las características más destacadas es la mala absorción de alimento que se manifiesta por la presencia de partículas mal digeridas de alimento balanceado en las excretas de las aves, fenómeno asociado con esteatorrea o aumento de la excreción de lípidos. La esteatorrea presente en la aflatoxicosis puede ser severa, con incremento de hasta diez veces del contenido de grasa en las heces. En pollos de engorde, la esteatorrea está acompañada por una reducción en las actividades específicas y totales de la lipasa pancreática, principal enzima digestiva de las grasas y por la reducción de las sales biliares necesarias tanto para la digestión como para la absorción de grasas, llevando a esteatosis hepática (hígado graso). Palidez de las mucosas y patas se observan también en pollos y ponedoras que reciben alimento balanceado contaminado con aflatoxinas. Esta pigmentación deficiente parece resultar de la menor absorción, reducción en el transporte y deposición tecidual de los carotenoides de la dieta, siendo la aflatoxicosis identificada como "síndrome del ave pálida".

La sensibilidad a los efectos tóxicos de las aflatoxinas varía considerablemente entre las especies animales. Inclusive entre individuos de una misma especie, la relación dosis-respuesta puede variar de acuerdo con raza, sexo, edad y composición de la dieta, entre otros factores. Para muchas especies, los machos son más susceptibles que las hembras, mientras que en general, la sensibilidad es acentuadamente mayor en los jóvenes que en los adultos (Leeson et al., 1995).

2.1.1. Efecto de las aflatoxinas sobre la postura

El diagnóstico de los trastornos causados por las aflatoxinas sobre la producción de huevos es posible solamente luego de algunos días o semanas. La presencia de folículos preovulatorios, formados antes del consumo de la micotoxina en el tracto reproductivo de las aves, justifica la respuesta tardía. La reducción de la

producción de huevos está precedida por la reducción en los niveles sanguíneos de proteínas y lípidos. Ponedoras que consumen una dieta conteniendo 5 ppm de aflatoxinas durante 4 semanas, pueden presentar reducción en la producción de huevos a partir del octavo día, llegando a una reducción de la producción del orden del 35% una semana luego de la retirada de la micotoxina de la dieta (Rosa et al., 2001).

Además de la merma en la producción de huevos, la aflatoxicosis también induce a la reducción del tamaño de los huevos, así como a la reducción proporcional en el tamaño de las yemas, debido a los daños causados en la síntesis proteica y lipídica. A pesar de ello, la deposición de calcio en la cáscara de los huevos en sí misma no se ve afectada. La resistencia de la cáscara aumenta cuando las aves consumen aflatoxinas ya que la reducción en la cáscara de esos huevos no tiene la misma proporción que la reducción que ocurre en la clara y en la yema. Este aumento del espesor de la cáscara puede afectar la eclosionabilidad debido a la reducción de los intercambios gaseosos entre el embrión y el ambiente.

La mortalidad embrionaria en huevos de reproductoras intoxicadas con aflatoxinas ocurre porque estas substancias, luego de ser biotransformadas en el hígado tienen como uno de los principales metabolitos la aflatoxina M1 que es eliminada del organismo a través de la yema. Además, la propia aflatoxina B1 y el aflatoxicol también se pueden encontrar en la yema a partir de las 24 horas posteriores a la ingestión de aflatoxinas.

En casos de aflatoxicosis, los picos de mortalidad embrionaria ocurren en el tercio final de la incubación, pues los metabolitos de las aflatoxinas están concentrados en la yema, la que es utilizada por el embrión como fuente energética en este período del proceso de incubación.

2.1.2. Efecto de las aflatoxinas sobre la producción *de pavos*

En los últimos años, Brasil ha logrado un considerable aumento en la producción y exportación de carnes y subproductos de aves que no son de pollo. En este contexto, tiene gran importancia la producción de pavos que en los últimos 6 años (2000 – 2005) tuvo un incremento del 140% (UBA, 2006). Era de conocimiento general que los pavos eran más sensibles a los efectos de las aflatoxinas que los pollos de engorde, sin que por otra parte se conociera el impacto real de estas micotoxinas en el desarrollo de dichas aves.

Estudios realizados en el LAMIC/UFSM demostraron que, durante los primeros 42 días, los pavos presentan una sensibilidad a la intoxicación por aflatoxinas cerca de 4 a 6 veces mayor que los pollos (Rauber, 2006). En ese estudio, se alimentó a los pavos con dietas conteniendo de 0 a 1000 ppb de aflatoxinas (divididos en 7 grupos), siendo que el grupo que recibió la mayor dosis presentó una ganancia de peso aproximadamente 38% inferior al grupo control (Tabla 2). Otro dato importante está relacionado con la mortalidad que fue del 37%, mientras que en el grupo control no hubo mortalidad. La evolución de la ganancia de peso en los animales intoxicados de los diferentes grupos es inversamente proporcional a la dosis de aflatoxinas presente en la dieta (R= –0,84 y P=0,00; Peso42= 2.298,9 – 0,87*ppb de aflatoxinas). Comparativamente, pollos de engorde alimentados con 3000 ppb de aflatoxinas durante 42 días, presentaron una reducción del 27% en la ganancia de peso (Giacomini et al., 2006).

Tabla 2 - Peso promedio de pavos de engorde intoxicados con aflatoxinas en diferentes concentraciones durante 42 dís.

Aflatoxinas (ppb)	Peso 21 días[1] (CV)[2]	Peso 42 días[1] (CV)[2]
0	676,85[ab] (7,3)	2.239,90[a] (6,2)
20	686,65[a] (8,2)	2.281,75[a] (5,9)
50	696,55[a] (6,5)	2.270,00[a] (6,8)
100	671,31[ab] (7,1)	2.253,54[a] (5,1)
200	639,67[b] (10,2)	2.092,05[b] (7,3)
500	566,79[c] (13,0)	1.916,09[c] (10,0)
1000	414,25[d] (12,1)	1.378,09[d] (14,5)

a – d *Promedios en las columnas con letras diferentes, difieren* estadísticamente *por la prueba de Bonferroni* (Pd"0,05);
1 *Peso promedio de las aves* (g);
2 *CV= Coeficiente de* Variación (%).

2.1.3. Impacto de las aflatoxinas en el rendimiento de diferentes líneas genéticas *de pollos de engorde*

Estudios recientes (Giacomini et al., 2006; Mallmann et al., 2006) demostraron que existen grados de susceptibilidad individual entre animales de la misma especie y del mismo sexo frente a la intoxicación por aflatoxinas. Mariani, (1998) comprobó la diferencia de susceptibilidad de pollos de engorde a las aflatoxinas según la edad de estas aves, indicando que aves más jóvenes presentan mayores daños en su desarrollo en comparación con las aves de más edad. Además de estas comprobaciones, existe en el medio científico e industrial la suposición de que las diferentes líneas genéticas comerciales de pollos de engorde disponibles en el mercado nacional e internacional pueden presentar diferencias en lo que respecta a la resistencia a las aflatoxinas presentes en los alimentos ingeridos por estas aves. Basándose en ello, en el LAMIC se desarrolló un experimento que comprobó que de hecho sí existen diferencias de rendimiento entre las tres principales líneas pollos de engorde utilizadas en Brasil, cuando se las alimenta con alimento balanceado contaminado con aflatoxinas (Tabla 3).

TABLA 3 - Disminución relativa de peso (DRP) de pollos de engorde de tres líneas comerciales (X, Y y Z), intoxicados con 3 ppm de aflatoxinas de 1 a 42 días de edad.

Lin[1]	7 días		14 días		21 días		28 días		35 días		42 días	
	DRP[2,3]	CV[4]	DRP[2,3]	CV[4]	DRP[2,3]	CV[4]	DRP[2,3]	CV[4]	DRP[2,3]	CV[4]	DRP[2,3]	CV[4]
X	2,5[a]	10,1	19,6[ab]	15,0	27,3[ab]	15,5	24,3[b]	13,0	23,0[b]	12,8	19,8[b]	12,8
Y	4,3[a]	12,6	22,4[a]	17,5	29,8[a]	19,0	29,5[a]	19,1	27,9[a]	18,2	24,7[a]	17,1
Z	3,7[a]	8,0	17,4[b]	9,7	25,8[b]	10,5	25,8[b]	12,6	21,3[b]	11,7	19,8[b]	10,7

1 *Lin*= Línea *utilizada*
2 *DRP*= Disminución *Relativa de Peso* (%), *diferencia de peso entre los animales intoxicados* y *no intoxicados de la misma* línea.
3 *Promedios en la misma columna con letras diferentes difieren significativamente por la prueba de Tukey* (Pd"0,05).
4 *CV= Coeficiente de* Variación *referente* a *los pesos absolutos de las aves intoxicadas* (%).

La línea Y, a partir de los 14 días y hasta los 42 días, presentó reducción relativa de peso significativamente superior a por lo menos una de las otras líneas utilizadas en este experimento. Además de las diferencias en las pérdidas, otro dato importante es el coeficiente de variación (CV) de los pesos de las aves en los grupos intoxicados, siendo que la línea Y presentó el mayor CV entre las líneas evaluadas en todos los períodos. Este resultado indica que lotes de aves de esta línea presentan mayor falta de uniformidad cuando alimentados con dietas conteniendo aflatoxinas.

2.2. ÁCIDO CICLOPIAZÓNICO

Además de producir las aflatoxinas, algunas cepas de *Aspergillus flavus* también producen Ácido Ciclopiazónico (CPA). Se ha asociado este ácido con algunos signos clínicos presentados por las aves en el primer cuadro de aflatoxicosis descrito (Turkey X disease). No obstante, los análisis de las muestras de dicho episodio indicaron la presencia de esta micotoxina (Kuilman-Wahls, 2002; Hoerr, 2003). El CPA ocurre naturalmente en el maíz y en los cacahuetes y, generalmente, su presencia está asociada a la existencia de aflatoxinas (Vaamonde, 2003).

Los principales signos clínicos de la intoxicación por CPA incluyen la merma de la ganancia de peso, vómitos y signos neurológicos (opistótono, hiperestesia y convulsión) siendo generalmente fatales. Lesiones incluyen degeneración y necrosis hepática, lesiones hemorrágicas en el miocardio, proventrículo, molleja y bazo (Kuilman-Wahls, 2002; Hoerr, 2003). Entre las lesiones citadas, la que mas se nota son las erosiones en la molleja de las aves intoxicadas (Hoerr, 2003).

2.3. TRICOTECENOS

Las principales micotoxinas del grupo de los tricotecenos abarcan la Toxina T-2, Deoxinivalenol (DON o vomitoxina) y Diacetoxiscirpenol (DAS), producidas por hongos de diversos géneros, principalmente *Fusarium* (Leeson et al., 1995).

Intoxicaciones crónicas involucrando toxina T-2 o DAS inducen a una reducción del consumo de alimento balanceado y ganancia de peso, lesiones orales, necrosis de los tejidos linfoide, hematopoyético y mucosa oral, con eventuales trastornos nerviosos (posición anormal de las alas, reducción de reflejos), emplume anormal y reducción del espesor de la cáscara de los huevos. Particularmente en ponedoras, las lesiones orales se producen en aproximadamente el 50% de los lotes o parvadas cuando se alimenta a estas aves con alimento balanceado conteniendo 2 ppm de toxina T-2. Sin embargo, la toxina T-2 presenta alta toxicidad para macrófagos de pollos, inhibiendo su capacidad fagocitaria. Esta toxina también induce la formación de peróxidos a partir de los lípidos, acarreando la disminución de la concentración de vitamina E en las aves.

Otras aves, como pavos y gansos, son más sensibles a la toxina T-2 que los pollos de engorde. En gansos a partir de 0,1 mg/kg de peso vivo ocurre el descenso en la producción de huevos, y los niveles de postura y eclosionabilidad disminuyen el 50%, cuando se administran 300 mg de toxina T-2/kg de peso vivo.

Las micotoxinas T-2 y DAS producen lesiones orales en pollos de engorde cuando presentes en niveles a partir de 1 ppm en el alimento balanceado. Las aves presentan reducción del consumo alimentario, retardo en el crecimiento, alteraciones en el cuadro sanguíneo y neurotoxicidad. También se observan lesiones orales en pavitos alimentados con alimento balanceado conteniendo concentraciones de 5 ppm de la toxina T-2 y reducción de ganancia de peso con 10 ppm de la misma micotoxina. En una comparación directa, se concluyó que los pavitos son más sensibles que los pollos de engorde. No obstante lo dicho anteriormente, los gansos también son muy sensibles a la toxina T-2, pudiendo resultar letal si está presente en concentraciones superiores a 3 ppm.

Alimento balanceado contaminado con DAS causa merma de la producción de huevos, coincidiendo con descenso en el consumo de alimento balanceado y surgimiento de lesiones orales, siendo tales resultados más pronunciados en las líneas ligeras, persistiendo por hasta dos semanas luego del término de la ingestión de la toxina y sugiriendo que es necesario un período de reposición nutricional para la recuperación del ave. La disminución del consumo de alimento balanceado puede estar relacionada con las lesiones orales causadas por la toxina, siendo encontradas tanto en machos como en hembras y su presencia es rápidamente detectada por las aves, ocasionando aumento en el tiempo de consumo en reproductoras. También es posible observar una reducción del consumo de alimento balanceado en contaminaciones por toxina T-2 (Brake et al., 2002).

Los efectos de los tricotecenos en pollos y reproductoras incluyen rechazo súbito de alimento balanceado, pérdida de peso y lesiones orales, merma la producción de huevos y reducción de la calidad de la cáscara, con aumento en los porcentajes de mortalidad embrionaria y disminución de la eclosión (Yegani et al., 2006).

También los machos son afectados por alimentos contaminados por Tricotecenos, produciéndose una reducción de la fertilidad y del volumen espermático (Brake et al., 1999).

Las lesiones orales resultantes de la intoxicación por DAS se traducen en necrosis de la punta de la lengua, generalmente en reproductoras y ponedoras comerciales. A pesar de ello, estas lesiones pueden también aparecer en pollos de engorde. Por otro lado, las lesiones encontradas en casos de intoxicación por la Toxina T-2, comúnmente son erosiones y/o ulceraciones en el paladar y en el espesor del pico de las

aves intoxicadas. Estas lesiones se pueden observar tanto en aves ponedoras (reproductoras y comerciales), como en pollos de engorde.

Estudios similares realizados con DON, por otra parte, han aclarado que con excepción de una reducción transitoria en los niveles de hemoglobina, o un levísimo efecto en la calidad del huevo, no hay evidencia significativa de que esta toxina afecte el rendimiento de las aves. Las aves son capaces de tolerar concentraciones relativamente altas de DON en la dieta y un poco menos en relación a la toxina T-2 y DAS. Los niveles de DON normalmente encontrados en alimentos contaminados (0,35 a 8,0 ppm), no presentan signos de algún problema sanitario perceptible en pollos. Se administraron concentraciones de DON superiores a 82,8 ppm a ponedoras por 27 días sin ningún efecto sobre el rendimiento y sin que las aves presentaran lesiones. Otros estudios describieron lesiones muy leves y merma en la calidad de los huevos de aves que recibieron 18 ppm de DON en la dieta.

Los tricotecenos generalmente no inducen a un aumento de la mortalidad en aves que no sean pollos, requiriendo niveles de varias centenas de partes por millón para acarrear una mortalidad significativa. De igual manera, en brotes de toxicosis atribuidos a la toxina T-2 que afectaron patos domésticos, gansos, equinos y cerdos, solamente fue observada mortalidad en gansos, lo que indicaría una gran sensibilidad a la toxina por parte de estas aves.

2.4. Fumonisinas

Las fumonisinas, un grupo de decenas de micotoxinas, son producidas por hongos de los géneros *Alternaria* y *Fusarium*, principalmente por el F. *moniliforme*. Las fumonisinas con mayor incidencia e importancia toxicológica son la B1 y la B2.

Los niveles de contaminación en diferentes partes del mundo están normalmente por debajo de los 5 ppm, y cerca de un tercio de las muestras analizadas están contaminadas. Los análisis realizados en los últimos 11 años en el LAMIC (1996 – 2007) constataron que cerca del 41% de las muestras de maíz y el 44% de las muestras de alimento balanceado están contaminadas por fumonisinas.

Algunos trabajos indican que los niveles tóxicos de fumonisina están por encima de 80 ppm. Otros investigadores realizaron experimentos con dosis más altas de fumonisina (61 a 546 ppm) y encontraron efectos nocivos de esta toxina sobre el rendimiento de los pollos de engorde. Sin embargo, estudios realizados por el Laboratorio de Análisis Micotoxicológicos – LAMIC comprobaron que dosis inferiores a 50 ppm de fumonisina B1 impactan negativamente el peso de pollos de engorde de hasta 21 días, representando pérdidas del 4%. Niveles de 100 ppm determinaron pérdidas del 12% al 21% en la ganancia de peso a los 21 días. Estas pérdidas a nivel de campo pueden ser aun mayores, una vez que en condiciones experimentales el efecto de las micotoxinas es generalmente atenuado por la eliminación de factores estresantes.

Otro factor importante que se debe considerar en lo tocante a las fumonisinas, es que los hongos que producen estas micotoxinas producen una serie de otros compuestos toxígenos. Estas substancias pueden estar presentes en la alimentación de las aves y determinar pérdidas de rendimiento aún más significativas.

En las aves intoxicadas por fumonisinas, los signos clínicos generalmente incluyen: menor ganancia de peso, mortalidad, diarrea, ascitis, hidropericarditis y palidez del miocardio, edema y congestión renal, ulceración en la mucosa oral en pavos, aumento en el peso relativo de hígado, proventrículo y molleja (Hoerr, 2003).

La intoxicación con fumonisina puede monitorearse por medio de parámetros sanguíneos. Ocurre alteración en la relación entre los niveles circulantes de esfingosina y esfinganina, que son precursores de los esfingolípidos cuando está presente la intoxicación por fumonisinas.

2.5. Ocratoxina A

La Ocratoxina A (OTA) fue originalmente aislada como un metabolito tóxico de *Aspergillus ochraceus*. Entretanto, esta micotoxina es producida por seis especies adicionales de *Aspergillus* y un número similar de especies de *Penicillium* (Huff & Doerr, 1981).

Esta micotoxina es tres veces más tóxica que la aflatoxina en pollos y es, en primer lugar, una nefrotoxina. Durante un cuadro de ocratoxicosis, el riñón aumenta de tamaño y pierde el color debido a la acumulación de ácido úrico (Huff & Doerr, 1981).

Estudios con pollos alimentados con alimento balanceado contaminado con aflatoxina, OTA, y con ambas, demostraron el efecto sinérgico de las mismas, observándose que el peso corporal fue significativamente inferior en las aves alimentadas con ambas micotoxinas entre las 2 y 3 semanas de edad. Las micotoxinas individualmente redujeron la ganancia de peso en el 12% cada una, mientras que su combinación disminuyó en el 40% la ganancia de peso (Huff & Doerr, 1981).

Interacciones sinérgicas entre aflatoxina y OTA (Huff & Doer, 1981; Huff et al., 1983) entre OTA y toxina T-2 (Huff et al., 1988) y una interacción antagónica entre OTA y DAS (Kubena et al., 1994) se observaron en estudios con pollos de engorde.

La toxicidad de la OTA se expresó en la disminución de la ganancia de peso y en alteraciones en el peso relativo de páncreas, riñón, proventrículo y en la bioquímica sérica al final de la segunda semana de un experimento con OTA y CPA. La reducción de la ganancia de peso fue del 19,3% en relación con el grupo control cuando se alimentó a las aves con alimento balanceado conteniendo apenas OTA, y del 17,6% cuando contaminada con CPA. A interacción entre OTA y CPA causó una disminución del 31% en la ganancia de peso (Gentles et al., 1999).

En este mismo estudio, la OTA causó aumento del peso relativo del riñón, el CPA causó aumento del peso relativo del proventrículo, mientras que la interacción OTA y CPA causó aumento del peso relativo del proventrículo, páncreas, riñón e hígado.

Se encontraron efectos perjudiciales en los riñones como resultado de la acción nefrotóxica de la OTA. Fue observada degeneración y alteraciones estructurales en el epitelio tubular renal, con efectos más severos ocurriendo en los túbulos proximales (Gentles et al., 1999).

La OTA aumentó significativamente el ácido úrico sérico y los triglicéridos, pero redujo la proteína total, la albúmina y la concentración de colesterol, indicando que la baja concentración de proteína podría deberse a la reducción de la síntesis proteica hepática (Gentles et al., 1999).

Pollos alimentados con alimento balanceado contaminado con Fumonisina B1 (FB1) y OTA presentaron reducción en la ganancia de peso al final de la primera y segunda semana de vida, cuando comparados a pollos alimentados con la dieta control. El peso relativo del hígado aumentó significativamente y el peso del bazo disminuyó, tanto cuando los pollos fueron alimentados con FB1 u OTA, como cuando lo fueron con la combinación de ambas. La concentración sérica de triglicéridos aumentó cuando se alimentó a los pollos con OTA en la dieta (Kubena et al., 1997).

Hamilton et al. (1982) observaron que la ocurrencia de intoxicación por OTA causa reducción de la producción de huevos y empeora la calidad de la cáscara en ponedoras.

2.6. Toxinas más importantes en Brasil

Se observa en la Tabla 4 las micotoxinas de más predominantes en Brasil.

TABLA 4 - Principales micotoxinas encontradas en Brasil.

Micotoxina	Muestras analizadas	Positividad (%)	Promedio (ppb)
Aflatoxinas	82.452	40,8	11,8
Zearalenona	69.417	16,6	43,4
Ocratoxina A	19.730	2,9	0,6
Deoxinivalenol	15.348	39,4	233,7
Fumonisinas	14.162	53,4	1.073,2
Toxina T2	10.952	1,3	13,9
Diacetoxiscirpenol	747	6,0	9,5
3-DON	148	2,0	1,6
15-DON	135	3,1	1,6

A través de los resultados de contaminación y positividad presentados en la Tabla 4, podemos concluir que las micotoxinas de mayor importancia para la producción avícola en el territorio brasileño son las aflatoxinas, seguidas por las fumonisinas y el deoxinivalenol. Para estas tres micotoxinas, la positividad supera el 40%, o sea, poco menos de la mitad de todos los alimentos analizados en Brasil presentan contaminación debido a estos contaminantes. Además, la contaminación promedio observada también es elevada si consideramos las informaciones presentadas a continuación en la Tabla 5.

2.7. Limites máximos de micotoxinas recomendados para aves de producción

Con base en los experimentos *in vivo* realizados en el LAMIC y en la ocurrencia de las micotoxinas evidenciada en los últimos años en las más de 80 mil muestras de materias primas y alimentos enviados al LAMIC, se estableció una recomendación con relación a los limites de seguridad de micotoxinas para aves de producción. Estos límites se presentan en la Tabla 5.

TABLA 5 - Límites de seguridad de micotoxinas (ppb) recomendados para aves de producción.

	Afla	FB	DON	T-2	DAS
Pollos de engorde Fase Inicial	0	100	200	0	0
Pollos de engorde Fase Crecimiento	2	500	500	50	200
Pollos de engorde Fase Final	5	500	1000	50	200
Ponedoras Comerciales	10	1000	1000	100	500
Reproductoras	10	1000	1000	100	500

3. CONTROL Y GESTIÓN DE LAS MICOTOXINAS

El control y la gestión de las micotoxinas implican un proceso que posee una serie de actividades críticas. Todo comienza con la definición de un programa de monitoreo. Esto implica la definición del proceso de muestreo, pasa por una gama de análisis y controles y termina por la toma de una decisión. Esta debe considerar el uso seguro de la dieta en la que el riesgo de intoxicación por micotoxinas pueda minimizarse y que el costo/beneficio sea exactamente cuantificado, permitiendo la maximización de la productividad del rebaño.

Teóricamente, el plan de muestras debe tener en cuenta algunos aspectos básicos, como:

- ¿Cuál es la probabilidad de que un lote con una determinada concentración de micotoxinas sea aceptado o rechazado?
- ¿Cuál es el porcentaje de errores en la clasificación de lotes?
- La concentración de una determinada toxina en un lote aceptado o rechazado.
- ¿Cuál es el costo del programa de muestreo?

3.1. Planificación de un programa de análisis de micotoxinas

Esta planificación requiere el conocimiento de las características de la distribución de las micotoxinas. Los trabajos de Whitaker et al. (1974) sobre la distribución de los resultados de los análisis de micotoxinas en lotes son muy importantes. En dichos trabajos, el conocimiento de curvas operativas y de la forma de interferir en la reducción del riesgo de muestreo son premisas fundamentales.

La forma más práctica encontrada en nuestras condiciones para la reducción del risco de muestreo y, al mismo tiempo, asumiendo un compromiso entre costo/beneficio, se define en la Figura 2. El programa de muestreo empleado en la mayoría de las industrias atendidas por el LAMIC es el recomendado por la Comisión de normas de la UE (Amtsblatt der Europäische Gemeinschaften N L 102/1, TEIL II, 1976 y Futtermittelrecht mit Typenliste fur Einzel - und Mischfuttermitteln, 1994) y estandarizado posteriormente por la ISO 6497:2002. Se hicieron adaptaciones técnicas para ajustarse a las dimensiones de la industria de procesamiento para hacer siempre el muestreo de las materias primas luego de su molienda, posibilitando mejor capacidad de ejecución y representatividad. La toma de muestras se debe hacer cuando el material se encuentra en movimiento y está molido, llevándose a cabo en intervalos de tiempo preestablecidos, dependiendo de la cantidad de toneladas producidas por turno de producción. Por consiguiente, una fábrica de alimentos que produzca 100 T/día, hará un muestreo colectivo mínimo de 44,7 kg de material molido, según la ecuación $\sqrt{20xT}$. Este material se tomará mejor y se hará un muestreo más dinámico empleando el sistema "Agujero en la Rosca", mediante el que se obtiene una muestra constante del flujo del material previamente molido durante el procesamiento. De este material se deberá retirar una muestra de cómo mínimo 1 kg que se destinará al laboratorio. Los responsables por la toma del material preferentemente deberán siempre estar implicados en el proceso y evidentemente, estarán entrenados para dicha función. La participación de quien hace el muestreo es fundamental para la operatividad y el buen andamiento de un sistema de control de micotoxinas.

FIGURA 2 - Programa de Monitoreo y Control de Micotoxinas

El envío al laboratorio deberá ser lo más rápido posible y el material acondicionado en un embalaje resistente. Cuando se trate de lugares más alejados, se recomienda el uso de un servicio de transporte aéreo. Es importante que el tiempo de transporte no supere las 48 horas.

El análisis y principalmente la definición de qué micotoxinas deben entrar en un programa de control, solamente se podrán definir a través del conocimiento del predominio de las mismas en el área de origen del material que se empleará en la industria. En razón de la necesidad de la toma de decisiones rápidas en las agroindustrias, se recomienda que el análisis se haga los más rápidamente posible.

En la evaluación de los resultados es necesario inicialmente establecer los límites de confianza para el sistema de muestreo. El procedimiento habitual comienza con la toma de por lo menos 3 y como máximo 5 muestras por turno de producción. Los resultados son evaluados en toda su amplitud, para ajustar entonces el número mínimo de muestras que se analizarán. Después de un período inicial de aproximadamente 1 mes, es posible reducir el número de muestras de hasta 1 por día, dependiendo de la producción total y de la variabilidad de contaminación del cereal empleado.

3.2. Muestreo para investigación de micotoxinas

Para mejorar la representatividad del resultado del análisis de micotoxinas, se pueden tomar algunas medidas, como:

1. Muestreo con mayor peso de la muestra y número de puntos de muestreo;
2. Submuestreo con aumento del tamaño (peso) de la subamuestra o por la reducción del tamaño de las partículas por la molienda;
3. Análisis de un mayor número de muestras.

Es necesario adoptar algunos cuidados básicos para permitir un muestreo eficiente:

- Recolección de muestra representativa, siguiendo un plan de muestreo;
- La muestra se deberá tomar lo más próxima posible al lugar en que el animal intoxicado consumió el alimento (comederos);
- La toma de sangre y examen de órganos permite un análisis retrospectivo de algunas contaminaciones, principalmente en las situaciones en que el alimento no está más disponible. Algunas micotoxicosis como la causada por la ocratoxina A, son detectables en la sangre hasta 35 días luego de la ingestión de la toxina;
- Identificación del componente (o componentes) en la alimentación contaminada en los casos en que se detectan micotoxinas en el alimento balanceado formulado;

3.3 Diagnóstico de micotoxinas

Actualmente, la metodología más específica, precisa y confiable es la obtenida con el empleo de procesos químicos. Estos procedimientos podrán ser tanto la Cromatografía en Capa Delgada (TLC), como la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Recientemente, con el surgimiento del HPLC acoplado a la detección por Espectrometría de Masa (LC/MS y LC/MSMS) además de la Cromatografía Gaseosa acoplada a la MS (GC/MS), los sistemas diagnósticos tienden a ser cada vez más rápidos y precisos. Estas metodologías presentan resultados semejantes. Las pruebas de inmunoensayo podrán emplearse para la clasificación y en casos excepcionales, para la semicuantificación. El uso de las evaluaciones químicas sigue siendo la metodología internacionalmente más aceptada y recomendada para el diagnóstico de micotoxinas. El empleo de extracción en fase sólida trae avances, principalmente en la estandarización y automación de los análisis micotoxicológicas.

El sistema de análisis empleado en el monitoreo “on line” usa el HPLC en conjunto con metodologías automatizadas de extracción, purificación y derivación, así como sistemas de LC/MSMS.

3.4. Reducción de los efectos tóxicos de las micotoxinas mediante la utilización de Aditivos Anti-Micotoxinas (AAM)

Una vez que las micotoxinas estén formadas, cualquier esfuerzo para prevenir el crecimiento fúngico es inútil. Un método ampliamente utilizado para el control de las micotoxicosis es el uso de materiales nutricionalmente inertes en la dieta animal, con el propósito de disminuir la absorción de las micotoxinas

en el tracto gastrointestinal de las aves. Estas substancias eran llamadas adsorbentes de micotoxinas y actualmente son genéricamente denominadas Aditivos Anti-micotoxinas (AAM).

A pesar de que existen en el mercado brasilero un número significativo de productos, Mallmann et al. (2006) comprobaron que apenas el 50% de los productos AAM adecuadamente examinados, presentan potencial satisfactorio para utilización con esta finalidad. A pesar de que buena parte de los productos no se ajusta a las exigencias para la utilización como AAM, resta aún la incertidumbre de cuánto y cuándo utilizar un producto comprobadamente eficaz. Esta respuesta se obtiene a través del constante monitoreo de la producción de las fábricas de alimentos. De un modo general, se admite que todas las dietas para la fase pre-inicial deben tener en su formulación la inclusión de un AAM; las dietas preparadas para las demás fases deben tener en cuenta el Riesgo de Micotoxinas para la inclusión o no del AAM. Este índice (RM) considera la interacción entre la contaminación promedio de las muestras analizadas y el predominio promedio de cada micotoxina en estas muestras, lo que sirve de referencia para la toma de decisiones con relación a la utilización de los AAM.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La presencia de micotoxinas en las dietas suministradas a las aves puede determinar pérdidas considerables en el sistema de producción avícola brasileño. La presencia considerable de micotoxinas en los principales componentes de la dieta de aves determina que se adopte un programa continuo de control, basado en el uso de AAM (adsorbentes). Para la adopción de medidas de control, es necesario saber con exactitud la contaminación existente, haciendo imprescindible la implementación de un programa de monitoreo de materias primas y/o de los alimentos destinados al consumo.

El control futuro del problema de micotoxinas en la economía ganadera, depende de la implantación de políticas adecuadas en el ámbito del manejo agrícola, así como de los sistemas de almacenamiento que son la raíz del problema. Solamente políticas en estas áreas conllevarán resultados económicos duraderos para la avicultura.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMTSBLATT DER EUROPÄISCHE GEMEINSCHAFTEN. NL 102/1, Erste Richtlinie der Kommission zur Feststellung gemeinschaftlicher Probenahmeverfahren für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln (76/371/EWG) Teil II, 1. 03.1976. 35p.

AZEVÊDO, I. G.; GAMBALE, W.; CORRÊA, B. Mycoflora and aflatoxigenis species of *Aspergillus spp*. isolated from stored maize. **Rev. Microbiol.**, v. 25, n. 1, p. 40-50, 1994.

BERMUDEZ, A. J. et al. The cronic effects of *Fusarium moniliforme* culture material containig know levels of fumonisin B1 in turkeys. **Avian Disease**, v. 40, p. 231-235, 1996.

BRYDEN, W. L.; LOVE, R. J.; BURGUSS, L. W. Feeding grain contaminated with *Fusarium graminearum* and *Fusarium moniliforme* to pigs and chickens. **Aust. Vet.** J., v. 64, p. 225-226, 1987.

CAST. Council for Agricultural Science and Technology. **Micotoxins: Economic and Health Risks**. Report 116, 1989.

DILKIN, P. et al. Robotic automated clean-up for detection of fumonisins B1 and B2 in corn and corn-based feed by high-performance liquid chromatography. J. **Chromatogr.** A. v. 925, n. 1-2, p. 151-157, 2001.

DOERR, J. A. et al. Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chichens. **Poul. Sc.**, v. 62, p. 1971-1977, 1983.

EDDS, G. T. Acute aflatoxicosis: a review. J. **Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 162, n. 4, p. 304-309, 1973.

EXARCHOS, C. C. & GENTRY, R. F. Effects of aflatoxin B1 on egg production. **Avian Dis**. v. 26, p. 191-195, 1982.

GENTLES, A. et al. Toxicological Evaluations of Cyclopiazonic Acid and Ochratoxin A in Broilers. **Poultry Science**. v. 78, p. 1380-1384, 1999.

GIACOMINI, L. Z. et al. Desempenho e plumagem de frangos de corte intoxicados por aflatoxinas. Ciência **Rural**. v. 36, n. 1, p. 234-239. 2006.

HAMILTON, P. B. et al. Natural Occurences of Ochratoxicosis in Poultry. **Poultry Science**. v. 61, p. 1832-1841, 1982.

HARVEY, R. B. et al. Prevention of aflatoxicosis by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to diets of growing barrow. **Am. J. Vet. Res**. v. 50, n. 3, p. 416-420, 1989.

HAYES, J.R. & CAMPBELL, T.C. Contaminants. In: CASARETT, L.S. (Ed.) Toxicology: the basic Scienc of Poisons. New York: McMilliams, 1986, p.771-800.

HUFF, W. E. & DOERR, J. A. Synergism Between Aflatoxin and Ochratoxin A in Broiler Chickens. **Poultry Science**. v. 60, p. 550-555, 1981.

HUFF, W. E. et al. Individual and Combined Effects of Aflatoxin and Ochratoxin on Bruising in Broiler Chickens. **Poultry Science**. v. 62, p. 1764-1771, 1983.

HUFF, W. E. et al. Toxin Synergism Between Aflatoxin and T-2 Toxin in Broiler Chickens.. **Poultry Science**. v. 67, p. 1418-1423, 1988.

IARC (ITERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER). Overal evaluations of carcinogenicity: AN UPDATING OF IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISK TO HUMANS, Lyon: WHO, 1987. v. 1-2, supl. 7, p. 83-87.

ISO 6497:2002. Animal feeding stuffs sampling. 19p. 2002.

KUBENA, L. F. et al. Individual and combined effects of fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. **Poultry Sci**. v. 76, p. 1239-1247, 1987.

KUBENA, L. F. et al. Individual and Combined Effects of Fumonisin B1 Present in *Fusarium moniliforme* Culture Material and Diacetoxyscirpenol or Ochratoxin A in Turkey Poults. **Poultry Science**. v. 76, p. 256-264, 1997.

KUILMAN-WAHLS, M. E. M. et al. Cyclopiazonic acid inhibits mutagenic action of aflatoxin B1. **Enviromental Toxicology and Pharmacology**. v. 11,

p. 207-212, 2002.

LEDOUX, D. R. et al. Fumonisin toxicity in broiler chicks. J. **Vet. Diag. Invest**. v. 4, p. 330-333, 1992.

MALLMANN, C. A. et al. Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. Conferência APINCO 2006 de Ciência e Tecnologia Avícolas. **Anais**..., p. 213-224. 2006.

MALLMANN, C. A. et al. Fumonisin B1 in cereals and feeds from southern Brazil. **Arq. Inst. Biol**. v. 68, n. 1, p. 41-45, 2001.

MARIANI, G. V. C. **Desempenho produtivo de frangos de corte submetido** à intoxicação **experimental com aflatoxinas em diferentes idades**. Santa Maria, 1998. 79f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Santa Maria, 1998.

NEWBERNE, P. M. Cronic aflatoxicosis. J. **Am. Vet. Med. Assoc**. v. 163, n. 11, p. 1262-1267, 1973.

NEWBERNE, P. M. & BUTLER, W.H. Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals: A review. **Cancer Res**. v. 29, n. 1, p. 236-250, 1969.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). Critérios **de salud ambiental** 11: Micotoxinas. México: OMS, 1983. 131 p.

PIER, A. C. An overview of the mycotoxicose of domestic animals. J **Am Vet Med Assoc**. v. 163, p. 1259-1261, 1973.

PINTO, V.E.F. & VAAMONDE, G. Hongos productores de micotoxinas en alimentos. Rev. Arg. Microb., Buenos Aires, v.28, n.3, p.147-162, 1996.

RAUBER, R. H. **Sensibilidade de perus** (*Meleagridis gallopavo*) às **diferentes doses de aflatoxinas na dieta**. Santa Maria, 2006. 42f. Dissertação (mestrado). Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. & SABINO, M. Mycotoxin research in Brazil: the last decade in review. **Braz**. J. **Microbiol**. v. 33, n. 1, p. 1-11, 2002.

ROSA, A. P. et al. Desempenho produtivo de matrizes de cortesubmetidas a intoxicação por aflatoxinas e deoxinivalenol (DON). **Revista Brasileira de** Ciência Avícola. Sup. 3, p. 73, 2001.

SCHOENTAL, R. A corner of history: Moses and Mycotoxins. **Prev**. **Med**. v. 9, n. 1, p. 159-161, 1980.

SCHOENTAL, R. Mycotoxins and the bible. **Perspect**. **Biol**. **Med**. v. 28, n. 1,

p. 117-120, 1984.

UBA. Relatório **Anual** 2005/2006. União Brasileira de Avicultura. 76p. 2006.

VAAMONDE, G. et al. Variability of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus* section *flavi* from different substrates in Argentina. **International Journal of Food Microbiology**. v. 88, p. 79-84, 2003.

WEIBKING, T. S. et al. Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisins B1, on the young broiler chick. **Poultry Science**, v. 72, p. 456-466, 1993.

WHITAKER, T. B. & DICKENS, J. W. Errors in aflatoxin analysis of raw peanuts by thin layer chromatography. **Peanut Sci**. v. 8, p. 92, 1981.

WHITAKER, T. B.; DICKENS, J. W.; GIESBRECHT, F. G Testing animal feedstuffs for mycotoxins: Sampling, subsampling, and analysis, In: SMITH, J. E.; HENDERSON, R.S. **Mycotoxins and Animal Foods**. Cap. 8, p. 153, 1991.

WHITAKER, T. B.; DICKENS, J. W.; MONROE, R. J. Variability associated with testing corn for aflatoxin. J. **Am**. **Oil Chem**. **Soc**. v. 56, p. 789, 1979.

WHITAKER, T. B.; DICKENS. J. W.; MONROE, R. J. Variability of aflatoxin test results. J. **Am. Oil Chem. Soc**. v. 49. p. 590, 1974.

WHITAKER, T.B.; WHITTEN, M.E.; MONROE, R.J. Variability associated with testing cottonseed for aflatoxin. J. **Am**. **Oil Chem**. **Soc**. v. 53, p. 502, 1976.