



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Las micotoxinas y sus efectos en el ganado bovino lechero

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

JUNUENT ALEJANDRA LOZANO ROMO

Asesor

Co-asesor

Dr. Ezequías Castillo López

M. en MVZ. Héctor Reyes Soto

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT, proyecto número IA203618) y también al Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME, proyecto número 201718), cuyo responsable es el Dr. Ezequías Castillo López, asesor de la presente tesis. Ambos programas pertenecientes a la UNAM. El recurso recibido de parte de ambos proyectos sirvió, para financiar el análisis de laboratorio (micotoxinas) en las muestras evaluadas en este estudio, así como para solventar parte de los gastos de trabajo de campo durante los muestreos.

A mis padres: No me alcanzan las palabras para poder agradecer todos los sacrificios que han hecho por mi para llegar a lo que soy ahora. Son mi ejemplo a seguir desde que soy una niña hasta el momento, siempre me han apoyado en todos mis sueños y planes, me han ayudado a cumplir mi sueño de ser veterinaria desde que tenía 5 años. Gracias por ayudarme en esas madrugadas pesadas de estudio, por levantarse temprano para llevarme a la parada, preparar mi desayuno, las palabras de aliento cuando no podía más y decirme tu puedes ya has llegado lejos para darte por vencida.

A mi hermana por siempre ayudarme cuando no estaba en mi casa, por ser considerada cuando ya no podía mas, por siempre brindarme una mano cuando mas lo necesitaba, curar mis heridas cuando me lastimaba y sobar mis torceduras cuando me pisaban las vacas. Gracias por siempre estar ahí para mi.

A Dios: Gracias por permitirme a pesar de todos los problemas de salud que pase en mi vida escolar seguir adelante, siempre darme la fuerza que necesitaba para seguir adelante, dejarme llegar con bien a mi casa, regresar a salvo de mis practicas y de mi servicio social cuando caminaba sola, muchas gracias por permitirme ser MVZ.

A mi asesor de tesis: Ezequías Castillo López por darme la oportunidad de realizar el servicio social y la tesis bajo su asesoría, a pesar de la distancia apoyarme en mi trabajo y estar al pendiente de la titulación, Gracias Doc.

A mi coasesor de tesis M. en MVZ. Héctor Reyes Soto, Gracias por cada semana ayudarme a la revisión de mi tesis, a las modificaciones, sugerencias para que fuera un trabajo de calidad, gracias por su paciencia y disposición.

A mis amigos y a esos pequeños angeles que en el momento que siempre necesite estaban para mi, los cuales me ayudaron a poder terminar con este trabajo y no perder la cabeza, gracias por su ayuda en verdad.

A los profesores con los que tuve la fortuna de tomar clases, que siempre me inspiraron a ser como ellos, compartiendo su amor y pasión hacia la veterinaria. Gracias por compartir sus conocimientos para formar a cada uno de nosotros como alumnos y futuros profesionistas.

A la UNAM que desde Agosto 2013 soy parte de ella, me ha brindado muchas oportunidades que pocos pueden experimentar, siempre estare agradecida con la universidad ya que fue como pude realizar mi sueño, ese sueño que ya esta por cumplirse en una realidad, costo mucho trabajo poder a llegar a donde estoy ahorita, muchos sacrificios, lágrimas, decepciones y muchas cosas más pero por fin estoy en la recta final de esta etapa en la que estoy muy feliz, gracias a todo el entorno que me rodea pude terminar este trabajo, que es el resultado del trabajo de varias personas para su finalización.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	1
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO I. GENERALIDADES DE LAS MICOTOXINAS	11
Descripción	11
Importancia económica en el ganado bovino productor de leche	12
Principales micotoxinas	13
Aflatoxinas	13
Zearalenona	15
Deoxivalenol	15
CAPÍTULO II. CINÉTICA Y EFECTOS DE LAS MICOTOXINAS	17
Micotoxicosis	21
Presentación aguda y crónica	21
Trastornos en la fertilidad ocasionados por las micotoxinas	24
Residuos de aflatoxinas en la leche	26
CAPÍTULO III. MANEJO DE ALIMENTOS, NIVELES PERMITIDOS Y USO DE INHIBIDORES DE MICOTOXINAS	28
Almacenamiento y conservación del grano	28
Transporte de granos	31
Niveles máximos permitidos por organismos internacionales	32
Control de las micotoxinas en el alimento animal	37
Algunos productos comerciales	37
CAPÍTULO IV. ESTUDIO DE CASO: DIAGNÓSTICO DE LA PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN EL ALIMENTO DE UN ESTABLO LECHERO	39
Justificación	39
Objetivo general	39
Objetivos específicos	39
Metodología	40
Características del establo y manejo de animales	40
Descripción geográfica y climática de la región	40

Proceso de muestreo.....	42
Análisis de laboratorio de micotoxinas	43
Análisis estadístico	44
CAPÍTULO V. RESULTADOS	45
Características de almacenamiento de los alimentos	45
Concentración de micotoxinas en los alimentos	46
Variación del nivel de micotoxinas durante el periodo de muestreo	46
Aflatoxinas	46
Zearalenona	47
Deoxinivalenol	48
Comparación de la concentración de micotoxinas entre los tipos de alimento	49
Aflatoxinas	49
Zearalenona	50
Deoxinivalenol	51
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN	52
Niveles de Aflatoxinas.....	52
Niveles de Zearalenona.....	53
Niveles de Deoxinivalenol.....	53
CONCLUSIÓN	56
REFERENCIAS	57
APÉNDICES	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de cepas del hongo <i>Apergillus</i>	14
Tabla 2. Principales hongos productores de aflatoxinas, lugar de crecimiento y condiciones ambientales.	14
Tabla 3. Resumen de los efectos de las micotoxinas en los bovinos lecheros por diferentes autores.	23
Tabla 4. Presencia de Alfatoxina M1 en la leche procedente de diferentes países en el periodo 2008-2017.....	27
Tabla 5. Niveles máximos para aflatoxinas B1 en alimentos (directiva, 2003/32/CE).....	33
Tabla 6. Guía de valores orientativos para zearalenona y deoxinivalenol en alimentos (2006/576/EU).....	34
Tabla 7. Límites permitidos en las micotoxinas.	35
Tabla 8. Niveles límites en las aflatoxinas en diferentes alimentos.	36
Tabla 9. Niveles de tolerancia y riesgo de contaminación del alimento por las diferentes micotoxinas en explotaciones bovinas (ppb ó μ /Kg).	36
Tabla 10. Precipitación registrada en la región que alberga la cuenca de Tizayuca, Hidalgo.	41
Tabla 11. Temperatura registrada en la región que alberga la cuenca de Tizayuca, Hidalgo.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biotransformación de Aflatoxina B1 (AFB1) en el hígado en la Aflatoxina M1 (excretada en leche).	18
Figura 2. Clasificación de los agentes detoxificantes.....	38
Figura 3. Ubicación geográfica del municipio de Tizayuca, Hidalgo.....	41
Figura 4. Colecta y etiquetado de muestras para el análisis de micotoxinas.....	42
Figura 5. Almacenamiento de los ingredientes alimenticios concentrados en el establo.....	45
Figura 6. Alimento concentrado para becerras utilizada en el establo con presencia de hongos en la superficie.....	45
Figura 7. Concentración promedio de aflatoxinas totales durante el periodo de muestreo en el alimento iniciador para becerras y en el alimento concentrado para vacas.	46
Figura 8. Concentración promedio de zearalenona total durante el periodo de muestreo en el alimento iniciador para becerras y en el alimento concentrado para vacas.	47
Figura 9. Concentración promedio de deoxinivalenol total durante el periodo de muestreo en el alimento iniciador para becerras y en el alimento concentrado para vacas.	48
Figura 10. Comparación de los niveles de aflatoxinas presente en el alimento iniciador para becerras y alimento concentrado para vacas.	49
Figura 11. Comparación de los niveles de zearalenona presentes en el alimento iniciador para becerras y alimento concentrado para vacas.	50
Figura 12. Comparación de los niveles de vomitoxina presentes en el alimento iniciador para becerras y alimento concentrado para vacas.	51

RESUMEN

Las micotoxinas son compuestos que al ingerirse a través de los alimentos pueden ocasionar efectos negativos sobre la salud o productividad de los animales. El ganado lechero es comúnmente afectado por la presencia de micotoxinas en el alimento. Por lo tanto, es importante conocer tanto el tipo como los niveles de micotoxinas presentes en el mismo, de tal manera que se puedan proponer planes que conlleven a una mejora en el nivel de salud o producción de leche. Los objetivos de este trabajo fueron identificar y cuantificar las micotoxinas: Aflatoxinas, Zearalenona y Deoxinivalenol (DON) en el alimento iniciador de becerras y en el concentrado para vacas en producción, y proponer posibles soluciones para evitar efectos negativos sobre la salud y productividad animal. Las muestras de alimentos fueron colectadas en uno de los ranchos localizados en región de la Cuenca Lechera de Tizayuca (Hidalgo), y fueron almacenadas en congelación hasta su análisis. La identificación y cuantificación fue por medio del método ELISA (Ensayo inmunoenzimático competitivo) y el análisis se llevó a cabo en el laboratorio privado FOGASA localizado en el estado de Aguascalientes. Los datos obtenidos sobre los niveles de micotoxinas en cada tipo de alimento fueron comparados mediante el paquete estadístico SAS. Este análisis reveló que en el alimento para becerras existe un mayor nivel de aflatoxina que en el alimento para vacas adultas (4.55 vs 3.16 ± 0.15 ppb respectivamente, $P < 0.01$). Para el caso de la Zearalenona, existe una tendencia estadística a encontrarse en mayores niveles en el alimento concentrado para vacas adultas comparado con el alimento para becerras (284.03 vs 55.33 ± 76.63 ppb respectivamente, $P = 0.09$). En el caso de Deoxinivalenol, no existe una diferencia estadística en los niveles en ambos tipos de alimento ($P = 0.22$) promediando 0.485 ± 0.05 ppm. Aunque los niveles de micotoxinas se encontraron en niveles por debajo de los permitidos oficialmente en alimentos, existe un riesgo latente sobre la salud o productividad animal. Por lo que se recomienda considerar la implementación de productos inhibidores de micotoxinas que puedan contribuir a prevenir posibles efectos en la granja lechera.

Palabras clave: Ganado lechero, micotoxinas, aflatoxinas, zearalenona, Deoxinivalenol, alimento, becerras, vacas.

ABSTRACT

Mycotoxins are compounds that when ingested through the feed may have negative impacts on animal health and productivity. Dairy cattle are commonly affected by the presence of mycotoxins in the feed. Therefore, it is very important to be aware not only of the type of mycotoxins, but also of their concentration in feeds that animals consume. This way, dietary intervention strategies can be formulated in order to mitigate the negative impacts of mycotoxins on animal health and production performance. The objective of the present study was to identify and quantify the mycotoxins: Aflatoxins, Zearalenone and Deoxynivalenol (DON) in feed starter used for dairy calves and in the concentrate used in rations of dairy cows in lactation, and to suggest potential strategies to mitigate their negative impact on animal health and production. Feed samples were collected from a dairy farm located in the region known as La Cuenca de Tizayuca in the state of Hidalgo. These samples were immediately frozen until later analysis. Identification and quantification of mycotoxins were conducted with the method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), which was conducted at the commercial laboratory FOGASA located in the state of Aguascalientes. Data collected were analyzed with the Proc Mixed procedure of SAS. This analysis revealed that calf starter samples contained greater levels of Aflatoxins compared to the concentrate used for lactating dairy cattle, with estimates of 4.55 vs 3.16 ± 0.15 ppb, for calf starter and concentrate for lactating cows, respectively ($P < 0.01$). There was a tendency for greater levels of Zearalenone in the concentrate used for lactating cows compared to calf starter with estimates of 284.03 vs 55.33 ± 76.63 ppb, for concentrate for dairy cows and calf starter, respectively ($P = 0.09$). The levels of Deoxynivalenol was not different between feed types ($P = 0.22$) with an average of 0.485 ± 0.05 ppm. Although the levels of measured mycotoxins were found below maximum allowed values in feeds, they may have potential negative impacts on animal health and productivity. Therefore, the use of commercial products to prevent negative effects is recommended for the dairy farm.

Keywords: Dairy cattle, mycotoxins, aflatoxins, zearalenone, deoxynivalenol, feed, calves, cows.

INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas han tenido una estrecha relación con el ser humano, ya sea directa o indirectamente. Por ejemplo, algunos investigadores señalan que las micotoxinas han estado presentes desde tiempo remotos, incluso se cree que éstas fueron una de las últimas diez plagas del antiguo Egipto. En la actualidad, las micotoxinas siguen ocasionando efectos negativos en diversas especies animales. La micología moderna nace en 1962 gracias al descubrimiento de las aflatoxinas, a raíz de una crisis veterinaria que ocurrió cerca de Londres y en la que murieron alrededor de 100 000 pavos a causa de la exposición a ésta sustancia (Serrano et al., 2015). Las micotoxinas son metabolitos producidos por hongos filamentosos microscópicos, que crecen bajo condiciones óptimas de temperatura, pH y humedad relativa en los alimentos. De tal manera que una gran proporción de nuestro país presenta las condiciones para su desarrollo. Ésto indica la necesidad de realizar investigación para conocer no solamente el tipo de micotoxinas presentes, sino también sus niveles y poder proponer posibles alternativas para prevenir efectos negativos.

Aspergillus sp y *spp*; *Fusarium sp* y *spp* se encuentran entre los mohos más predominantes y los que comunmente producen las Aflatoxinas, Zearalenona y Deoxinivalenol (DON). Reportes recientes han demostrado que la exposición a estas micotoxinas ya sea por inhalación, contacto directo o a través de la ingesta de alimentos contaminados puede generar carcinogénesis, teratogénesis, inmunosupresión, cuadros clínicos de neurotoxicidad, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, mielotoxicidad, toxicidad pulmonar y estrés oxidativo (Serrano et al., 2015).

En el caso de los rumiantes, la microbiota del rumen puede inactivar parcialmente las micotoxinas; como resultado, los rumiantes se encuentran entre los animales menos susceptibles (Cheli et al., 2013). Sin embargo; también se ha reportado que las altas exposiciones del ganado lechero a las micotoxinas pueden provocar diferentes disturbios según el tipo de micotoxina. Por ejemplo, la Zerealanona está asociada con vulvovaginitis, prolapso vaginal y mortalidad embrionaria. Las Aflatoxinas pueden causar contaminación de la leche, baja de producción y el Deoxinivalenol se asocia con rechazo del alimento. Como consecuencia, la contaminación de la leche representa un problema de salud pública (Bernate, 2016) no sólo para los animales en recría, sino también para el ser humano.

Por otro lado, a nivel mundial y a nivel nacional, en la actualidad gran parte de la producción de carne o leche proviene de sistemas intensivos de estabulación. Sin embargo; se ha demostrado que en los sistemas de producción intensivos (leche y carne) se utilizan dietas elevadas en cereales, éste manejo alimenticio puede inducir acidosis ruminal y aumentar la exposición a las micotoxinas debido al daño del bajo pH (5.8-7) sobre papilas ruminales (Pantaya *et al.*, 2016). Esto demuestra la importancia de realizar investigación en el campo de las micotoxinas. De tal manera que los objetivos de este trabajo fueron identificar y cuantificar las micotoxinas Aflatoxinas, Zearalenona y Deoxinivalenol en el alimento iniciador de becerras y en el concentrado para vacas en producción, y proponer posibles soluciones para prevenir efectos negativos sobre la salud y productividad animal.

CAPÍTULO I. GENERALIDADES DE LAS MICOTOXINAS

Descripción

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos, producidos por hongos filamentosos microscópicos. Son contaminantes ubicuos de cultivos de forrajes y otros alimentos que representan los componentes principales de la alimentación animal (Alpízar, 2016; Ballesteros, 2014).

Se ha demostrado que al ingresar al organismo ya sea por la ingestión, inhalación o absorción cutánea pueden causar enfermedades o incluso la muerte de los animales (Aroyo *et al.*, 2014, Peng *et al.*, 2018). Existe una gran diversidad de micotoxinas presentes en los alimentos. Por ejemplo, en la actualidad se conocen más de 300 micotoxinas. En este trabajo nos enfocaremos solamente en el diagnóstico de tres de las micotoxinas más comunes en los alimentos del ganado lechero: Aflatoxina, Zearalenona y Vomitoxina, dichas micotoxinas tienen diferentes estructuras químicas, modos de acción y pueden tener efectos negativos severos en esta especie animal (Zachariasova *et al.*, 2014).

Para el crecimiento de los hongos y las producción de micotoxinas, se necesita un sustrato y un medio ambiente adecuado. La humedad relativa apropiada es alrededor de 80%, niveles de oxígeno suficiente, y una temperatura óptima de entre 20 y 25 °C, así como un pH entre 4 y 8. Por tal razón, la micotoxicosis presenta una prevalencia elevada en regiones geográficas determinadas. Por otro lado, se sabe que los hongos crecen en partes específicas de las plantas ya que se ven favorecidos por la cantidad de carbohidratos de las semillas o los granos, estos metabolitos son compuestos no antigénicos, ya que tienen un bajo peso molecular y en su mayoría son termoestables. Estudios también han indicado que algunos hongos pueden producir más de un tipo de micotoxina (Quinn *et al.*, 2002; Serrano *et al.*, 2015).

Reportes recientes también han demostrado que las micotoxinas son generalmente lipofílicas, por lo tanto, tienden a acumularse en los tejidos de naturaleza grasa en las plantas y en los animales, estos metabolitos pueden ser producidos antes de la cosecha como las Aflatoxinas y Deoxinivalenol (Ballesteros, 2014). Estos compuestos están usualmente asociados con cereales como el maíz, cebada, trigo y el sorgo. Sin embargo, contaminan otros alimentos incluyendo harinas de semillas de oleaginosas, ensilados y pasturas (Alpízar, 2016;

De María *et al.*, 2017). Lo cual indica que los alimentos comunmente utilizados en la alimentación del ganado lechero representan fuentes ideales para su crecimiento y proliferación.

Importancia económica en el ganado bovino productor de leche

Se estima que las micotoxinas afectan a una cuarta parte de los cultivos a nivel mundial, incluyendo alimentos básicos o cultivos de gran valor (Arroyo *et al.*, 2014). Las pérdidas económicas están asociadas a una disminución en el consumo de materia seca por parte de los animales, generalmente manifestado por un exceso de rechazo ocasionado por el deterioro del alimento, las micotoxinas contaminan los granos utilizados en la alimentación animal, luego pasan a la carne y leche. Por lo tanto, la contaminación de tales productos es ocasionada por las micotoxinas que tiene consecuencias negativas económicas sobre los productos finales (Santillán *et al.*, 2017). Por ejemplo, se ha estimado que las pérdidas anuales en los Estados Unidos por causa de las micotoxinas oscilan entre \$ 20 millones y \$ 1.68 mil millones de dólares. Sin embargo; éstas pérdidas pueden ser influenciadas por otros factores como las diferencias estacionales sobre los niveles de aflatoxinas en el alimento, costos de seguros, pérdidas ocasionadas por motivo de exportaciones, etc. (Rushing *et al.*, 2019).

Se sabe que los cereales con mayor susceptibilidad de contaminación son el trigo, el maíz, la cebada, el centeno y la avena. En la actualidad existen reportes de un alto porcentaje de muestras de alimentos contaminadas y se ha informado que generalmente la mayoría de éstas presentan más de una micotoxina. Sin embargo, en la mayoría de los casos, las concentraciones son lo suficientemente bajas como para garantizar el cumplimiento de los valores recomendados por organismos de la Unión Europea y los niveles máximos permitidos. Vale la pena destacar que a pesar de esto, los animales de granja han demostrado signos de enfermedad crónica causado por la presencia de micotoxinas en los alimentos (Espíndola, 2006; Vila *et al.*, 2018). Por lo tanto y tomando en cuenta que no se han regulado todas las micotoxinas presentes en los ingredientes alimenticios, los productores a menudo tienen que establecer límites internos más estrictos que los establecidos de parte de centros públicos o gubernamentales, ya que a pesar de los intentos por reducir la contaminación de alimentos por micotoxinas y prevenir efectos negativos sobre los animales, estos no han sido

efectivos en su totalidad (Vila *et al.*, 2018). Estudios también han demostrado que los alimentos destinados al consumo humano generalmente presentan concentraciones de micotoxinas entre 0 - 40 partes por billón (ppb) mientras que en los alimentos destinados para animales los niveles de micotoxinas suelen ser más altos encontrándose arriba de 300 ppb. Por lo tanto, las principales consecuencias económicas provienen de las pérdidas de alimentos reduciendo la productividad animal, ocasionando pérdidas de ingresos en divisas en las granjas (Castillo *et al.*, 2018).

Principales micotoxinas

Aflatoxinas

Aspergillus flavus y *parasiticus*, producen las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 (Ballesteros, 2014; Vila *et al.*, 2018). Estas micotoxinas son distinguidas por la propiedad de fluorescencia, las aflatoxinas B1 y B2 presentan fluorescencia azul, las aflatoxinas G1 y G2 presentan fluorescencia amarilla-verde bajo luz ultravioleta (Ballesteros, 2014). El peso molecular de las aflatoxinas oscilan entre los 312 y 350 g/mol, la mayoría son poco solubles en agua y se pueden extraer con disolventes orgánicos moderadamente polares, tales como el cloroformo y el metanol. Son termorresistentes, estables a un rango de pH de 3 – 10, con puntos de fusión superiores a los 250 °C (Ballesteros, 2014; Marquez, 2016).

Las aflatoxinas son las micotoxinas más tóxicas y cancerígenas, la B1 y B2, son hidroxiladas y excretadas como M1 y M2 en la leche (Mostrom *et al.*, 2011).

La contaminación con aflatoxinas es más común en los países localizados de los continentes de África, Asia y en Sudamérica Stoev (2015). Esto se debe en gran medida a las condiciones climáticas cálidas y húmedas que propician su desarrollo. Sin embargo; las aflatoxinas también están presentes en las zonas templadas de América del Norte y Europa. Los principales hongos productores de aflatoxinas son *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parsiticus*, estos hongos crecen bajo condiciones ambientales óptimas descritas en la tabla 1 y tabla 2.

Tabla 1. Condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de cepas del hongo *Apergillus*.

Toxina	Temperatura C°	pH	Humedad relativa
<i>A. Flavus</i>	13-37 °C (óptima 16-31 °C)	2-8 (óptimo 6)	>14%
<i>A. parasiticus</i>	12-40°C (óptima 25 °C)	2-8 (óptimo 6)	>14%

(Ballesteros, 2014).

Tabla 2. Principales hongos productores de aflatoxinas, lugar de crecimiento y condiciones ambientales.

Hongo	Toxinas	Alimento afectado	Condiciones ambientales
<i>A. flavus</i>	Aflatoxinas B1,B2	Comúnmente cereales	Temperatura: 13-42°C Humedad relativa: 75% Humedad del grano>18% Oxígeno <0.5%
<i>A. parasiticus</i>	G1, G2	Comúnmente semillas de oleaginosas	Temperatura: 13-42°C Humedad relativa: 75% Humedad del grano>18% Oxígeno <0.5%

(Mostrom y Jacobsen, 2011).

Zearalenona

Este tipo de micotoxina es producida por los hongos *Fusarium. roseum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. oxysporum*, *F. crookwellense*, *F. tricinctum*, *F. cerealis*, *F. verticillioides* y *F. incarnatum*. La zearalenona (ZEN) y sus metabolitos (α -zearalenol y β -zearalenol) tiene acción estrogénica, y sus efectos negativos están relacionados con la disfunción reproductiva de los animales (Ben Taheur *et al.*, 2019). Esta micotoxina se encuentra en el maíz, trigo, cebada, arroz, sorgo y en bajas dosis en ensilados mal preparados, tienden a desarrollarse a partir del otoño, cuando la temperatura es fría (10-15 °C) y una elevada humedad ambiental en tiempos próximos a la cosecha (Marquez, 2016; Mostrom y Jacobsen, 2011; Stoev, 2015; Yousef *et al.*, 2017).

Deoxinivalenol

La vomitoxina también llamada deoxinivalenol (DON) es producida por el hongo del género *Fusarium* que contamina diversos cereales, especialmente maíz, trigo, así como ensilados mal preparados, causando síndromes eméticos de ahí el nombre de vomitoxina (Marquez, 2016; Mostrom y Jacobsen, 2011). Estudios indican que la vomitoxina puede inducir apoptosis en células progenitoras hematopoyéticas e interfiere a nivel celular en los ribosomas inhibiendo la síntesis de proteínas, además la ingestión de esta micotoxina, se ha asociado con alteración del sistema digestivo y nervioso (Ben Taheur *et al.*, 2019).

El Deoxinivalenol pertenece al grupo B de las micotoxinas de los tricotecenos aunque es uno de sus miembros menos tóxicos, es de particular interés debido a su alta prevalencia en cereales a nivel mundial. La ingestión de esta micotoxina provoca pérdida de peso, deficiencia nutricional y causa lesiones en el tracto gastrointestinal, vómitos, diarrea sanguinolenta y dermatitis severa acompañada de hemorragia, otras lesiones se asocian a trastornos inmunes, como la inmunosupresión. Los rumiantes son las especies menos sensibles ante los efectos negativos de la vomitoxina al ser ingeridos a través de los alimentos. Sin embargo, el síndrome de rechazo del alimento se ha observado en vacas después de consumir durante 10 semanas un nivel de concentrado de trigo de 6.4 mg DON/kg de alimento (Vila *et al.*, 2018). Esto indica que aunque son menos sensibles a los efectos negativos, se pueden presentar pérdidas económicas al haber un mayor desperdicio de

alimento contaminado por estas micotoxinas.

Los tricotecenos son compuestos estables y permanecen presentes a niveles tóxicos en los alimentos durante años. Los informes de toxicidad por tricotecenos en el ganado lechero en América del Norte generalmente involucran a la vomitoxina, esta micotoxina está muy relacionada con zearalenona, ambos son contaminantes comunes del maíz (Mostrom y Jacobsen, 2011). Por lo tanto se debe prestar especial atención a esta micotoxina en las granjas donde se usa el maíz como grano principal en la formulación de raciones de los animales en producción.

Por otro lado, la contaminación ocasionada por *Fusarium sp* se puede comunmente observar en el heno almacenado en lugares con alta humedad y en el ensilado mal preparado, bajo condiciones aeróbicas existentes. También se sabe que las diferencias de susceptibilidad observada en los animales ante los efectos de esta micotoxina, pueden estar asociadas con el estrés de manejo alimenticio involucrado. Por ejemplo cuando existe un cambio en el régimen alimenticio de las vacas cuando pasan de la fase seca a la fase de producción de leche (Mostrom y Jacobsen, 2011).

CAPÍTULO II. CINÉTICA Y EFECTOS DE LAS MICOTOXINAS

La biotransformación de las micotoxinas se lleva a cabo en el retículo endoplasmático liso de los hepatocitos. La liposolubilidad es uno de los principales requisitos para que se puedan metabolizar, debido a que esta propiedad favorece la penetración de las micotoxinas en los microsomas del hígado, así como su unión con la fracción citocromo P-450, componente primario del sistema enzimático oxidativo (Sumano *et al.*, 2006).

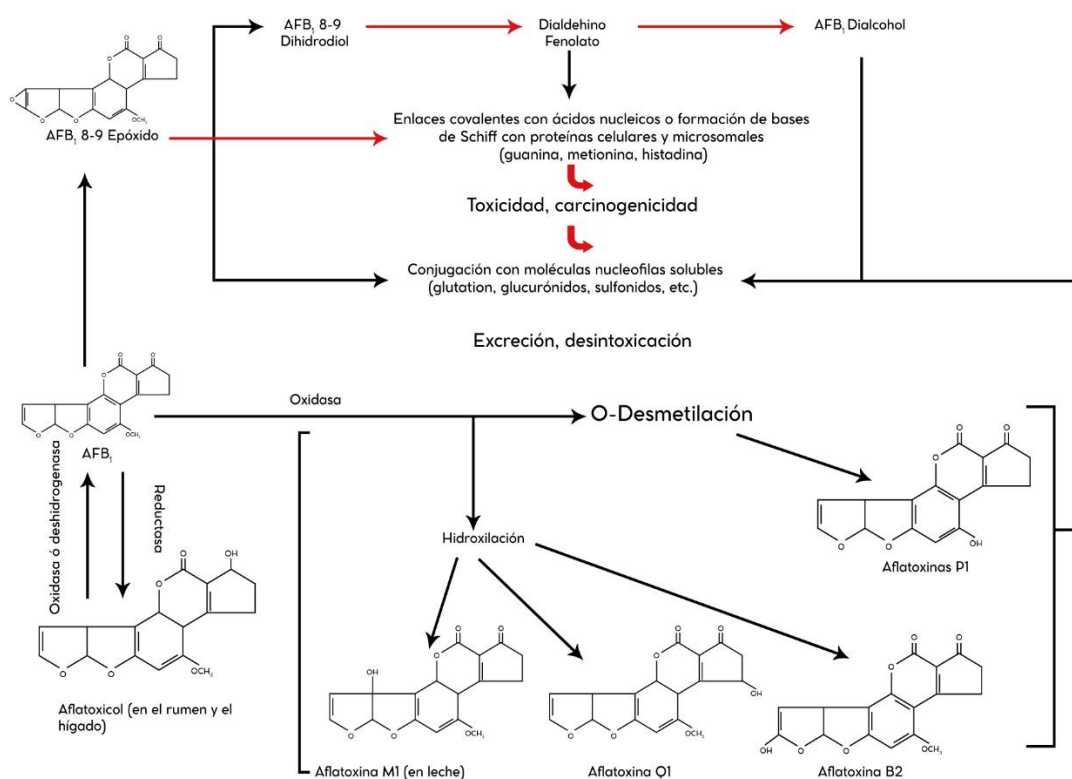
El tracto gastrointestinal es el sitio inicial de la interacción de las micotoxinas con el animal, ya sean absorbidas e incorporadas en la circulación sistémica o no (Broom, 2015). Las células del tracto gastrointestinal están expuestas a las micotoxinas ingeridas e interactúan con las células microbianas presentes en el intestino, las cuales pueden ser vulnerables a los efectos de las micotoxinas (Broom, 2015). La absorción gastrointestinal, controla la entrada de toxinas en el compartimiento sanguíneo y su distribución en todo el organismo y se lleva a cabo mediante dos procesos: 1) Difusión simple y 2) Transporte activo. Por lo tanto, las moléculas lipófilas y de bajo peso molecular, como las Aflatoxinas y Zearalenona son candidatas al transporte pasivo. Por otro lado, la difusión de formas no iónicas a través de la membrana lipídica es la vía principal de absorción de micotoxinas (Yiannikouris *et al.*, 2002).

La microbiota intestinal desempeña un papel crucial en la determinación de la salud y el rendimiento del animal, una microbiota óptima, evita la colonización del epitelio intestinal por patógenos. Las células epiteliales intestinales son un componente crítico en el sistema inmunitario innato, estas células forman una barrera clave entre el “mundo exterior” y el entorno interno (sistémico) del animal. Sin embargo se ha demostrado que las micotoxinas aumentan la permeabilidad de la capa epitelial intestinal en numerosas especies animales, lo que puede ocasionar una fuga interna incontrolada de material extraño al animal. Además de afectar la viabilidad de las células intestinales, las micotoxinas reducen la proliferación celular, lo que reduce la capacidad del intestino para repararse (Broom, 2015).

El epitelio intestinal, el hígado y los riñones son sitios de biotransformación de una gran cantidad de compuestos. Esta biotransformación implica dos fases de reacciones. La primera fase comprende reacciones reductivas, oxidativas e hidrolíticas. La segunda fase comprende reacciones de conjugación, ambas reacciones, disminuyen la toxicidad y

aumentan la hidrosolubilidad de las micotoxinas, facilitando la excreción en orina y leche. La principal conjugación es la glucuronosiltransferasas microsomal, la sulfo-transferasas citosólicas, las metil transferasas, las aminoacil-transferasas, las S-glutación-transferasas y las N-acetiltransferasas (Yiannikouris *et al.*, 2002).

Figura 1. Biotransformación de Aflatoxina B1 (AFB1) en el hígado en la Aflatoxina M1 (excretada en leche).



(Yiannikouris *et al.*, 2002).

En la figura 1, los procesos de desintoxicación se muestran en color rojo y los procesos que conducen a toxicidad o carcinogenicidad se muestran en color negro (Yiannikouriset al., 2002).

La excreción urinaria es la vía final de las micotoxinas (Zearalenona) que se absorbieron y metabolizaron en el hígado como metabolitos conjugados. También existe excreción de las micotoxinas a través de las heces, y esto resulta cuando hay una falta de absorción en el tracto gastrointestinal. El desoxivalenol es una de las micotoxinas que comúnmente se desechan a través de las heces ya que su absorción es baja en el tracto gastrointestinal (Yiannikouris *et al.*, 2002).

Las aflatoxinas son compuestos lipófilos que se absorben pasivamente por todo el tracto gastrointestinal. En los rumiantes, una parte de la aflatoxinas B1 ingerida se degrada en el rumen, lo que resulta en la formación de aflatoxicol (Mostrom y Jacobsen, 2011). El aflatoxicol puede perturbar el crecimiento y la actividad metabólica de los microorganismos del rumen, lo cual podría tener consecuencias graves en animales ya que la microbiota ruminal juega un papel muy importante en el procesamiento del alimento consumido por los mismos (Yiannikouris *et al.*, 2002). Se ha observado que aproximadamente el 42% de la aflatoxina se degrada cuando se incuba *in vitro* con líquido ruminal (Upadhaya y Jong, 2010), también se sabe que su mayor absorción es a través de la vía porta (vasos mesentéricos). Los animales jóvenes absorben con mayor eficiencia las micotoxinas que los animales viejos, de ahí la importancia de poner especial atención en el alimento consumido por los animales en recría, como por ejemplo las becerras. El hígado y en menor medida, los riñones, intestinos y otros órganos biotransforman en el sistema digestivo la aflatoxina B1 en varios productos secundarios, de los cuales siendo el más tóxico la aflatoxina B1-8,9-epóxido, ya que se inserta en el DNA y el ARN causando problemas congénitos. Esto indica que el efecto ocasionado por las micotoxinas durante la gestación puede tener impactos graves incluso sobre el feto en desarrollo. Los productos de biotransformación de las aflatoxinas M1, aflatoxinas M2, aflatoxina Q1 y aflatoxicol son menos tóxicos, como resultado de la conjugación de estos productos con ácido glucorónico y sulfato, ya que estas son reacciones de desintoxicación (Mostrom y Jacobsen, 2011).

Una vez en el organismo animal, la zearalenona se somete a la acción de las cetona-reductasas hepáticas, dando lugar a la producción de α y β - zearalenol, las diferencias genéticas entre las especies pueden explicar las diferencias en la sensibilidad de los animales a la Zearalenona, ésta se convierte principalmente (90%) en α -Zearalenol, que es diez veces

más tóxico que el β -zearalenol siendo más baja su toxicidad. Se ha indicado que el alfa-zearalenol y la Zearalenona se pueden hidrogenar en el rumen bovino para producir zearanol, una hormona estrogénica que estimula el crecimiento animal (Yiannikouris *et al.*, 2002).

El metabolismo del deoxinivalenol puede ocurrir en el rumen o en el resto del aparato digestivo antes de la absorción, los rumiantes se consideran más resistentes a los efectos de esta micotoxina, ya que el rumen tiene la capacidad de biotransformación de las micotoxinas a metabolitos menos tóxicos o no tóxicos. Sin embargo, es importante enfatizar que esto no aplica para todas las micotoxinas, ya que su impacto en rumiantes también depende de la edad, la raza, el sexo, el nivel de dosis y el estado inmunológico de cada animal (Mostrom y Jacobsen, 2011; Yiannikouris y Pierre, 2002). El desoxinivalenol o vomitoxina es biotransformado por las bacterias en el fluido del rumen o en los intestinos, de manera anaeróbica en des-epoxi-Desoxinivalenol (DOM-1) (Yiannikouris *et al.*, 2002). Se han realizado pruebas de toxicidad en metabolitos del DON, al parecer 3 ceto-DON es de tres a diez veces menos tóxico que la vomitoxina y DOM-1 y 3-epi-DON (Vanhoutte *et al.*, 2017). El desoxivalenol es eliminado en la bilis y es absorbido en pequeñas cantidades dentro del tracto digestivo, en su mayoría terminan en las heces en un 54 a 75% de desoxivalenol y como trazas contaminantes en la orina (Yiannikouris *et al.*, 2002).

Micotoxicosis

Presentación aguda y crónica

La micotoxicosis provoca procesos agudos, llegando a causar disfunción hepática y la muerte. Además, los efectos también se pueden manifestar de forma crónica, que es la forma más común y ésta es causada por el consumo de pequeñas cantidades de estos compuestos tóxicos durante un período prolongado (Vila *et al.*, 2018). En el ganado bovino productor de leche, los signos más comunes de la aflatoxicosis aguda incluyen: falta de apetito, letargo, ataxia, pelaje áspero y hepatomegalia y lipidosis hepática. Los síntomas de la exposición crónica a la aflatoxina incluyen una reducción en la eficiencia de la alimentación y la producción de leche, ictericia y disminución del apetito (Upadhaya *et al.*, 2010).

Las aflatoxinas poseen un gran efecto inmunosupresor ya que inhiben la fagocitosis interrumpiendo la síntesis proteica del ADN, ARN y proteínas en el ribosoma, favorecen los procesos infecciosos y ocasionan fallas vacunales. Estas sustancias tienen capacidad carcinogénica y mutagénica, causan alteraciones en el material genético, alteran la función del hígado, afectan negativamente la ganancia de peso, la tasa de crecimiento y la reproducción (Ballesteros, 2014; Marquez, 2016). Además de unirse a proteínas y como resultado interrumpe algunos procesos celulares perdiendo la función del órgano, puede provocar necrosis celular, supresión inmune (inmunidad humoral como celular), mutagénesis y neoplasias.

El aflatoxicol, que es carcinógeno para los animales, puede oxidarse de nuevo a aflatoxina B1, que puede unirse de manera reversible a la albúmina sérica. La cual lo transporta a los tejidos. Sin embargo, no se acumulan fácilmente, aunque la exposición repetida puede atravesar la placenta y dañar al feto (Mostrom y Jacobsen, 2011). El ganado presenta un engrosamiento de la piel alrededor de la boca y el cuello, además se observan algunos papilomas en la mucosa del abomaso (Stoev, 2015). En rumiantes, los primeros signos se observan después del consumo de una concentración de aflatoxina 1 - 2 mg de AF B1 / kg de alimento, los signos encontrados fueron: menor ingesta de alimento y baja producción de leche en el ganado. También se han observado efectos después de un mes de

la ingestión de alimento contaminado con una ingesta de 0,8-3 mg de B1 / kg (Vila *et al.*, 2018). La aflatoxina B1 (AFB1) ha demostrado actividad mutagénica, cancerígena y teratogénica siendo la causa del carcinoma hepatocelular. La toxicidad de AFM1 es 10 veces menor que AFB1. Sin embargo, ambas micotoxinas son clasificadas dentro del grupo 1 de carcinógenos para los animales, incluyendo a los seres humanos (Velázquez y Flores, 2017).

Las micotoxinas tienen una actividad antimicrobiana muy marcada, lo que reduce la fermentación ruminal, provocan daño hepático, un incremento de infecciones respiratorias, aumentan la incidencia de casos de mastitis y laminitis, y tienen efectos estrogénicos adversos que deterioran la fertilidad en las vacas (De María *et al.*, 2017). En los sistemas intensivos de producción láctea, en donde se ofrecen dietas ricas en almidón (> 28 % MS) puede inducir acidosis ruminal subclínica y alterar la permeabilidad ruminal provocando un aumento en la exposición a las micotoxinas. Por lo que se puede considerar que los animales que consumen dietas ricas en energía y con niveles de producción mayor pueden ser más susceptibles ante los efectos de las micotoxinas.

Las levaduras son moduladores en la población ruminal muy utilizadas en la ración para bovinos, éstas ejercen efectos positivos aumentando el número de bacterias totales y celulolíticas, así como protozoarios que son degradadores activos de ciertas micotoxinas, por lo tanto, las levaduras reducen indirectamente la absorción y toxicidad. La pared celular de las levaduras tiene la capacidad de unirse a las micotoxinas, por lo tanto podrían reducir la absorción gastrointestinal, esta propiedad depende del tipo de levadura. La aflatoxina B1 y el deoxinivalenol se encuentran comúnmente en los alimentos utilizados en la formulación de dietas para el ganado productor de leche, por lo que sus efectos son comunes en esta especie (Pantaya *et al.*, 2016). En la Tabla 3 se muestra un resumen de los efectos de las aflatoxinas, zearalenona y deoxinivalenol en bovinos lecheros.

Tabla 3. Resumen de los efectos de las micotoxinas en los bovinos lecheros por diferentes autores.

Hongo productor de Micotoxina	Efectos observados en animales/Enfermedad	Fuente
Aflatoxinas: AFB1, AFB2 AFG1, AFG2		
<i>A. flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	Hepatotoxicidad, inmunosupresión, mutagénesis, teratogénesis, carcinogénesis, retraso del desarrollo, disminución de la producción láctea, raramente muerte por intoxicación aguda.	(Quinn et al., 2002)
<i>A. flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	Enfermedad hepática (hepatotóxica), efectos carcinogénicos y teratogénicos.	(Vila et al., 2018)
<i>A. flavus</i> <i>A. parasiticus</i> <i>A. nomis</i>	Daños en el ADN, inducción de cáncer, aborto, deformidad en el nacimiento, supresión del sistema inmunológico, reducción de la producción animal.	(Ben Taheur et al., 2019)
Zearalenona		
<i>F. graminearum</i> otras <i>sp. de Fusarium</i>	Actividad estrogénica, edema de la vulva, menor fertilidad.	(Quinn et al., 2002)
<i>F. graminearum</i>	Efectos estrogénicos (edema de la vulva, agrandamiento del útero), atrofia de los ovarios y testículos, aborto.	(Vila et al., 2018)
<i>F. roseum</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i>	Aborto espontáneo, cáncer uterino y de mama en animales, hiperplasia, mutagenicidad, fragmentación del ADN.	(Ben Taheur et al., 2019)
Deoxinivalenol		
<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , otras <i>sp. de Fusarium</i>	Neurotoxicidad, rechazo de alimentos contaminados, vómitos, escaso crecimiento.	(Quinn et al., 2002)
<i>F. graminearum</i> <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. poae</i> <i>F. equiseri</i>	Efectos inmunológicos, cambios hematológicos, trastornos digestivos (diarrea), dermatitis, lesiones orales, hemorragias de los tejidos intestinales, edema.	(Vila et al., 2018)
<i>Fusarium sp</i>	Inhibición de proteínas, síntesis de ADN y ARN, poli ribosomal, desagregación, retraso del crecimiento, cambios neuroendocrinos, inmunosupresión.	(Ben Taheur et al., 2019)

Trastornos en la fertilidad ocasionados por las micotoxinas

La zearalenona es una toxina estrogénica no esteroide producida por ciertas especies de *Fusarium sp.* En el ganado lechero, esta micotoxina se absorbe afectando la fisiología reproductiva de los animales. Algunos de los metabolitos secundarios que se generan como resultado pueden competir por unirse a los receptores de estrógenos de animales que conducen a trastornos reproductivos provocando disfunción y aumentando la frecuencia de mortinatos junto con la reducción de la calidad del espermatozoide. Durante la gestación, reduce la supervivencia del embrión y peso fetal, generando dilatación vulvar y enrojecimiento, retención o ausencia de leche y prolapso rectal en los rumiantes.

Investigaciones hechas en los últimos años ha indicado una reducción de la fertilidad en el ganado lechero para niveles de zearalenona por encima de 0.5 mg / kg de alimento (Ben Taheur *et al.*, 2019; Vila *et al.*, 2018). Los largos periodos de exposición a zearalenona ocasionan problemas de hiperestrogénismo: vulvovaginitis, feminización, interfiere con la concepción, ovulación, implante y desarrollo fetal, anomalías cíclicas ováricas, abortos y disminución en la producción de leche, mientras que los primeros signos de la fusariotoxicosis causada por *Fusarium graminearum* y *Fusarium culmorum* por lo general se asocia con efectos citotóxicos (cambios gastrointestinales y lesiones degenerativas en los órganos internos), (Marquez, 2016; Mostrom y Jacobsen, 2011; Stoev, 2015; Yousef *et al.*, 2017). El organismo de los animales metaboliza la zearalenona para producir cinco metabolitos: α -zearalanol (α -ZAL), β -zearalanol (β -ZAL), α -zearalenol (α -ZOL), β -zearalenol (β -ZOL) y zearalanona (ZAN). De los cuales, el potencial estrogénico de α -zearalenol es mayor, pueden persistir en los animales después del consumo de alimentos contaminados. La vida media para la eliminación de la zearalenona en la sangre de los rumiantes es muy larga, la cual es de aproximadamente 28.6 horas, y los análogos de la zearalenona pueden permanecer en el organismo de los animales durante largos períodos debido a la enfermedad enterohepática ocasionada (Nakamura *et al.*, 2015). Esto puede ser debido a una pérdida de la capacidad de desintoxicación de parte del hígado. En animales ciclando (Sánchez, 2017) se ha descrito casos de ninfomanía, pseudogestación, atrofia ovárica y degeneración del endometrio. Otros efectos que se han reportado en los sementales incluyen una disminución de los niveles de testosterona, disminución del peso de los

testículos y de la espermatogénesis. Como consecuencia se manifiesta la feminización y supresión de la libido en dichos animales. Esto puede conllevar a pérdidas económicas al disminuir la tasa de fertilidad del hato ganadero, como consecuencia de la baja fertilidad de los sementales y mala calidad de los espermatozoides.

En un artículo publicado por Fushimi *et al.* (2015) sobre efectos de la contaminación dietética por zearalenona y sus metabolitos en la hormona Anti-Müllerian en suero y su impacto en el rendimiento reproductivo de las vacas reproductoras, se describe el papel de la hormona antimülleriana (HAM), la cual es una glicoproteína producida exclusivamente por las células de la granulosa de los folículos ováricos en crecimiento en la hembra adulta. La HAM es un factor clave que inhibe el reclutamiento de folículos primordiales en crecimiento y disminuye la capacidad de respuesta a la hormona estimulante, considerando que la HAM es el mejor marcador endócrino de la población de pequeños folículos que responden a la gonadotropina en las vacas. Previamente se ha reportado que la zearalenona y sus metabolitos pueden detectarse en el fluido folicular bovino. Estudios sugieren que las condiciones de alimentación en diferentes granjas de ganado influyen en las concentraciones de la zearalenona y sus metabolitos en el fluido folicular de los animales. Por lo tanto, la zearalenona circulante y sus metabolitos pueden modular el desarrollo folicular al inducir la apoptosis de las células de la granulosa en los folículos antrales, lo que conduce a una reducción de la secreción de HAM de las células de la granulosa de los folículos del atrio atrético (Fushimi *et al.*, 2015).

En el estudio “Zearalenone disrupts the anti-inflammatory response of bovine oviductal epithelial cells to sperm in vitro” se comprobó que la zearalenona y sus metabolitos en 6 de 32 folículos normales y 7 de 20 quísticos la tasa de maduración de los ovocitos bovinos disminuyó. Después de cultivar los ovocitos en medios de maduración que contenían varias concentraciones de zearalenona y diferentes dosis afectaron la inmunidad a través de la reducción de las inmunoglobulinas séricas (*IGA*) en vacas con una dieta contaminada. Además, los hatos lecheros con baja fertilidad tenían niveles más altos de zearalenona en sangre, la concentración plasmática fue de 1.7 a 5.5 veces mayor en comparación con la concentración de líquido folicular en vacas lecheras que recibieron una dieta contaminada. Por lo tanto, se puede deducir que las células oviductuales pueden exponerse a la zearalenona

través de líquido folicular o la circulación sanguínea que por consiguiente, pueden afectar el entorno inmunológico del oviducto durante la etapa preovulatoria. Los mecanismos de acción de esta micotoxina pueden ocurrir a través de dos vías diferentes; la vía mediada por el receptor clásico o la alteración del mecanismo celular epigénético no genómico (Yousef *et al.*, 2017).

Residuos de aflatoxinas en la leche

La aflatoxina M1, es uno de los cinco productos finales principales de los metabolitos del proceso de hidroxilación de la aflatoxina B1, por la reacción de la enzima oxidasa que está *asociada* al citocromo P450 de los microsomas dentro de los hepatocitos (Peña *et al.*, 2018). Durante este proceso oxidativo, la aflatoxina B1 es sucesivamente transformado en dos intermedios, aflatoxicol AFL y aflatoxicol *M1* antes de convertirse en aflatoxina M1, y de esta forma se excreta a través de la leche. Algunos autores estiman que entre el 0.3% y el 6.2% de AFB1 ingerido por el ganado se transforma en AFM1 en el hígado para ser excretado posteriormente a la leche (Peña *et al.*, 2018). Esto representando un peligro para la salud del ser humano al consumir el producto contaminado.

La aflatoxina M1 no es degradada significativamente durante los procesos de enfriamiento, deshidratación, pasteurización y ultrapasteurización, tampoco se ha observado degradación durante el prensado y maduración de quesos. Resultados de estudios indican que esta micotoxina se encuentra presente en un elevado porcentaje en el lactosuero (60-70%). Por otra parte, la combinación entre calor y pH bajo provoca la desnaturalización de las proteínas y la pérdida de su capacidad de unión a esta micotoxina (Velázquez *et al.*, 2017). La presencia de aflatoxina M1 en leche y productos lácteos se considera a nivel mundial como un riesgo a la salud pública, por lo que es necesario establecer medidas preventivas para reducir su presencia en toda la cadena de producción agrícola y pecuaria. Las investigaciones recientes realizadas en México demuestran contaminación con aflatoxina M1 en leche, queso y yogurt, por lo tanto, el monitoreo periódico de los productos lácteos resulta esencial para reducir los riesgos en la población (Velázquez y Flores, 2017).

Tabla 4. Presencia de Aflatoxina M1 en la leche procedente de diferentes países en el periodo 2008-2017.

País	Muestras analizadas	Muestras positivas		Rango (µg/kg)		(n) ENR UE (%)
		(n)	(%)	Mínimo	Máximo	
Arabia Saudita	177	176	99	ND	0.069	5.6
Brasil	52	52	100	0.09	3.85	59.6
China	72	43	60	ND	0.42	24
Costa Rica	70	67	96	0.019	0.629	-
Croacia	337	337	100	0.003	0.162	6.7
India	45	45	100	0.001	3.8	49
Iran	72	72	100	0.18	0.25	100
México	50	50	100	0.005	0.1	0.7
	37	6	16.2	0.002	0.018	-
	40	32	80	0.006	0.065	94
Nigeria	10	10	100	0.407	0.952	100
Palestina	40	34	85	ND	0.08	20
Sudan	35	35	100	0.1	2.52	100
Sudafrica	125	107	86	ND	0.2	81

Referencia: UE Unión Europea; (n) ENR% Porcentaje de muestras excediendo el nivel regulatorio de la Unión Europea; ND: No detectado. Fuente: adaptado de Amir et al., 2016; Becker-Algeri et al., 2016; Iqbal et al., 2015. * Memoria del XVI Congreso de Inocuidad de los Alimentos celebrado el 8 de Noviembre de 2014.

(Velázquez y Flores, 2017)

Aproximadamente entre 0.5–6% de la aflatoxina B1 ingerida se convierte en aflatoxina M1 y se secreta en la leche. La susceptibilidad a las aflatoxinas depende de la especie, la edad, la dosis, el grado de exposición, la nutrición, el género y la exposición concomitante a otras toxinas (Favaretto *et al.*, 2018).

La excreción puede involucrar filtración intercelular, difusión pasiva a través de membranas o transporte activo a través de vesículas de secreción y sus metabolitos, en particular la aflatoxina M1 puede representar un riesgo potencial para el consumidor debido a su arrastre en la leche consumida. Las mayores concentraciones de esta en la leche ha sido encontrada dos días después de la ingestión por las vacas lecheras. También se ha reportado que la aflatoxina M1 desaparece incluso 4 días después de su eliminación de la dieta (Yiannikouris, 2002). La eliminación de la aflatoxinas es a través de la bilis, las heces, la orina y en la leche. También se ha reportado que la mayoría de las especies eliminan la toxina dentro de las 24 horas posteriores a la exposición (Mostrom *et al.*, 2011).

CAPÍTULO III. MANEJO DE ALIMENTOS, NIVELES PERMITIDOS Y USO DE INHIBIDORES DE MICOTOXINAS

La contaminación con micotoxinas es una de las amenazas más graves para la fabricación y conservación de alimento y la cría de animales. La detección de micotoxinas comenzó a realizarse en 1961, cuando se produjo la muerte masiva de pavos en Inglaterra (Serrano *et al.*, 2015). Como resultado del análisis se descubrió que esto fue causado por la presencia de aflatoxinas en el alimento consumido. En las décadas siguientes, se descubrieron gradualmente más micotoxinas y algunos problemas de salud registrados antes de la década de 1960. Como consecuencia se empezaron a tomar medidas en la preparación y conservación de los alimentos que eviten la contaminación por micotoxinas.

La fabricación y preservación moderna de alimentos para animales se encuentra bajo riesgos crecientes de contaminación, ya que la infección por moho puede ocurrir en casi todos los sectores involucrados, desde el cultivo en el campo hasta el almacenamiento y la logística de los productos terminados. Las micotoxinas son más difíciles de controlar debido a la ausencia de un manejo estandarizado e insuficientes datos toxicológicos. Por lo tanto, la discusión sobre la contaminación por micotoxinas está altamente relacionada con los problemas de infección por moho. Una especie de moho puede producir diferentes micotoxinas y por otro lado, una micotoxina puede ser producida por diferentes especies de mohos (Peng *et al.*, 2018).

Almacenamiento y conservación del grano

Uno de los objetivos principales del almacenamiento es preservar la calidad de los productos agrícolas después de su cosecha, limpieza y secado. Los recipientes de almacenamiento, como los silos ayudan a que el contenido de humedad, temperatura, hongos, insectos, impurezas, daños físicos y roedores no influyan en su conservación, mientras más seco y frío esté el grano, su conservación podría prolongarse por más tiempo. El contenido de humedad es el punto más importante antes de guardar el grano en el silo, se pueden producir pérdidas de toda la cosecha por problemas de exceso de agua, ya que la humedad podría permitir la formación el desarrollo de microorganismos como las bacterias, hongos y las levaduras que degradan los nutrientes. Los granos con bajo contenido de humedad son

más resistentes al ataque de cualquier organismo. El porcentaje de humedad recomendable para cualquier cereal es menor al 13% (Mendez *et al.*, 2016).

En explotaciones intensivas existen silos con grandes capacidades, altamente mecanizados. En el establo de la cuenca lechera en Tizayuca, Hidalgo, se utilizan bodegas en donde se apila el alimento en montones para su posterior preparación. Sin embargo, en otros ranchos se utilizan silos con forma cilíndrica para facilitar la compactación (Mendez *et al.*, 2016).

La preservación de los granos es compleja por la serie de interacciones producidas entre la luz, oxígeno, humedad, temperatura y agentes bióticos (hongos e insectos que repercuten en su calidad). Estos producen energía y humedad, la cual tiende a acumularse en el propio lugar de generación y conlleva a un incremento en la temperatura, siendo el primer indicador de un proceso degenerativo del grano almacenado (Mendez *et al.*, 2016).

En nuestro país, existe la Norma Oficial Mexicana (NOM-025-ZOO-1995) que regula la instalación de establecimientos para fabricación de productos alimenticios en empresas lecheras que poseen la capacidad económica para solventar éste tipo de instalaciones dentro de sus ranchos, que cuentan con su propia fábrica de alimentos para reducir costos. Es importante el correcto cumplimiento de la norma para proporcionar a los animales un alimento de calidad e inocuidad adecuada. Es importante conocer las características y especificaciones zoonosanitarias para las instalaciones, equipo y operación de establecimientos que fabriquen productos alimenticios para uso en animales. Esta norma indica que la SADER se encarga de regular las instalaciones y equipos de los establecimientos que fabriquen productos alimenticios para su uso en animales o consumo de estos, un almacenamiento adecuado de las materias primas, materiales y productos terminados contribuyen a la conservación de la calidad e integridad de los productos para consumo de animales. Esto indica que las empresas deben de tener un control establecido para disminuir riesgos zoonosanitarios. El objetivo de esta norma es la observancia obligatoria en todo el territorio nacional y establece las características específicas mínimas zoonosanitarias. Esta norma es aplicable en todos los establecimientos dedicados a la fabricación y maquila de productos alimenticios para consumo animal. Las consideraciones generales que se deben

de tener indican que las instalaciones deben de reunir características que garantizan la higiene en la fabricación, acondicionamiento y almacenamiento de los productos alimenticios.

Además, las áreas encargadas del proceso de preparación de los alimentos deben de estar definidas y separadas, no debe de existir comunicación directa con casas habitación, ni albergar animales domésticos.

La conservación se lleva a cabo cuando comienza el secado del grano maduro. El grano puede contener una porción de humedad que oscila entre 18 y 24 %. La mayoría de los agricultores seca el maíz con aire natural o con aire calentado entre 38 °C y 42 °C, esta temperatura permite el secado sin que se pierda la calidad del producto. Debido a que una mayor temperatura podría ocasionar modificaciones en la estructura de los nutrientes como el almidón o la proteína de los granos, estos necesitan perder humedad a una velocidad pertinente sin que esta dañe las propiedades del alimento (López *et al.*, 2016).

Existen diferentes tipos de métodos de secado tanto artificiales como naturales, el más utilizado es el natural. Este método consiste en dejar madurar el maíz en el campo o en patios mientras la radiación solar y el movimiento del aire lo van secando poco a poco, este método conlleva algunos riesgos. Por ejemplo, se necesita de una buena condición climática, además de tener mucho cuidado con los insectos que dañan el grano. Sin embargo, uno de los beneficios son su bajo costo. Un sistema de secado artificial exige una inversión considerable para el agricultor, la ventaja es que podrá tener grano de mejor calidad y sin mucha pérdida por lo que podrá elevar su beneficio económico. En el proceso de secado artificial, el aire es introducido por medio de ventiladores que se puede realizar en el propio silo y consiste en pasar aire caliente por un flujo continuo de granos y así obtener granos secos a bajas temperaturas (Mendez *et al.*, 2016). Por lo cual, es importante tener un buen manejo en el transporte del alimento para evitar pérdidas o contaminación.

Transporte de granos

La Norma Oficial Mexicana (NOM-247-SSA1-2008) y la NORMA Oficial Mexicana (NOM-188-SSAL. 2002) abarcan el tema de especificaciones sanitarias que se deben seguir para el correcto transporte de cereales y sus productos. Como las harinas de cereales, sémolas o semolinas, los alimentos a base de cereales, semillas comestibles o sus mezclas incluyendo productos de panificación.

Las especificaciones sanitarias para la prevención de la contaminación por micotoxinas en las unidades de transporte deben de someterse a limpieza, hasta eliminar la suciedad, residuos vegetales, tierra, excretas, restos de animales, fauna nociva, telarañas, productos químicos o cualquier producto o sustancia nociva. Es importante establecer por escrito, los lugares en los que se almacenarán cereales que no rebasen el límite máximo de micotoxinas establecido por la norma (NOM-247-SSA1-2008), en el cual no deben almacenarse en la misma bodega cereales con concentraciones de 20 g/Kg de aflatoxinas o los que rebasen este valor. Durante la recepción, el grano debe ser secado a la brevedad hasta alcanzar una humedad de 14.5%, misma que se debe de conservar o disminuir durante todo el tiempo que permanezca almacenado. Los cereales no deben exceder de 20 µg/kg de aflatoxinas totales. En el caso de observarse concentraciones desde 21 y hasta 300 µg/kg, el cereal únicamente podrá utilizarse para **consumo animal**. Sin embargo en el apéndice normativo A existe una tabla en la cual se debe ajustar dependiendo de la etapa de producción en donde para el caso de los rumiantes maduros destinados a reproducción se maneja el límite máximo de 100 µg/kg.

En el caso de los almacenamientos que se encuentran en la intemperie, éstos deben contar con dispositivos que eviten el contacto de los cereales con el suelo. Los contenedores no deben presentar filtraciones o roturas. Las bodegas deben de ser edificios provistos de paredes, pisos y puertas, techados o que pueden ser cubiertos, en los que no deben existir goteras, nidos, fisuras o puertas en mal estado. Asimismo deben contar con termopares y estar colocados en diferentes puntos del almacén para el monitoreo de la temperatura (NOM-247-SSA1-2008).

La movilización de los granos dentro del territorio nacional debe de someterse a limpieza, hasta eliminar suciedad, residuos vegetales, suelo, excretas, restos de animales,

fauna nociva, telarañas, productos químicos, sus envases, o cualquier producto o sustancia nociva para el producto. En caso de que se apliquen plaguicidas, estos deben estar autorizados. Se debe establecer por escrito, en su caso, los lugares en los que se almacenarán cereales que rebasen el límite máximo de aflatoxinas señalado.

Para efectos de control, el almacenamiento debe documentarse en bitácoras o registros de manera que garantice los requisitos. Los registros o bitácoras incluyendo los que se elaboren por medios eléctricos deben: contar con respaldos que aseguren la veracidad de la información y un procedimiento para la prevención de acceso y correcciones no controladas. Además, deben conservarse por lo menos durante un año y estar a disposición de la autoridad sanitaria cuando así lo requiera.

Niveles máximos permitidos por organismos internacionales

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en aditivos alimentarios es el organismo internacional encargado de evaluar los riesgos sanitarios de las toxinas naturales en humanos. El Codex posee las normas de referencia internacional para los suministros alimentarios nacionales y para el comercio de alimentos.

En México existe la Norma Oficial Mexicana: NOM-188-SSA1-2002, en la cual sólo se aplica en "Aflatoxinas". Originalmente, los límites para las micotoxinas se establecieron a fines de la década de 1960. Para finales del 2003, aproximadamente 100 países habían desarrollado límites específicos para las micotoxinas en alimentos. Estos límites máximos permisibles han sido establecidos para algunas micotoxinas por las organizaciones nacionales o internacionales en la Unión Europea o en algunos países en particular en todo el mundo como la Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), Comité Científico de la UE para la Alimentación (SCF) y algunos otros (Stoev, 2015).

Para la alimentación animal, los límites máximos permitidos establecidos por la Comisión Europea (CE) para aflatoxinas B1 son 0.02 mg/kg para todas las materias primas para la alimentación. Los límites actuales para aflatoxinas B1 en alimentos para animales varían de 0.005 a 0.02 mg/kg (Vila *et al.*, 2018). En la tabla 6 se describen dichos límites .

Además, se han recomendado valores de orientación en las micotoxinas Zearalenona y Votmitoxina, lo cual se presenta en la tabla 7 (Stoev, 2015) .

Algunos países estipulan una tolerancia cero a la presencia de micotoxinas, mientras que en otros se tienen límites que van desde 2 a 50 mg/kg. Países como Australia, Canadá, Colombia, Hungría, India, Japón, México, Cuba, Tailandia y Estados Unidos de América cuentan con legislaciones en las cuales se estipulan niveles máximos de tolerancia para Aflatoxina B1 que oscilan entre 5 y 30 mg/kg (Castillo y Durán, 2018).

Tabla 5. Niveles máximos para aflatoxinas B1 en alimentos (directiva, 2003/32/CE).

Alimentos	Aflatoxina B1, mg/kg^a
Todos los materiales de alimentación.	0.02
Alimentos completos para bovinos, ovinos y caprinos con la excepción de:	0.02.
- Alimentos completos para ganado lechero	0.005.
- Alimentos completos para terneras y corderos	0.01.
Alimentos completos para cerdos y aves (excepto animales jóvenes)	0.02.
Otros alimentos completos	0.01.
Alimentos complementarios para bovinos, ovinos y caprinos. (excepto alimentos complementarios para animales lecheros, terneros y corderos)	0.02.
Alimentos complementarios para cerdos y aves de corral (excepto animales jóvenes)	0.02.
Otros alimentos complementarios	0.005.
^a Relativo a un alimento con un contenido de humedad del 12%, CE (Comisión Europea).	

(Vila *et al.*, 2018)

Tabla 6. Guía de valores orientativos para zearalenona y deoxinivalenol en alimentos (2006/576/EU).

Micotoxinas	Alimentos	Guía de evaluación, mg/kg^a
DON	Cereales y productos de cereales, con la excepción de productos de maíz	8
	Productos de maíz	12
	Material de alimentación :	
ZEN	Cereales y productos de cereales, con la excepción de productos de maíz	2
	Productos de maíz	3
	Para vacas lecheras	0.5
DON (Vomitoxina), ZEN (Zearalenona), ^a Relativo a un Alimento con un contenido de humedad de 12% EU (Unión Europea)		

(Vila *et al.*, 2018)

La Comunidad Europea ha introducido límites máximos permisibles para aflatoxinas y algunas otras micotoxinas en productos específicos y participa activamente al considerar otras micotoxinas que necesitan regulación a nivel mundial (Stoev, 2015). El control y la regulación de las micotoxinas nefrotóxicas en alimentos para animales en la Unión Europea ha sido resumido en la Tabla 8, donde también se muestra que han sido aceptados varios límites para el contenido máximo permitido de aflatoxina B1 en alimentos para animales en la Unión Europea y en algunos otros países en particular. Tales límites legales para algunas micotoxinas en diversos productos en cada país se eligen generalmente dependiendo de varios factores importantes como la existencia de datos suficientes para el efecto toxicológico de las micotoxinas, la existencia de datos sobre la aparición de micotoxinas en diversos productos, la disponibilidad de métodos de muestreo y análisis, las implicaciones del comercio entre países o la existencia de un suministro suficiente de alimentos y lo mismo puede tener implicaciones importantes en el comercio internacional. Especialmente si la exportación de un producto puede representar un porcentaje significativo de los ingresos comerciales del país en cuestión (Stoev, 2015).

Tabla 7. Límites permitidos en las micotoxinas.

Micotoxinas	Alimentos de animales	Contenido máximo mg/kg(ppm)
Aflatoxinas B1	- Alimentos completos para bovinos con excepción de:	0.02
	√ Alimentos completos para animales lecheros	0.005
	√ Alimentos completos para terneras y corderos	0.01
Deoxinivalenol	-Cereales sin subproductos de maíz	8
	- Subproductos de maíz	12
	- Alimentos completos y complementarios con excepción de:	5
	√ Alimentos completos y complementarios para terneros.	2
Zearalenona	-Cereales sin derivados del maíz	2
	-Subproductos de maíz	3
	- <u>Alimentos completos y complementarios para terneros, vacas lecheras</u>	<u>0.5</u>

(Stoev, 2015)

Los límites máximos tolerables de las micotoxinas indicados por la FDA son más altos en rumiantes en comparación con los cerdos y las aves de corral. Sin embargo, para el ganado joven, para las aves de corral y para el ganado lechero, los límites aceptables de la Aflatoxina son solo de 20 ppm. El límite máximo permitido de desoxinivalenol para el ganado es de 10 ppm (Upadhaya *et al.*, 2010).

Algunos autores han indicado que es bastante difícil establecer límites que tengan validez a nivel internacional, en parte por el tiempo que lleva acordar e introducir límites reconocidos internacionalmente por los diversos países y organizaciones gubernamentales. Por lo tanto, también se ha señalado que puede ser mucho más fácil y útil introducir los límites de la guía como una medida temporal cuando el riesgo para la salud pública es realmente significativo. (Stoev, 2015).

El umbral dietético para que en las vacas lecheras secreten aflatoxinas a través de la leche es de aproximadamente 15 mg/kg de ración (ppb). El límite permisible según la administración de drogas y alimentos de los Estados Unidos (FDA) es de 0.5 ppb en la leche. La proporción de aflatoxina M1 secretada en la leche normalmente se encuentra entre niveles no detectables y un 4%. La fracción restante se absorbe en el tracto digestivo por difusión pasiva y se hidroxila en el hígado (Mostrom y Jacobsen, 2011; Upadhaya *et al.*, 2010).

A continuación, las Tablas 8 y 9 presentan los valores de referencia que se utilizan en México para micotoxinas, así como los límites de tolerancia para diferentes especies: INS 507-10. Versión 03.

Tabla 8. Niveles límites en las aflatoxinas en diferentes alimentos.

Alimento	Aflatoxinas	Límite
Leche	M1	0.5 ug/L
Leche fluida y en polvo	M1	5.0 ug/kg
Maíz (grano, harina o sémola)	B1, B2, G1,G2	20 ug/kg

(Llamas,2016).

Tabla 9. Niveles de tolerancia y riesgo de contaminación del alimento por las diferentes micotoxinas en explotaciones bovinas (ppb ó μ /Kg).

Toxina	Bajo	Medio	Alto
Vomitoxinas			
Terneros	<250	250-1000	>1000
Vacas lecheras	<500	500-2000	>2000
Zearalenona			
Vacas lecheras	<100	100-250	>250
Aflatoxinas B1			
Vacas lecheras	<5	5-20	>20

(Llamas, 2016).

Control de las micotoxinas en el alimento animal

Las medidas sugeridas para la prevención y control de las micotoxinas durante el proceso de siembra, cosecha y almacenamiento de los productos incluyen:

- 1) Mantener la integridad física de las semillas de cereales al momento de la siembra, con el objetivo de limitar el acceso de los mohos a los nutrientes presentes en los granos.
- 2) Controlar la humedad, temperatura y la entrada de fauna nociva en las bodegas de almacenamiento de los cereales cosechados
- 3) Reducir el tiempo almacenamiento(<1 mes) de los cereales para ser consumidos.
- 4) Capacitación del personal para mantener limpios los alimentos (MAGRAMA, 2014).

Algunos productos comerciales

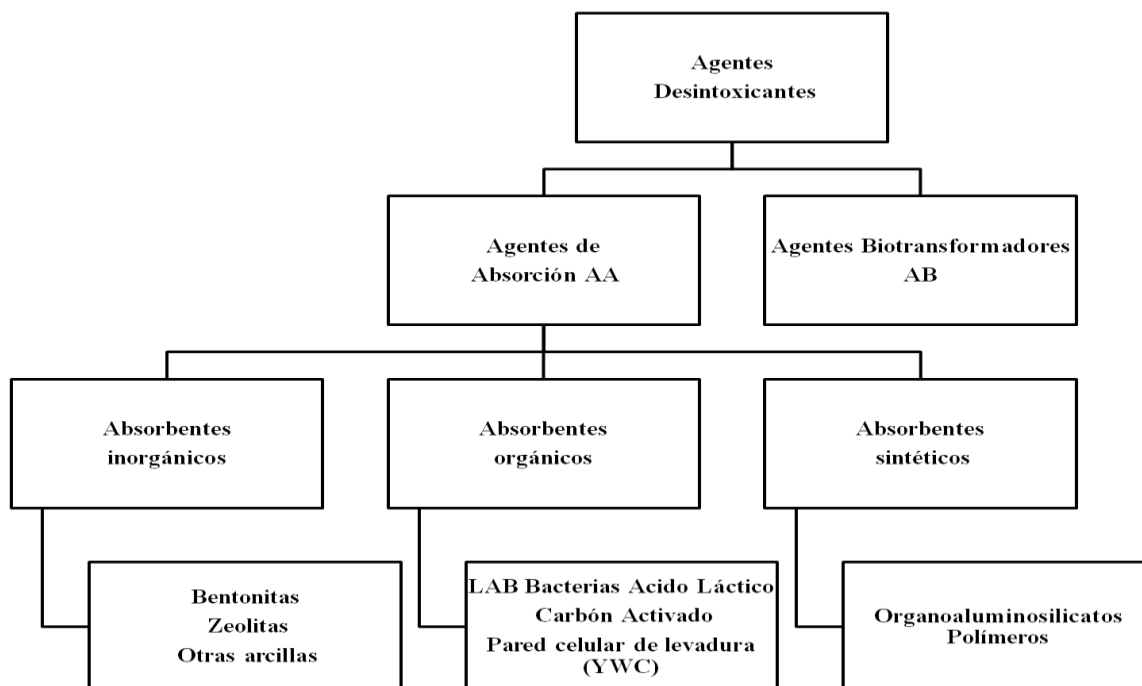
Debido a que ha sido difícil la eliminación total de las micotoxinas en la ración de animales de granja, en la actualidad existen diversas empresas dedicadas a la generación de productos comúnmente denominados inhibidores de micotoxinas que ayudan a prevenir los efectos negativos en los animales.

Generalmente, los inhibidores de micotoxinas se agregan a la dieta de los animales para reducir la absorción de micotoxinas en el tracto gastrointestinal y su distribución a la sangre y los órganos. Dependiendo de su modo de acción, actúan ligando las micotoxinas a su superficie (adsorción), degradándolas o transformándolas en metabolitos menos tóxicos (biotransformación). Por lo tanto, podemos definir al menos dos categorías principales: agentes adsorbentes y agentes de biotransformación, Figura 2 (Vila *et al.*, 2018).

Los agentes adsorbentes son compuestos de gran peso molecular y se unen a las micotoxinas presentes en los alimentos contaminados sin disociarse en el tracto gastrointestinal del animal, lo que limita su biodisponibilidad, de esta manera, el complejo de micotoxina -agente de absorción - pasa a través del tracto digestivo y se elimina a través de las heces. Este complejo debe ser estable a las variaciones del pH, a las propiedades fisicoquímicas (polaridad, solubilidad y forma), también se les conocen como aglutinantes

de micotoxinas. Estos agentes se pueden dividir en tres subgrupos: compuestos inorgánicos, orgánicos o sintéticos, Tabla 16 (Vila *et al.*, 2018).

Figura 2. Clasificación de los agentes detoxificantes.



(Vila *et al.*, 2018).

Los agentes biotransformadores pueden actuar mediante enzimas que degradan las micotoxinas o por microorganismos que producen dichas enzimas. Varias especies microbianas, incluyendo bacterias, levaduras y hongos, han sido reconocidas por su capacidad para biotransformar micotoxinas en metabolitos menos tóxicos a través de rutas como la acetilación, oxigenación, escisión de la cadena anillo, oxidación profunda, isomerización o glucosilación. La aplicación de agentes biotransformadores es limitada debido a la falta de información sobre los mecanismos de transformación, la toxicidad de los productos derivados de la biotransformación, el efecto de las reacciones en los valores nutricionales de los alimentos y la seguridad para los animales (Vila *et al.*, 2018).

CAPÍTULO IV. ESTUDIO DE CASO: DIAGNÓSTICO DE LA PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN EL ALIMENTO DE UN ESTABLO LECHERO

Justificación

La producción lechera es uno de los sectores de mayor importancia dentro del ámbito pecuario en nuestro país. Como se ha indicado anteriormente, este sector también es uno de los más afectados debido a la presencia de micotoxinas en el alimento consumido por los animales.

Por lo tanto, es importante conocer tanto el tipo como los niveles de micotoxinas presentes en los ingredientes alimenticios que se usan en las granjas lecheras, de tal manera que se puedan proponer planes que conlleven a una mejora en el nivel de salud o productividad animal. En los sistemas de producción lechera, los animales que se encuentran en mayor susceptibilidad son las becerras jóvenes y las vacas en producción. Por esta razón, en este estudio nos enfocaremos al análisis del alimento en estas dos etapas que los animales consumen.

Objetivo general

Determinar la concentración de micotoxinas presentes en el alimento del ganado bovino lechero utilizado en Tizayuca mediante la técnica de ELISA.

Objetivos específicos

Detectar la presencia y concentración de aflatoxinas, zearalenona y deoxinivalenol en el alimento iniciador de becerras.

Detectar la presencia y concentración de aflatoxinas, zearalenona y deoxinivalenol en el alimento iniciador de vacas en producción.

Comparar los resultados con las recomendaciones oficiales para verificar si las concentraciones están en el rango o sobrepasan el límite permitido.

Metodología

Las actividades de muestreo que a continuación se describen, fueron llevadas a cabo durante el mes de Marzo del 2019 y constó de 5 ocasiones.

Características del establo y manejo de animales

Se tomaron muestras de alimento para el análisis del contenido de micotoxinas en un establo localizado en la Cuenca Lechera de Tizayuca en el Estado de Hidalgo. Estas muestras consistieron en alimento iniciador para becerras y alimento concentrado para vacas adultas en producción. En general, el manejo de las becerras consiste en: calostro durante el primer día de vida, alimentación con leche entera dos veces al día, el destete ocurre a los 90 días de edad, el alimento iniciador es proporcionado a partir de las dos semanas de edad, el peso de las becerras es registrado en el segundo día de edad y a los 90 días. El alimento iniciador de las becerras es un alimento comercial en forma de pellets. El establo está compuesto por vacas Holstein primíparas y multíparas, las cuales son alimentadas 2 veces al día, en forma de ración totalmente mezclada con tres ordeñas al día (06:00, 13:00 y a las 21 horas). El alimento de vacas adultas consiste principalmente de una mezcla de maíz roado, alfalfa, cáscara de naranja y semilla de algodón.

Descripción geográfica y climática de la región

El municipio de Tizayuca colinda al norte con el estado de México y el municipio de Tolcayuca; al este con el municipio de Tolcayuca y el estado de México; al sur con el estado de México; y al oeste con el estado de México (Figura 3) (INEGI, 2019). Presenta un clima correspondiente a semiseco templado. La altitud media es de 2,300 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2019).

Durante el 2019, la precipitación media anual fue de 321.9 mm, y la correspondiente al mes de marzo fue de 11.3 mm. La época más intensa de lluvias se presenta generalmente durante los meses de junio, julio y agosto (Cuadro 15, CONAGUA, 2019). En el mes de marzo de 2019, la temperatura máxima promedio fue de 28.1 °C, la temperatura media promedio fue de 19.5 °C y con una temperatura mínima promedio de 10.8 °C (CONAGUA, 2019).

Figura 3. Ubicación geográfica del municipio de Tizayuca, Hidalgo.



Tabla 10. Precipitación registrada en la región que alberga la cuenca de Tizayuca, Hidalgo.

Mes	Precipitación (mm)
Enero	12.3
Febrero	7.9
Marzo	11.3
Abril	6.8
Mayo	14.2
Junio	108.1
Julio	56.8
Agosto	47.3
Septiembre	57.2
Anual	321.9

(CONAGUA, 2019)

Tabla 11. Temperatura registrada en la región que alberga la cuenca de Tizayuca, Hidalgo.

Mes	T° Máxima promedio	T° Media promedio	T° Mínima promedio
Enero	23.4	15.4	7.5
Febrero	27.9	19	10.2
Marzo	28.1	19.5	10.8
Abril	30.5	21.4	12.3
Mayo	32.1	23.7	15.2
Junio	28.5	22	15.4
Julio	27.6	21.1	14.6
Agosto	28.6	21.3	14.1
Septiembre	26.9	20.4	13.9
Promedio	28.1777778	20.4222222	12.6666667

(CONAGUA, 2019)

Proceso de muestreo

En total, se colectaron 10 muestras (5 muestras de alimento para becerras y 5 muestras de alimento para vacas en producción), ambos tipos de muestras fueron recolectadas en intervalos de aproximadamente una semana durante un periodo total de cinco semanas. Este muestreo se realizó en su mayoría durante el mes de marzo de 2019.

Figura 4. Colecta y etiquetado de muestras para el análisis de micotoxinas



Se utilizaron bolsas herméticas de plástico de 25x30 cm que fueron etiquetadas con un marcador indeleble para identificar cada muestra obtenida (Figura 4). La cantidad del alimento tomado fue de 500 g por cada tipo de alimento en cada uno de los muestreos. Las muestras fueron conservadas en congelación a -20 °C hasta su traslado al laboratorio de análisis.

Análisis de laboratorio de micotoxinas

El análisis de micotoxinas se llevó a cabo en un laboratorio comercial de la empresa forrajera de Ganaderos de Aguascalientes S.A. de C.V. (FOGASA) en la ciudad de Aguascalientes (Aguascalientes). Las Micotoxinas cuantificadas fueron: aflatoxinas, zearalenona y deoxinivalenol. El método utilizado para esta identificación fue ELISA (Inmunoensayo enzimático competitivo).

El análisis de aflatoxinas consistió en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas competitivo directo que determina un nivel cuantitativo para la presencia de aflatoxina total (B1, B2, G1 y G2) y que generalmente se usa para el análisis de granos, cereales, alimentos para animales y otros productos básicos. Para su análisis, las micotoxinas se extraen de una muestra con metanol al 70% (Romer Labs, 2007).

Para el análisis de zearalenona se utilizó un ensayo inmunoabsorbente enzimático competitivo directo, que determina un nivel cuantitativo para la presencia de zearalenona. Este tipo de análisis comúnmente se emplea en granos como maíz, soya, cebada malteada, arroz, sorgo, harina de trigo, etc. La zearalenona se extrae de una muestra con metanol al 70% (Romer Labs, 2007).

Para la medición del deoxinivalenol se utilizó un análisis cuantitativo de zearalenona aprobado por el Instituto de Investigación AOAC de acuerdo con el Programa de Método de Prueba de Desempeño y el programa FGIS (Servicios de Inspección Federal de Granos) de la Administración de Inspección de Granos, Empacadores y Stockyards del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA / GIPSA). Para este método, se requiere un

espectrofotómetro de placa de microtitulación para la cuantificación. La base de la prueba es la reacción antígeno-anticuerpo (R-Biopharm AG, 2014).

Análisis estadístico

Los valores sobre el contenido de las micotoxinas en los alimentos se resumieron en un cuadro mediante los comandos Proc SORT y Proc PRINT del paquete estadístico SAS[®] (version 9.4; SAS Institute Inc.).

La comparación de la concentración de micotoxinas entre las muestras también se realizó mediante el paquete estadístico SAS[®] por medio del procedimiento Proc MIXED. Este modelo estadístico utilizó el efecto fijo del tipo de alimento así como el efecto aleatorio de muestra. La ocasión de muestreo se incluyó en el método estadístico como mediciones repetidas utilizando el comando REPEATED en el modelo. Se consideró como diferencia significativa cuando el valor de P es menor 0.05 y como una tendencia cuando dicho valor fue mayor a 0.05 pero menor a 0.10. Para cada tipo de micotoxina se indica el promedio y la desviación estándar.

CAPÍTULO V. RESULTADOS

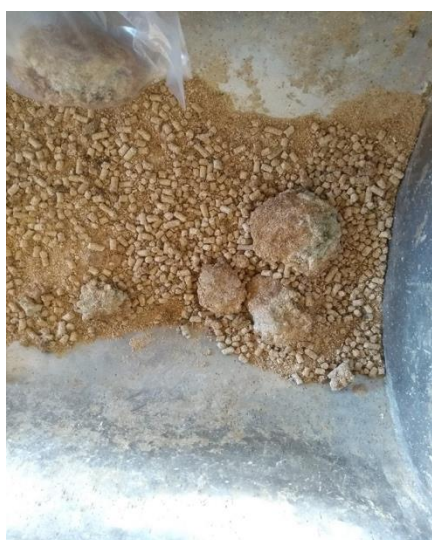
Características de almacenamiento de los alimentos

En la granja en general los ingredientes concentrados se almacenan en bodegas que permiten la ventilación de los alimentos (Figura 5). Sin embargo, este sistema de almacenamiento también permite que estén en constante contacto con humedad cuando se presentan lluvias, lo que provoca la contaminación del mismo y a la proliferación de hongos (Figura 6).

Figura 5. Almacenamiento de los ingredientes alimenticios concentrados en el establo



Figura 6. Alimento concentrado para becerros utilizada en el establo con presencia de hongos en la superficie.



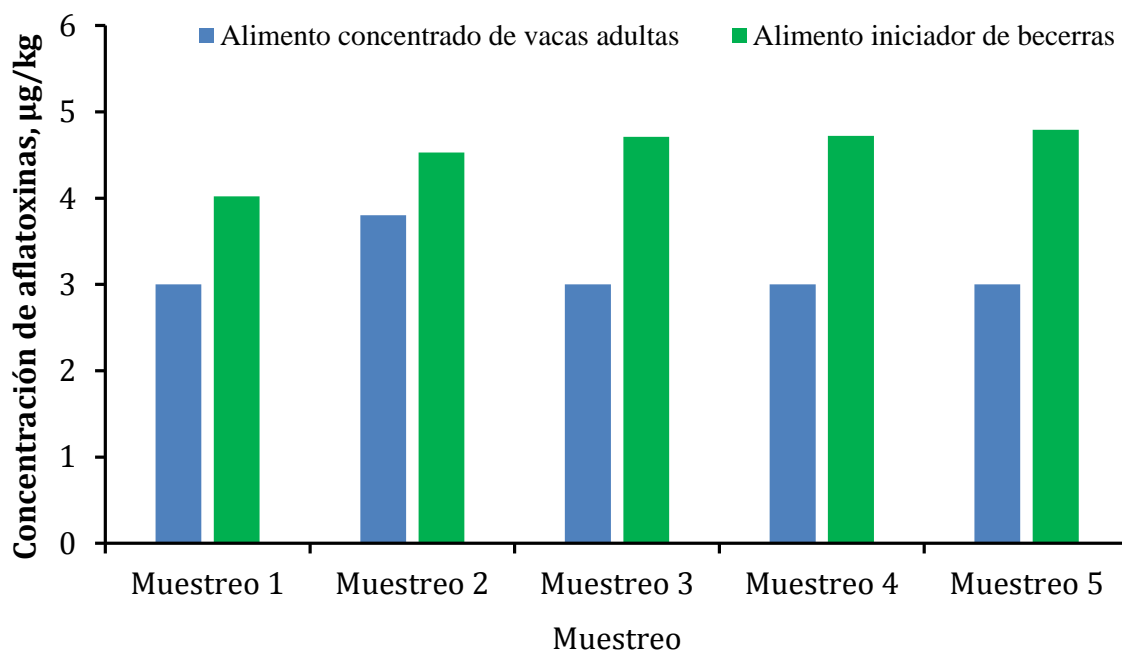
Concentración de micotoxinas en los alimentos

Los resultados del estudio para la concentración de micotoxinas en las muestras se presentan en 6 gráficas. Las primeras 3 muestran las variaciones de cada micotoxina en los dos tipos de alimento a lo largo del periodo de muestreo. Posteriormente, se ilustran otras 3 gráficas que comparan los niveles de cada micotoxina entre los dos tipos de alimento analizado.

Variación del nivel de micotoxinas durante el periodo de muestreo

Aflatoxinas

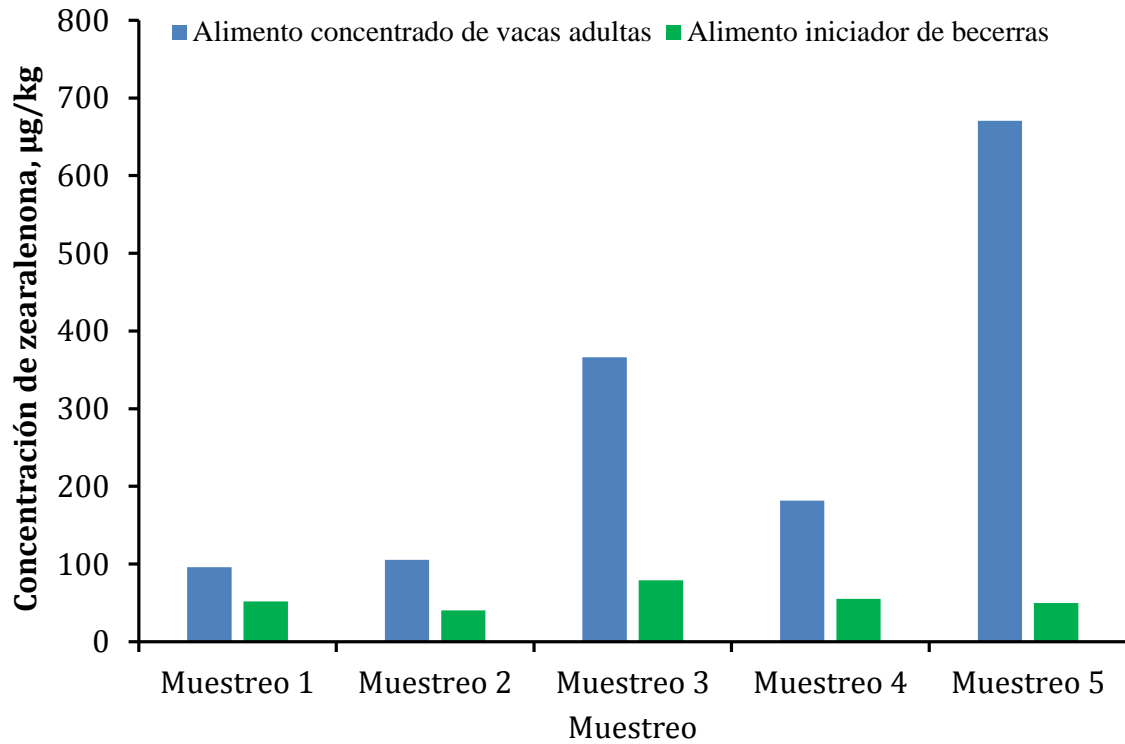
Figura 7. Concentración promedio de aflatoxinas totales durante el periodo de muestreo en el alimento iniciador para becerras y en el alimento concentrado para vacas.



La figura 7 muestra que durante el periodo de muestreo, el contenido de aflatoxinas presente en el alimento concentrado para vacas adultas fluctuó de 3 ppb hasta 3.8 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$), mientras que en el alimento iniciador para becerras fluctuó de 4.02 ppb hasta 4.79 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$), (Apéndice 1).

Zearalenona

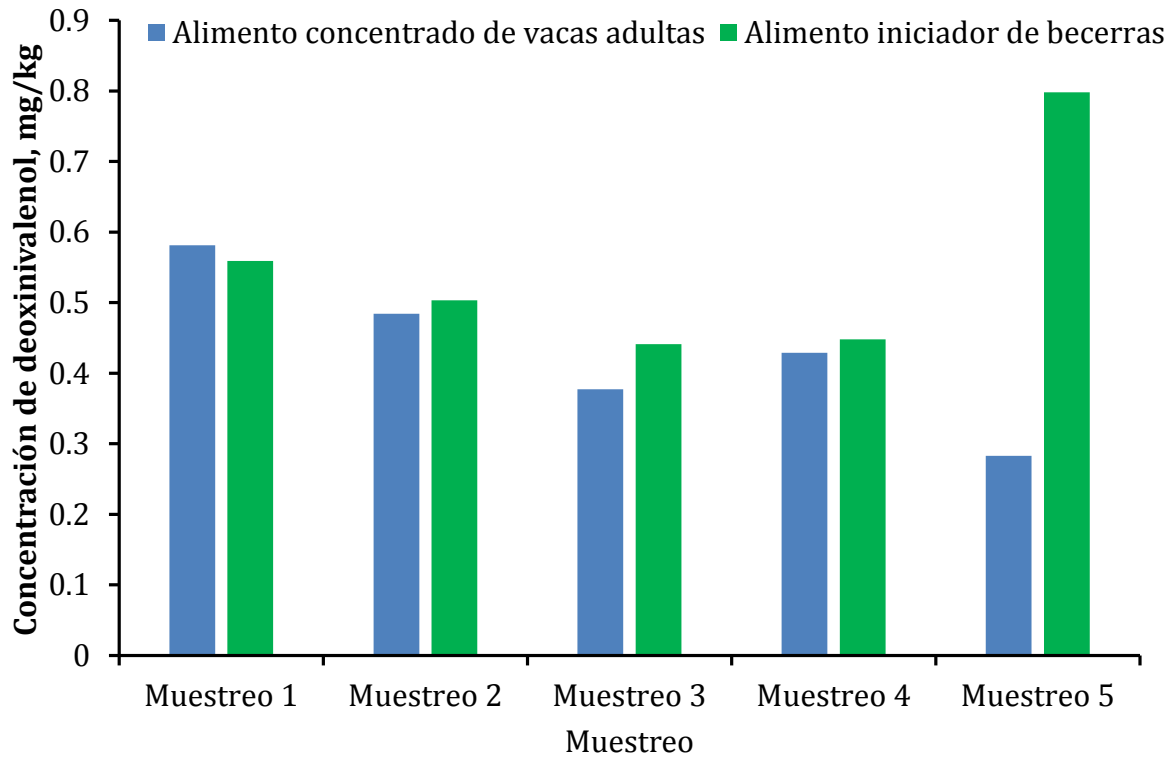
Figura 8. Concentración promedio de zearalenona total durante el periodo de muestreo en el alimento iniciador para becerras y en el alimento concentrado para vacas.



La figura 8 indica que la concentración de zearalenona en el concentrado para vacas fluctuó de 95.78 µg/kg hasta 670.76 µg/kg., mientras que en el alimento para las becerras fue de 40.52 µg/kg hasta 78.91 µg/kg (Apéndice 2).

Deoxinivalenol

Figura 9. Concentración promedio de deoxinivalenol total durante el periodo de muestreo en el alimento iniciador para becerras y en el alimento concentrado para vacas.

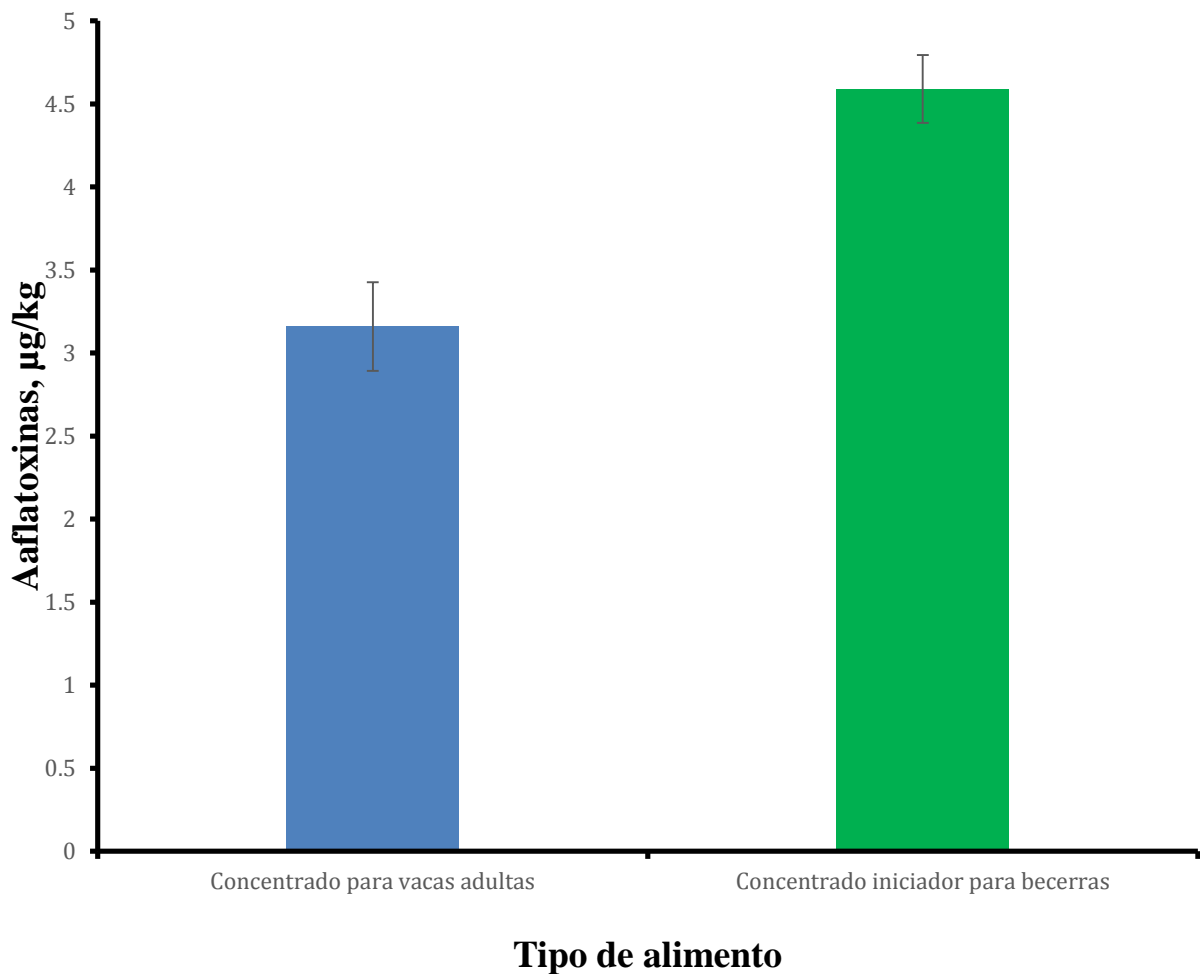


La figura 9 indica que el contenido de deoxinivalenol en el alimento para vacas adultas fluctuó de 0.283 ppm hasta 0.581 ppm (mg/kg), mientras que en el alimento para las becerras fluctuó de 0.441 ppm hasta 0.798 ppm (mg/kg).

Comparación de la concentración de micotoxinas entre los tipos de alimento

Aflatoxinas

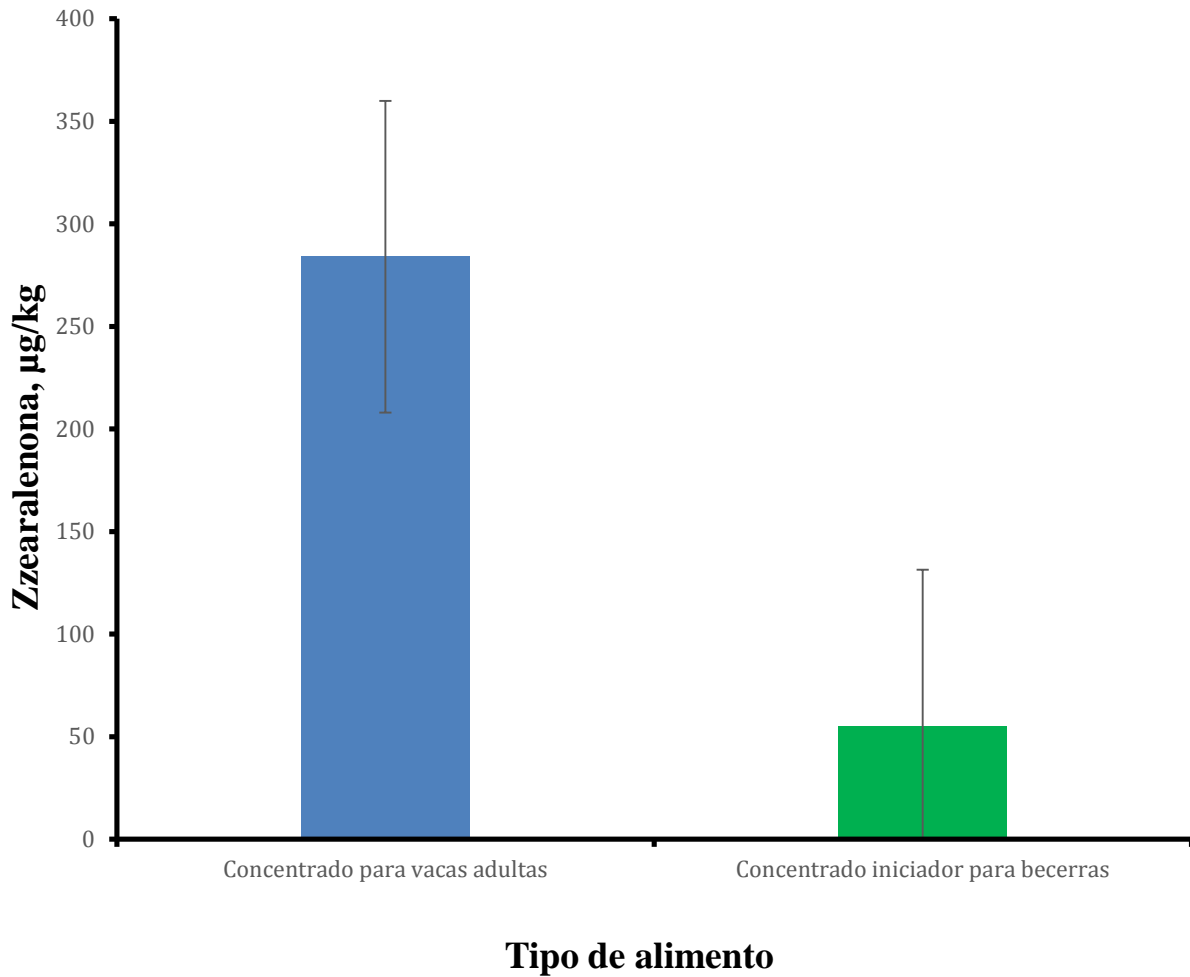
Figura 10. Comparación de los niveles de aflatoxinas presente en el alimento iniciador para becerras y alimento concentrado para vacas.



El nivel de aflatoxinas fue mayor en el alimento iniciador para becerras que en el alimento concentrado para vacas (4.55 vs 3.16 ± 0.150 µg/kg, respectivamente. $P < 0.01$).

Zearalenona

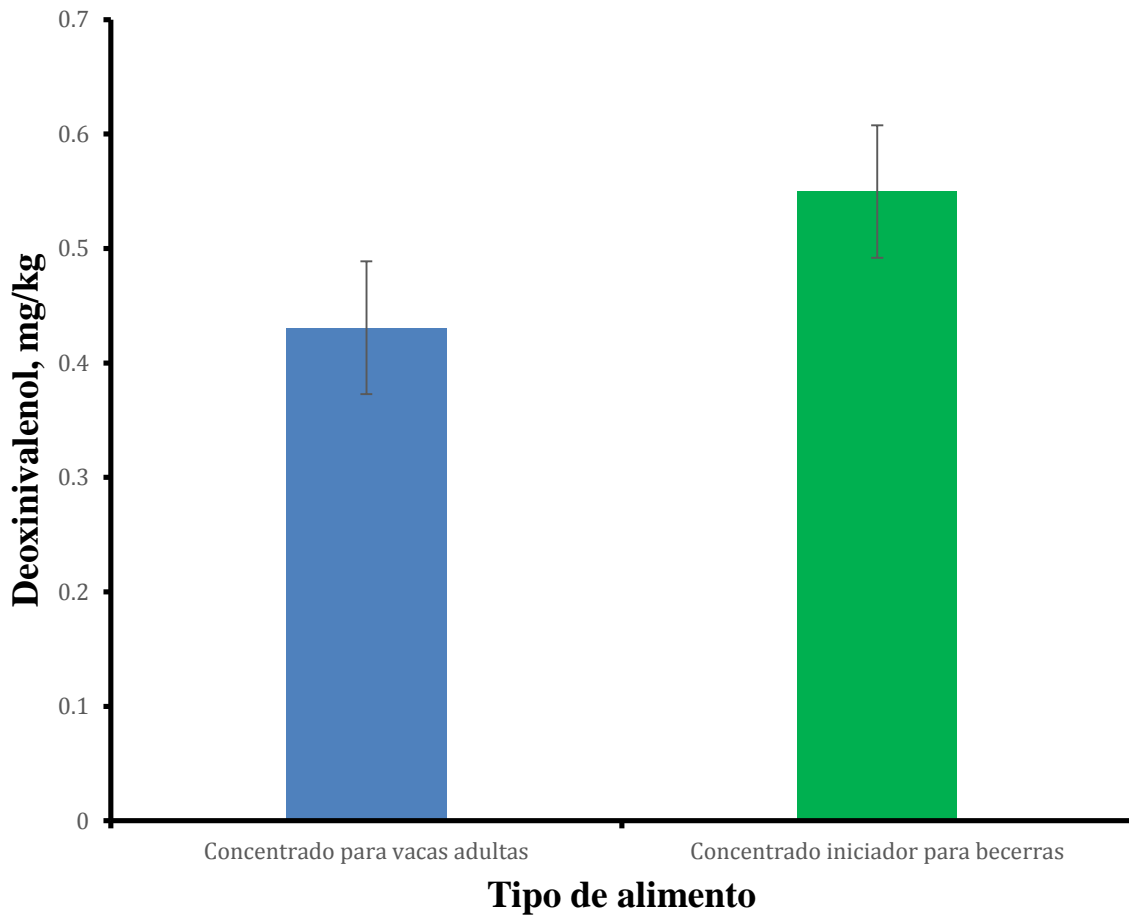
Figura 11. Comparación de los niveles de zearalenona presentes en el alimento iniciador para becerras y alimento concentrado para vacas.



El contenido de zearalenona mostró una tendencia de mayor concentración en el alimento concentrado de vacas adultas que en el iniciador de becerras (284.03 vs 55.30 ± 76.630 µg/kg $P = 0.09$ respectivamente).

Deoxinivalenol

Figura 12. Comparación de los niveles de vomitoxina presentes en el alimento iniciador para becerras y alimento concentrado para vacas.



El contenido de deoxinivalenol no fue estadísticamente diferente entre el alimento iniciador de becerras y el alimento concentrado para vacas (0.54 vs 0.43 mg/kg . $P= 0.22$ respectivamente).

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN

El estudio de las micotoxinas en los sistemas de producción de ganado lechero es de suma importancia, no solo por sus posibles efectos negativos sobre la salud de los animales, si no también porque este sector es uno de los más importantes en nuestro país. La presencia de micotoxinas en el alimento podría ocasionar una disminución en la productividad y en eficiencia alimenticia de los animales. Lo cual indica que los efectos de las micotoxinas podrían traducirse en pérdidas económicas y en un deterioro en la calidad de los productos para el consumo humano, por ejemplo en los productos lácteos.

Niveles de Aflatoxinas

Se compararon los resultados con la NOM 188-SSA-2002, la cual menciona que los límites permitidos para consumo animal de cereales con una concentración mayor a 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas para consumo directo o productos procesados deberán ajustarse a la etapa de producción, en este caso a maduros destinados a reproducción que son las vacas adultas con un límite máximo de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Los resultados obtenidos demuestran que la concentración de la media de ambos alimentos no supera la cantidad de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas totales por kilogramo de alimento, rango que establece la NOM 188-SSA-2002 y que se adapta a la etapa reproductiva en la que se encuentran las vacas en reproducción.

Por un lado, si consideramos que el nivel de consumo del alimento iniciador en becerras es aproximadamente de 1 kg por día y en vacas en lactancia es de 10 kg por día, las becerras estarían ingiriendo alrededor de 4.55 μg de aflatoxinas totales al día. Comparando el valor obtenido de las becerras con respecto a la norma, las cantidades no representan un riesgo inmediato para la salud.

Por otro lado, las cantidades de aflatoxinas consumidas en vacas son de 31.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en 10 kg de alimento al día. El límite permitido por la NOM antes mencionada es de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, es decir que en 10 kg es de 1000 μg , por lo que los valores de la muestra no lo sobrepasan, entonces, esta concentración no representa algún riesgo inmediato.

Sin embargo, vale la pena señalar que Vila Donat *et al.* (2018) mencionan que los animales pueden mostrar signos de enfermedad, incluso en niveles menores a los valores máximos permitidos. Por ejemplo, si la cantidad total de alimento ingerido llega a ser mayor al consumo calculado o si el alimento administrado contiene una mayor concentración de micotoxinas, podría llegar a perjudicar la salud tanto de las becerras como de las vacas, además, si se considera que la aflatoxina se secreta a través de leche como AFM1, también se podría perjudicar el precio de la leche. Por lo tanto se afectaría la salud del animal y perjudicaría económicamente al productor.

Niveles de Zearalenona

En lo que se refiere a la zearalenona, Vila Donat *et al.* (2018) mencionan que en el maíz utilizado en la alimentación para becerras, el límite debe ser inferior a 3,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, y para vacas lecheras de 0.5 mg/kg; es decir, el promedio de consumo de alimento iniciador en becerras es aproximadamente 1 kg por día y en vacas en lactancia es de 10 kg por día. Por lo tanto, las becerras ingieren alrededor de 55.30 μg de zearalenona al día, mientras que las vacas ingieren alrededor de 2840.3 μg al día.

Lo anterior indica que, tanto para de las becerras como para las vacas, las cantidades ingeridas se encuentran por debajo de los límites permitidos. Asimismo, es preciso mencionar que no se encontraron estudios que indiquen efectos negativos en estos niveles sobre la salud, ni en la productividad animal.

Niveles de Deoxinivalenol

Vila Donat *et al.* (2018) mencionan que, para esta micotoxina, el límite permitido en productos de maíz empleado en las dietas es de 12 mg/kg (12000 $\mu\text{g}/\text{kg}$), y Stove (2015) señala que el límite permitido es de 2 mg/kg (2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) para alimentos completos y complementarios para terneros.

Los resultados obtenidos muestran que las becerras consumen 540 μg , por lo que la cantidad ingerida se encuentra dentro de los límites permitidos. En el caso de las vacas la cantidad de doexinivalenol consumida es de 4300 μg , al ingerir 10 kg de alimento. Tanto Vila Donat *et al.* (2018) como Stove (2015) sugieren el límite de 12000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Entonces, es

evidente que la cantidad consumida de esta micotoxina no sobrepasa el límite permitido, para corroborarlo se multiplica la cantidad de alimento ingerido por el límite sugerido, lo cual resultaría en 120000 µg.

En general, el nivel de micotoxinas detectadas en el alimento de becerras o de vacas se encontró por debajo de los límites permitidos en la literatura. Hay que señalar que la cantidad de alimento que consumen (y por lo consiguiente de micotoxinas) dependerá de la etapa fisiológica de los animales, ya que algunos animales consumen más alimento que otros. Además, debemos tener en cuenta que la concentración de micotoxinas en los alimentos podría aumentar debido a diferentes factores, por ejemplo, en los meses más húmedos o calurosos del año (julio-agosto), o por factores químicos y biológicos causantes de una mayor proliferación de micotoxinas. También se debe tomar en cuenta que la susceptibilidad ante las micotoxinas puede cambiar según la etapa fisiológica de los animales y que los efectos negativos pueden manifestarse sobre el alimento, lo cual podría provocar el rechazo y desperdicio del mismo.

Todo esto indica que la presencia de micotoxinas en los alimentos representa un riesgo latente para la salud animal y la economía de la granja. De tal manera que es recomendable tomar medidas preventivas para evitar posibles efectos negativos. Una de estas puede ser la incorporación de productos comerciales inhibidores de micotoxinas para alimentos.

Aunado a esto, en el establo se observaron condiciones que podrían contribuir a la proliferación de hongos en el alimento. Los costales de alimento normalmente se apilan en las bodegas, donde se encuentran en contacto con la intemperie y en algunas ocasiones, la presencia de lluvias humedece el alimento, estos factores facilitan su contaminación. Tomando en cuenta las normas oficiales establecidas por las instituciones gubernamentales, existe mucho por hacer para mejorar las condiciones de almacenamiento y manejo de los alimentos en el establo.

Es preciso señalar que en el establo no se cuenta con registros detallados sobre la incidencia de problemas de salud, además, existen signos que pueden ser causados por varios factores ambientales o patógenos. Sin embargo, durante la estancia en el lugar y el tiempo de muestreo, se pudo notar una serie de problemas reproductivos, como la retención de placenta

o metritis en las vacas adultas, también se observó una alta incidencia de diarreas y problemas respiratorios en las becerras. Esto apoya la idea de implementar productos comerciales inhibidores de micotoxinas, ya que parte de estos problemas podrían estar relacionados con estos compuestos.

CONCLUSIÓN

Las micotoxinas pueden tener efectos negativos sobre la salud y productividad del ganado lechero. Los resultados obtenidos demostraron que las muestras analizadas fueron positivas para aflatoxinas totales, zearalenona y vomitoxina. Las concentraciones permitidas oficialmente son mayores comparadas con los valores detectados en las muestras analizadas. Sin embargo, si las concentraciones de micotoxinas aumentan, pueden llegar a causar toxicidad, lo que es contraproducente para la salud del animal, afectando la producción y su reproducción.

Debido a que en este estudio solamente se analizaron muestras colectadas en un rango de tiempo determinado, es imprescindible señalar que es necesario realizar un estudio a largo plazo, para evaluar las concentraciones de micotoxinas durante todo el año en el establo y verificar si los cambios climáticos como temperatura ambiental o precipitación pluvial tienen un efecto sobre los niveles de micotoxinas en los alimentos. Además, valdría la pena realizar un análisis en donde se mida la concentración de otros tipos de micotoxinas en los ingredientes usados en la granja, ya que se ha reportado la existencia de más tipos de micotoxinas en diversos ingredientes que podrían desarrollarse en el alimento y que pueden afectar la salud de los animales.

Teniendo en cuenta que: 1) todas las muestras resultaron positivas para las micotoxinas analizadas, 2) los niveles de micotoxinas pueden aumentar al haber mayor humedad ambiental, 3) la ingesta total de micotoxinas puede variar de acuerdo al consumo total de alimento, 4) el efecto negativo se puede manifestar también en una disminución en la calidad alimento, y 5) que se notaron algunos problemas de salud que podrían estar relacionados con las micotoxinas, se concluye que estas representan un riesgo latente sobre la salud animal, su productividad y la economía de la granja. Por lo que es recomendable considerar el uso de inhibidores de estos metabolitos.

REFERENCIAS

1. Alpízar, C. Presencia de hongos y contaminación con micotoxinas en ensilajes para alimentación de rumiantes. *Revista de Ciencias Veterinarias*. 2015; volumen (33): 7-31. Disponible en: <http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/index>
2. Arroyo, N. *Micotoxinas: aproximaciones analíticas y metabólicas*. Tesis. Universidad de Granada. 2003.
3. Ballesteros, AL. Evaluación de la prevalencia de AF M1 en la leche materna y su relación con la fuente dietaria de AF. Tesis. Universidad de Tolima. 2014.
4. Ben Taheur, F. Kouidhi, B. Mohammed Y. Salah- Abbés, JB. Chaieb, K. Review: Biotechnology of micotoxins detoxification using microorganisms and enzymes. 2019;volumen(160):12-22.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.02.001>
5. Bernate, X. Efecto de micotoxinas presentes en el alimento de bovinos de leche y su importancia en la salud pública. Tesis. Universidad cooperativa de Colombia. 2016.
6. Broom, L. *Micotoxins and the intestine*. Elsevier. 2015[1° Diciembre]; 1: 262-265. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2015.11.001>
7. Castillo, P. Duran de Bazua, C. Las micotoxinas Metabolitos secundarios de los hongos filamentosos. *Educación química UNAM [Internet]*. 2006; 7(2): P 122. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22201/fq.18708404e.2006.2.66050>
8. Cázarez, G. Alternativa tecnológica para tele medición de temperatura en el almacenamiento de granos. Tesis. Instituto tecnológico de Celaya. 2016.
9. Cheli, F. Campagnoli, A. Dell'Orto V. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. *Animal Feed Science and Technology Elsevier*.2013, 183 (1-2): P 1-16- Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.01.013>.
10. CONAGUA. 2019.
11. De María, P. Mauris, V. Pose, H. Sabbía, J. Manual práctico micotoxinas en ganado lechero. Sitio argentino. 2017: 1-15.
12. Espindola, S. Micotoxinas y micotoxicosis en el ganado bovino lechero. *Revista Chapingo [Internet]*. 2006; 5(1):89-94.
13. Favaretto, AC. Dos Santos, FC. Fernandes, F. Barbosa, IP. Dos Santos, GT. Dos Santos, MS. The occurrence of aflatoxigenic *Aspergillus* spp. In dairy cattle feed in southern Brazil. *BJM*. 2018, 49: 919-928. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.05.005>
14. Fushimi, Y. Takagi, M. Monniaux, D. Uno, S. Kokushi, E. Shinya, *et al*. Effects of Dietary Contamination by Zearalenone and Its Metabolites on Serum Anti-Müllerian Hormone: Impact on the Reproductive Performance of Breeding Cows. *Reproduction in Domestic Animals*. 2015; 50: 1-6. Disponible en: doi: 10.1111/rda.12599
15. INEGI, 2019.
16. Llamas Laboratorio INS 507-10 Versión 03. Recuperado de:

17. MAGRAMA. Buenas prácticas para prevenir la contaminación por aflatoxinas en la producción primaria. Dirección general de producciones y mercados agrarios [Internet].2014;16.Disponible en:https://www.wpsaaeca.es/aeca_imgs_docs/aflatoxinas.pdf
18. Márquez, RN. Impacto de las micotoxinas en el ganado lechero. Sitio argentino [Internet].2016; 78: 1-4. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar
19. Méndez, AR Evaluación de la actividad microbiana presente en el suelo, en respuesta a la aplicación del abono orgánico compost y su efecto en la producción de pastos. Cayame-ecuador 2019. Tesis. Universidad Politécnica Salesiana. 2016.
20. Mostrom, MS. Jacobsen, BJ. Ruminant Mycotoxicosis. *Vet Clin food Anim* 2011, 27: 315-345. Disponible en: [10.1016/j.cvfa.2011.02.007](https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2011.02.007)
21. Nakamura, U. Kadakawa, H. The nonsteroidal mycoestrogen zearalenone and its five metabolites suppress LH secretion from the bovine anterior pituitary cells via the estradiol receptor GPR30 in vitro. *Elsevier Theriogenology*. 2015; 84: 1342-1349. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.07.014>
22. NOM-025-ZOO-1995. Características y especificaciones zoosanitarias para las instalaciones, equipo y operación de establecimientos que fabriquen productos alimenticios para uso en animales o consumo por estos.
23. NOM-188-SSA-2002. Productos y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias.
24. NOM-247-SSA1-2008. Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba.
25. Pantaya, D. Morgavi, DP. Silberg, M. Chaucheyras, D. Martin, C. Suryahadi, KG. *et al.* Bioavailability of aflatoxin B₁ and ochratoxin A, but not fumonisin B₁ or deoxynivalenol, is increased in starch-induced low ruminal pH in nonlactating dairy cows. *American Dairy Science Association*. 2016, 99: 9759-9767. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11421>.
26. Peña, O. Martínez, R. Hernandez, R. Occurrence of Aflatoxin M₁ in cow milk in El Salvador: Results from a two-year survey. *Elsevier Toxicology Reports*. 2018; 5: 671-678. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.06.004>.
27. Peng, W X. Marchal, JL. Van der Poel, AFB. Strategies to prevent and reduce mycotoxins for compound feed manufacturing. *Elsevier Animal Feed Science and Technology*.2017,237:129-153.
Disponible:<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.01.017>.
28. Quinn,PJ. Markey, BK. Leonard, FC. Fitzpatrick, ES. Fanning, S. Hartigan, PJ. *Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias*. 3ra. Ed. Zaragoza (España): Wiley-Blackwell;2002.
29. R-Biopharm AG. (2014). Ridascreen ® fast don, 49(0). Recuperado de

- <http://www.romerlabs.com>
30. Romer Labs. (2007). AgraQuant® Zearalenone Assay 40/1000, 1–4. Recuperado de <http://www.romerlabs.com>
 31. Rushing, BR. Selim, MI. Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. Elsevier Food and chemical Toxicology. 2019; 124:81-100. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.047>
 32. Sánchez, JA. Carrera, V. Muñoz, V. Situación actual de la contaminación por micotoxinas en la alimentación de los cerdos en la región Occidente de México. SANFER [Internet]. 2017. Disponible en: <https://www.porcicultura.com/destacado/Situaci%C3%B3n-actual-de-la-contaminaci%C3%B3n-por-micotoxinas-en-la-alimentaci%C3%B3n-de-los-cerdos-en-la-regi%C3%B3n-Occidente-de-M%C3%A9xico>
 33. Santillán, R. Rodríguez, G. Fernández, SP. Micotoxinas: ¿Qué son y cómo afectan a la salud pública?. UNAM [Internet]. 2017; 18(6): 1-12. Disponible en: <http://revista.unam.mx/vol.18/num6/art46/index.html>
 34. Serrano, HA. Cardona, N. Mycotoxicosis and mycotoxins: generalities and basic aspects. CES Medicina [Internet]. 2015; 29(1): 143-152.
 35. Stoev, SD. Foodborne mycotoxicoses, risk assessment and underestimated hazard of masked mycotoxins and joint mycotoxin effects or interaction. Elsevier ETP. 2015; 29: 794-809. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2015.01.022>.
 36. Sumano, HS. Ocampo, L. Farmacología veterinaria. 3a ed México: Mc Graw Hill; 2006.
 37. Upadhaya SD. Park, MA. Jong, KH. Mycotoxins and their Biotransformation in the rumen. AAAP [Internet]. 2010; 23(9):1250-1260.
 38. Vanhoutte, I. De Mets, L. de Boevre, M. Uka, V. Di Mavungu JD. De Saeger S. *et al.* Microbial Detoxification of Deoxynivalenol (DON) assessed via a Lemna minor L. Bioassay, through Biotransformation to 3-epi-DON and 3-epi-DOM-1. Toxins MDPI [Internet]. 2017; 9(63):1-18. Disponible en: doi: 10.3390/toxins9020063.
 39. Velázquez, CA. Análisis de Micotoxinas aminopolihidroxiladas. Tesis. Universidad de Lleida. 2017.
 40. Vila, P. Marín, S. Sanchis, V. Ramos, AJ. A review of the mycotoxin adsorbing agents, with an emphasis on their multi-binding capacity, for animal feed decontamination. Elsevier Food and chemical toxicology. 2018; 114: 246-259. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.044>
 41. Yiannikouris, A. Jouany, JP. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. INRA, EDP Sciences [Internet]. 2002; 51: 81-99. Disponible en: DOI: 10.1051/animres:2002012
 42. Yousef, MS. Takagi, M. Talukder, AK. Marey, MA. Kowsar, R. Razek, A. *et al* Zearalenone (ZEN) disrupts the anti-inflammatory response of bovine oviductal epithelial cells to sperm in vitro. ELSEVIR Reproductive Toxicology. 2017, 74: 158-

163. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.09.012>
43. Zachariasova, M. Dzuman, Z. Veprikova, Z. Hajkova, K. Jiru, M. Vaclavikova, M. *et al.* Ocurrence of multiple mycotoxins in European feedingstuffs, assessment of dietary intake by farm animals. Elsevier AFST. 2014; 1-17. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.02.007>

APÉNDICES

Apéndice 1

Tabla 1. Contenido de Aflatoxinas de las muestras de alimento recolectadas durante todo el periodo de muestreo.

Obs	Muestreo	Tipo de muestra	Aflatoxinas	Zearalenona	Vomitoxina
1	1	Becerras	4.02	52.07	0.559
2	2	Becerras	4.53	40.52	0.503
3	3	Becerras	4.71	78.91	0.441
4	4	Becerras	4.72	55.20	0.448
5	5	Becerras	4.79	49.83	0.798
6	1	Vacas	3.00	95.78	0.581
7	2	Vacas	3.80	105.61	0.484
8	3	Vacas	3.00	366.41	0.377
9	4	Vacas	3.00	181.59	0.429
10	5	Vacas	3.00	670.76	0.283

Apéndice 2

Tabla 2. Comparación de medias en la concentración de micotoxinas presentes en el alimento iniciador para becerras y el alimento concentrado para vacas en lactancia.

Concentración de micotoxinas: Comparación de medias				
Micotoxina	Alimento de vaca	Alimento de becerro	Error Estandar	Valor P
Aflatoxina	3.16 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	4.55 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	± 0.15 ppb	0.0028
Zearalenona	284.03 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	55.30 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	± 76.63 ppb	0.0992
Vomitoxina	0.43 ppm (mg/kg)	0.54 ppm (mg/kg)	± 0.05 ppm	0.2228

Apéndice 3

Tabla 3.- Toxicidad producida por Micotoxinas en ganado bovino lechero.

Aflatoxina		600 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Reduce la eficiencia de alimentación de la tasa de ganancia
		200-800 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Reduce la motilidad del rumen
	Lechero	10-108.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Reducción significativa de la ingesta de alimentos dependientes de dosis
Zearalenona	Lactancia	385-192 $\mu\text{g}/\text{kg}$	No hay efectos en la producción de leche y ZEN. No hay residuos observados post mortem
	Lechero		No síntomas
Desoxivalenol	Lechero	3-5 mg/kg	Reducción IgA, Albumina sérica y globulina.

(Upadhaya *et al.*, 2010)