

# Micotoxinas, salud animal, métodos de detección y legislación

S. López

Departamento Técnico  
Novus International Inc.

Las micotoxicosis son enfermedades originadas por metabolitos tóxicos de origen fúngico (micotoxinas). A continuación se describen las principales micotoxinas, sus efectos sobre la salud animal y cómo detectarlas, así como el marco normativo actual

Las micotoxinas tienen una presencia mundial, con pautas de aparición características según la climatología de cada zona. Así, en áreas cálidas la incidencia de aflatoxinas y fumonisinas es superior, mientras que en zonas frías, con mayor humedad, la incidencia de vomitoxina (deoxinivalenol, DON), zearalenona, ocratoxina y toxinas T2 es superior. Las pérdidas económicas en producción animal son elevadas, dados sus efectos ya con dosis subclínicas como tras la aparición de brotes tóxicos por ingredientes altamente contaminados. Asimismo, es de suma importancia el efecto tóxico que algunas de estas micotoxinas pueden generar en el consumidor final, tras su acumulación en el organismo animal o como resultado de su metabolismo en el mismo.

## Tipos de micotoxinas y contaminación del pienso

Se han identificado más de doscientas micotoxinas hasta la fecha. La mayoría son producidas por tres especies de hongos: *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* y *Penicillium spp.* Cada uno de estos hongos puede producir varios tipos diferentes de micotoxinas. Asimismo, diferentes especies de hongos pueden producir un mismo tipo de micotoxina según las condiciones del medio.

La contaminación del pienso puede darse en cualquier punto de la cadena de producción. Algunas micotoxinas se forman sobre los granos en el campo o tras su almacenaje antes de entrar a la fábrica de piensos, mientras que otras se generan tras un almacenaje incorrecto en la propia fábrica (condiciones inadecuadas de humedad y temperatura resultarán en una generación excesiva de micotoxinas).

**Cuadro I. Actividad de Agua Mínima Aw para el crecimiento y producción de micotoxinas.**

|                  |                              | Mínima Aw   |               |
|------------------|------------------------------|-------------|---------------|
| Micotoxina       | Hongos                       | Crecimiento | Prod. toxinas |
| Aflatoxina       | <i>Aspergillus flavus</i>    | 0,78-0,84   | 0,84          |
| Ocratoxina       | <i>A. parasiticus</i>        | 0,82        | 0,87          |
|                  | <i>A. ochraceus</i>          | 0,77-0,81   | 0,83-0,87     |
| Ácido penicílico | <i>Penicillium cyclopium</i> | 0,82-0,85   | 0,87-0,90     |
|                  | <i>P. viridicatum</i>        | 0,80-0,81   | 0,83-0,86     |
|                  | <i>A. ochraceus</i>          | 0,77        | 0,80-0,88     |
| Patulina         | <i>P. cyclopium</i>          | 0,82-0,85   | 0,97          |
|                  | <i>P. marenzii</i>           | 0,79        | 0,99          |
|                  | <i>P. patulum</i>            | 0,81-0,85   | 0,95          |
| Estaquibotrina   | <i>P. expansum</i>           | 0,82-0,84   | 0,99          |
|                  | <i>Stachybotrys atra</i>     | 0,94        | 0,94          |

**Cuadro II. Relación entre la humedad de varios cereales y semillas, y las diferentes humedades relativas a 25-30 °C.**

| HR (%) | Maíz, trigo, sorgo | Soja integral | Girasol integral |
|--------|--------------------|---------------|------------------|
| 65     | 12,5-13,5          | 11,5          | 8,5              |
| 70     | 13,5-14,5          | 12,5          | 9,5              |
| 75     | 14,5-15,5          | 13,5          | 10,5             |
| 80     | 15,5-16,5          | 16,0          | 11,5             |
| 85     | 18,0-18,5          | 18,0          | 13,5             |

**Cuadro III. Producción de Aflatoxina (ppm) por *Aspergillus parasiticus* en diversas semillas.**

| Semilla   | NRRL 3000 | NRRL 2999 | NRRL 3145 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Cacahuete | 107       | 104       | 8,50      |
| Soja      | 19        | 2,80      | 0,06      |
| Maíz      | 53        | 47        | 5,50      |
| Trigo     | 72        | 19        | 7,10      |
| Arroz     | 107       | 185       | 10,60     |
| Sorgo     | 72        | 88        | 57,60     |

La mayor parte de los hongos se desarrolla a partir de valores de actividad de agua (Aw) de 0,70 (**Cuadro I**). Este

La mayor parte de los hongos se desarrolla a partir de valores de actividad de agua (Aw) de 0,70 (**Cuadro I**). Este

Cuadro IV. Niveles de toxicidad de la Aflatoxina B1 (AB1).

| Especie                       | Concentración (ppm)                      | Tiempo de exposición             | Consecuencias   |
|-------------------------------|--|----------------------------------|---|
| Pollitos de 1 día             | 0,075-0,8                                | 3-10 semanas                     | Inhibición del desarrollo (con la concentración más baja); muertes con las concentraciones más altas, incluyendo lesiones hepáticas graves y susceptibilidad a Coccidiosis. |
| Ponedoras reproductoras       | 0,100                                    | 6 semanas                        | Cambios en el contenido de calcio y cenizas de la cáscara del huevo, y problemas en el nacimiento de los pollos.  |
| Ponedoras                     | 0,610                                    | 33 semanas                       | Lesiones hepáticas, bajas de puesta y muertes.  |
| Lechones recién nacidos       | 0,23                                     | 4 días                           | Hígado friable, anemia, retraso en crecimiento.   |
| Lechones destetados           | 0,4-0,7                                  | 3-6 semanas                      | Retraso en crecimiento, hepatotoxicosis.  |
| Cerdos 15-20 kg PV            | 0,4-0,8                                  | 9 semanas                        | Susceptibilidad a Salmonelosis.   |
| Cerdas<br>gestación/lactación | 0,4 ppm (AB1) +<br>0,4 ppm aflatoxina G1 | Período gestación<br>y lactación | Problemas inmunotoxicológicos en lechones a 25 días de vida.  |
| Vacas 2 años                  | 2-2,4                                    | 7 meses                          | Hepatotoxicosis, bajas en la producción láctea.   |
| Terberos destetados           | 0,2-2,2                                  | 16 semanas                       | Reducción del índice de crecimiento, lesiones hepáticas.  |
| Novillos 1-2 años de edad     | 0,5-0,7                                  | 20 semanas                       | Lesiones hepáticas  |

Cuadro V. Niveles de toxicidad de la Zearalenona.

| Especie                             | Concentración (ppm) | Tiempo de exposición | Consecuencias   |
|-------------------------------------|---------------------|----------------------|---|
| Cerdas de más de 10 semanas de edad | 1-5                 | 4-7 días             | Vulvovaginitis al cuarto día de consumo                   |
| Vacas Holstein                      | 25-100              | 42 días              | Problemas estrogénicos a la semana de comenzar la ingesta |

parámetro determina la capacidad metabólica de un hongo para producir micotoxinas. Tal generación se da en hongos en condiciones de pleno desarrollo: la producción de micotoxinas es nula con  $A_w < 0,85$ , pese a que el crecimiento de hongos toxicogénicos se puede producir en un intervalo de  $A_w$  de 0,70-0,85.

La temperatura también afecta a la generación de micotoxinas. El pleno desarrollo fúngico se da entre 25 y 30 °C y, en cierta forma, existe una proximidad entre la temperatura mínima necesaria para el crecimiento del hongo y la necesaria para la producción de la micotoxina, pese a la existencia de excepciones según especies, cepa y sustrato en el que se encuentren. Ingredientes como trigo, maíz y sorgo con niveles de humedad de 13,5-14% serán invadidos por hongos como *Aspergillus restrictus* y *Aspergillus halophilicus*. Con humedad superior al 15%, la invasión fúngica más frecuente sería *Aspergillus glaucus*.

Estas contaminaciones condicionan potencialmente la micotoxina producida, y el nivel de humedad nos permite predecir el riesgo potencial del ingrediente (Cuadro II) y las posibles consecuencias tóxicas. Por otro lado, bolsas específicas de humedad en un pienso almacenado pueden generar colonizaciones fúngicas mixtas. En este sentido, la estación del año afecta a la migración

**No existe un nivel de micotoxina que se pueda considerar seguro, ya que su riesgo depende también de la presencia combinada de varias de ellas sobre el sustrato**

de humedad del pienso almacenado en silo. Ingredientes como la soja no son especialmente favorables (Cuadro III) para la generación de micotoxinas, independientemente de las condiciones de almacenaje, pese al probado crecimiento de *Aspergillus parasiticus* en la misma.

#### Niveles de toxicidad para algunas micotoxinas

No existe un nivel de micotoxina que se considere seguro, ya que su riesgo depende también de la presencia combinada de varias de ellas. En los Cuadros IV, V y VI se muestran los niveles correspondientes a las principales micotoxinas en diferentes especies ganaderas.

Por otra parte, para ingestas de aflatoxina B1 entre 2-60 mg/vaca/día, la concentración de aflatoxina M1 excretada en leche varía entre 1 y 50 microgramos/litro, con una relación AB1 en alimento/aflatoxina M1 en leche que puede llegar a oscilar entre 36 y 1.600.

#### Detección de micotoxinas

Dada la creciente presión por un control sanitario correcto de las materias primas y piensos finales, que se engloba en el Reglamento 183/2005 relativo a la Higiene de piensos, el desarrollo de métodos rápidos y precisos de detección de micotoxinas se hace cada vez más necesario. Estos métodos deberán poder implementar las medidas de control más adecuadas en la planta según la detección realizada (rechazo de camiones/proveedores, medidas correctivas, etc.).

Las principales dificultades con que se encuentran las empresas que desarrollan métodos de detección incluyen, entre otras, la elevada diversidad de estructuras químicas de las micotoxinas, la incapacidad en la eliminación de impurezas (con el consecuente incremento del coste y tiempo analítico) y la distribución irregular de tales metabolitos en la elevada diversidad de sustratos existentes. Un método ideal debería ser

Cuadro VI. Niveles de toxicidad de la Toxina T2.

| Especie            | Concentración (ppm) | Tiempo de exposición | Consecuencias   |
|--------------------|---------------------|----------------------|---|
| Pollitos de 1 día  | 0,2-16              | 7-63 días            | Lesiones bucales. Dosis medias afectan a la ganancia de peso vivo. Las más altas afectan sistema nervioso.                                      |
| Gallinas ponedoras | 0,5-10              | 3-4 semanas          | Lesiones bucales. Alteración de incubación y fertilidad del huevo, disminución consumo de pienso, producción de huevos y espesor de la cáscara. |
| Lechones           | 1-8                 | 8 semanas            | Disminución del consumo de pienso y ganancia de peso vivo.  |
| Vacas Holstein     | 50                  |                      | Rechazo del alimento.   |

Cuadro VII. Principales limitaciones legales (con enmiendas) en pienso final (sobre base de humedad al 12% y en ppm).

| Tipo de pienso y especie de destino   | Límite máximo (ppm) |
|---|---------------------|
| Piensos completos para bovinos, ovinos y caprinos   | 0,02                |
| Excepto:  |                     |
| - Piensos completos para ganado lechero   | 0,005               |
| - Terneros y cabritos   | 0,01                |
| Piensos completos para cerdos y aves (excepto animales jóvenes)   | 0,02                |
| Otros piensos completos   | 0,01                |
| Piensos complementarios para bovinos, ovinos y caprinos (excepto pienso complementarios para ganado lechero, terneros y cabritos) | 0,02                |
| Piensos complementarios para cerdos y aves de corral (excepto animales jóvenes)   | 0,02                |
| Otros piensos complementarios   | 0,005               |

### Tipos de micotoxinas en el área mediterránea

Las micotoxinas más significativas en el área de influencia mediterránea incluyen las siguientes:

- **Aflatoxinas.** Son principalmente producidas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Se han identificado hasta el momento 18 tipos de aflatoxinas de las que la más tóxica es la aflatoxina M1 (metabolito de aflatoxina B1), que se puede encontrar en la leche. Otras aflatoxinas son la B1, G1, M2, B2 y G2. Pueden encontrarse como contaminantes naturales en cereales (maíz) y subproductos de cereales, así como en tortas de oleaginosas y mandioca. Las aflatoxinas tienen una gran actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. Sus principales órganos diana son el hígado, riñón y cerebro, y un consumo de las mismas se ha asociado a un incremento de susceptibilidad a Salmonelosis y otras infecciones en aves, rumiantes y porcino dado su efecto inmunosupresor.
- **Zearalenona.** Es producida esencialmente por *Fusarium roseum*, *F. moniliforme* y *F. tricinctum* y puede encontrarse como contaminante natural en cereales y subproductos de cereales, heno y ensilados. Los síndromes estrogénicos que producen afectan a todo el sistema reproductor, siendo la especie porcina la más sensible. Su consumo cursará con enrojecimiento de vulva, repetición de celos, etc.
- **Tricotecenos** son producidas por *Fusarium tricinctum*, *F. nivale* y *F. roseum*. De los más de 40 derivados destacan la toxina T-2 y la vomitoxina o deoxinivalenol (DON). Se hallan como contaminantes naturales en cereales y subproductos. El principal síndrome es gastroentérico, aunque también afectan al sistema nervioso, circulatorio y la dermis, así como al sistema inmunitario. Es característico de la vomitoxina provocar vómitos y rechazo del alimento, principalmente en aves y cerdos (T2 y diacetoxiscirpenol combinados, vomitoxina -porcino solamente-), rumiantes y conejos (T2).

simple, rápido, preciso, barato, automatizado, sensible y selectivo.

Los métodos analíticos pueden considerarse como cuantitativos o cualitativos, específicos para una micotoxina, específicos para multimicotoxinas, o confirmatorios. Todos ellos siguen un proceso similar de preparación de la muestra: muestreo, triturado y homogeneización, extracción, filtrado, aclarado y separación de la matriz, preparado para análisis (pre-concentración) y análisis propiamente dicho. El procesado previo al análisis se revela, pues, como la parte más costosa del proceso (65% del tiempo total empleado). Al final, la selección de un método de detección deberá basarse en aspectos como la micotoxina de interés, la matriz y preparación de la muestra, el límite de detección, la localización del análisis (elevadores de cereales, planta procesadora, laboratorios), la facilidad de uso (según entrenamiento del analista) y costes.

#### Cromatografía en capa fina

La fase estacionaria es una capa delgada de adsorbentes (se puede usar una amplia gama) y puede ser uni o bidimensional. Es un método sencillo, barato, flexible y versátil, que utiliza menos solvente. Sin embargo, resulta laboriosa, poco precisa, semi-cuantitativa y de baja sensibilidad.

#### Cromatografía líquida de alta precisión (HPLC)

Se trata de una técnica precisa y sensible, más eficiente, rápida y no excesivamente laboriosa. No obstante presenta un alto coste del equipo y su mantenimiento, sólo realiza una muestra por vez y requiere personal entrenado.

#### Kits de detección en base a ensayos inmunoquímicos

Estos ensayos se basan en el establecimiento de un enlace reversible entre antígenos y anticuerpos dando origen un complejo antígeno-anticuerpo. Los dis-

tintos sistemas incluyen radioinmunoensayo (RIA), ensayo inmunoabsorbente (ELISA) y columnas de inmovilización (CIA).

El radioinmunoensayo es un método altamente sensible y muy específico, pero con unos reactivos con vida de almacenamiento muy corta y con el uso de radioisótopos que requieren una manipulación especial. La deposición de desechos se ha de tener en cuenta.

En las técnicas de ELISA se conjuga la toxina pura a un enzima. En una segunda etapa se da la competencia entre este conjugado y la toxina libre del producto por los sitios activos de los anticuerpos. Existe una serie de limitaciones para el uso de ELISA, como es el hecho de que tales anticuerpos sólo son producidos en centros especializados, que necesita ser validado para cada aplicación y necesita estar acoplado con confirmación de identidad.

Finalmente, las principales limitaciones de las columnas de inmovilización incluyen la temperatura, pH, fuerza iónica de los

**La selección de un método de detección deberá basarse en aspectos como la micotoxina de interés, la matriz y preparación de la muestra, el límite de detección, la localización del análisis y la facilidad de uso**

tampones, los detergentes o agentes bloqueadores, la matriz del alimento es limitante (especialmente algunos con alto contenido de azúcares), la elevada cantidad de anticuerpos, y la necesidad de un fluorómetro o cromatógrafo de gases o HPLC para la detección y cuantificación. Como ventaja a destacar, cabe señalar que están plenamente automatizadas para la detección de aflatoxinas y ocratoxina A.

#### Inmunoensayos

Son de especial utilidad para estudios de campo cuantitativos o de screening, o cuando la sensibilidad requerida no es alcanzada por otros métodos, así como por razones económicas (velocidad y coste). No son de interés para estudios pequeños (menos de 10 muestras), especificidades inadecuadas del método, o si el método inmunoquímico no alcanza la especificidad requerida.

#### Biosensores

Un biosensor de micotoxinas junto a su antitoxina permite la emisión de una señal detectable. Son métodos rápidos, con partes reutilizables en el sensor. El monitoreo es continuo y permite una detección de múltiples micotoxinas. Los inmunosensores pueden ser de resonancia de superficie de plasma, de fibra óptica o de afinidad fluorométrica.

#### Principal Legislación asociada

En España, las Directivas 2002/32/CE y 2003/57/CE, en materia de sustancias indeseables (metales pesados, micotoxinas...) han sido traspuestas en el Real Decreto 465/2003 y en la Orden PRE/3074/2003, respectivamente y modificadas por las posteriores Directivas 2003/100/CE (Orden PRE/1422/2004) y 2005/8/CE (Orden PRE/1884/2005). ●



**pienso limpio!**

**MT.X+ el poder de la mega adsorción de una nanoarcilla contra las micotoxinas**



**Innovación a través del poder de la naturaleza**

[www.olmix.com](http://www.olmix.com)  
[contacto@olmix.es](mailto:contacto@olmix.es)

