

Guatemala, 24 de enero, 2020

Señor Director
Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señor Director:

Adjunto a la presente el informe final “Determinación del metabolito tóxico aflatoxina M1 en la leche fluida en fincas tradicionales de producción láctea bovina en el departamento de Chiquimula” con partida presupuestal 4.8.24.7.23, coordinado por el M Sc. Raúl Jáuregui Jiménez y avalado por el Instituto de Investigaciones del Centro Universitario de Oriente de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Este informe final fue elaborado con base en la guía de presentación de la Dirección General de Investigación, el cual fue revisado su contenido en función del protocolo aprobado, por lo que esta unidad de investigación da la aprobación y aval correspondiente.

Así mismo, el coordinador del proyecto, se compromete a dar seguimiento y cumplir con el proceso de revisión y edición establecido por Digi del **informe final y del manuscrito científico**. El manuscrito científico debe enviarse, por el coordinador(a) del proyecto, para publicación al menos en una revista de acceso abierto (*Open Access*) indexada y arbitrada por expertos en el tema investigado.

Sin otro particular, suscribo atentamente.

“Id y enseñad a todos”

M Sc. Raúl Jáuregui Jiménez
Coordinador del proyecto de investigación

M Sc. Nery Waldemar Galdámez Cabrera
Director del Instituto de Investigaciones de CUNORI- USAC

Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Programa Universitario de Investigación en alimentación y nutrición

Informe final

Determinación del metabolito tóxico aflatoxina M1 en la leche fluida en fincas tradicionales de
producción láctea bovina en el departamento de Chiquimula

Equipo de investigación

M Sc. Raúl Jáuregui Jiménez
Coordinador

M Sc. Edgar Alan Celis Vielman
Investigador

Guatemala, 24 de enero 2020

Centro Universitario de Oriente
Unidad de investigación avaladora

Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Ingra. Liuba María Cabrera Ovalle
Nombre Coordinador del Programa de Investigación

M Sc. Raúl Jáuregui Jiménez
Nombre del coordinador del proyecto

M Sc. Edgar Alan Celis Vielman
Nombre del investigador

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, 2019. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Partida Presupuestaria 4.8.24.7.23 durante el año 2019 en el Programa Universitario de Investigación de alimentación y nutrición

Financiamiento aprobado por Digi: Q. 149, 947.95
Financiamiento ejecutado: _____

Índice

No		Página
1	Índice	4
2	Resumen	6
3	Abstract	7
4	Introducción	8
5	Planteamiento del problema	10
6	Preguntas de investigación	11
7	Delimitación en tiempo y espacio	11
8	Marco teórico	11
9	Estado del arte	18
10	Objetivo general	19
11	Objetivos específicos	19
12	Hipótesis	19
13	Material y métodos	19
14	Vinculación, difusión y divulgación	21
15	Productos, hallazgos, conocimientos o resultados	22
16	Análisis y discusión de resultados	22
17	Conclusiones	32
18	Impacto esperado	33
19	Referencias	33
20	Apéndice	37

Índice de Tablas

No	Descripción	Página
1	Resultados de la presencia o ausencia de aflatoxinas M1 en leche fluida de bovino, de acuerdo a la época de verano y lluvia en tres municipios del departamento de Chiquimula.	22
2	Resultados de los niveles mínimos y máximos de aflatoxinas M1 en la leche fluida de bovino arriba de 50 ppt en las 34 fincas de producción láctea muestreadas de tres municipios del departamento de Chiquimula, en la época de verano y de lluvias.	24
3	Litros de leche producidos y en riesgo de contaminación con AFLM1 en ppt por municipio en época de lluvias.	27
4	Manejo que realizan los productores para evitar la presencia de aflatoxinas en los alimentos ofrecidos a los bovinos en producción en los tres municipios en estudio.	29
5	Tipos de alimentos proporcionados a las vacas en producción de las fincas muestreadas de acuerdo a la época de verano o lluvias en los tres municipios en estudio.	30
6	Conocimiento de los productores de las fincas muestreadas sobre la contaminación y prevención de las aflatoxinas en la leche fluida en el departamento de Chiquimula.	31

Índice de figuras

No	Descripción	Página
1	Diagrama de dispersión de las ppt/AFLM1 en las fincas muestreadas (34) arriba de LMR 50 ppt en donde de la 1 a 13 corresponde al municipio de Esquipulas, de la 14 a la 20 Chiquimula y de la 21 a la 34 a Concepción Las Minas.	26
2	Mapa del departamento de Chiquimula y los municipios del muestreo (Esquipulas, Concepción Las Minas y Chiquimula)	37
3	Tendencia a la presencia de AFM1 en leche arriba del LMR (50ppt) en la época de verano	37
4	Tendencia a la presencia de AFM1 en leche arriba del LMR (50ppt) en la época de lluvias	38

Determinación del metabolito tóxico aflatoxina M1 en la leche fluida en fincas tradicionales de producción láctea bovina en el departamento de Chiquimula

1. Resumen

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura definen a las aflatoxinas B1 y aflatoxinas M1 (AFM1) como potentes carcinógenos humanos, sin embargo, existen pocos datos acerca de la contaminación de los alimentos para animales y la leche de consumo en el país. El estudio determinó la presencia o ausencia y niveles mínimos y máximos de AFM1 en leche fluida de bovinos en verano y lluvia de tres municipios del departamento de Chiquimula. Investigación no experimental, cuantitativa transversal observacional. Se muestrearon los municipios con más de 3,000 litros/día, con una muestra no probabilística por juicio de 34 fincas, se determinó AFM1 con ELISA directa. Se evaluó estadísticamente la concentración de AFM1 según la época con un análisis de muestras pareadas, arriba del límite máximo de residuo 50 ppt (LMR). Los resultados indicaron que las fincas positivas en verano fue 12% y para las lluvias 65%. Tres fincas presentaron positividad en ambas épocas arriba del LMR; las lluvias inciden en la presencia de AFM1 en la leche porque existió diferencia significativa según la época ($p < .003$). En ambas épocas el nivel mínimo fue 51.28 ppt/AFM1 y el máximo 978.06 ppt/AFM1. Existió diferencia significativa en el municipio de Esquipulas según la época ($p < .05$) al igual que en Concepción Las Minas ($p < .004$) y no en Chiquimula. Los productores desconocen el impacto negativo que tienen las aflatoxinas en la salud humana y no saben que manejo darle a los alimentos contaminados con micotoxinas.

2. Palabras clave

Rumiante, leche cruda, micotoxinas, inocuidad

3. Abstract and keyword

The United Nations Organization for Food and Agriculture defines aflatoxines B1 and aflatoxines M1 (AFM1) as potent human carcinogens; however, there is little data on contamination of animal feed and drinking milk in the country. The study determined the presence or absence and minimum and maximum levels of AFM1 in the fluid milk of bovines in summer and rain of three municipalities of the department of Chiquimula. Non-experimental, quantitative cross-sectional observational research. Municipalities with more than 3,000/liters/day were sampled by trial of 34 farms, AFM1 was determined with direct ELISA. AFM concentration was statistically evaluated according to the time with an analysis of paired samples, above the maximum residue limit 50 ppt (MRL). The results indicated that the positive farms in summer were 12% and for the rains 65%. Three farms presented positivity at both times above the MRL; rains affect the presence of AFM1 in milk because there was a significant difference according to the time ($p < .003$). At both times the minimum level were 51.28 ppt/AFM1 and the maximum 978.06 ppt/AFM1. There was a significant difference in the municipality of Esquipulas according to the time ($p < .05$) as in Concepción Las Minas ($p < .004$) and not in Chiquimula. Producers are unaware of the negative impact that aflatoxins have in human health and do not know what management to give food contaminated with mycotoxins.

Key Word: Ruminant, raw milk, mycotoxins, safety

4. Introducción

Las micotoxinas se encuentran en diversos alimentos y piensos y se han relacionado con diversas enfermedades de animales y personas. La exposición a micotoxinas puede producir toxicidad tanto aguda como crónica, con resultados que van desde la muerte por efectos nocivos en el sistema nervioso central, cardiovascular y respiratorio y en el aparato digestivo. Las micotoxinas pueden también ser agentes cancerígenos, mutágenos, teratógenos e inmunodepresores. Actualmente, está muy extendida la opinión de que el efecto más importante de las micotoxinas, particularmente en los países en desarrollo, es la capacidad de algunas de ellas obstaculizar la respuesta inmunitaria y, por consiguiente, de reducir la resistencia a enfermedades infecciosas (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, [FAO] 2003).

En el ámbito mundial son múltiples los reportes sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche y productos lácteos desde hace más de tres décadas, tema que no ha perdido su vigencia, si se considera que la inocuidad alimentaria constituye hoy la prioridad principal de muchos países y de organismos internacionales. Cuando los rumiantes consumen alimentos contaminados con aflatoxinas del tipo B y G, estas son metabolizadas y excretadas en la leche como AFM1 y AFM2. La Agencia Internacional de Investigaciones de Cáncer (IARC) ha reportado a las AFB1 y M1 como posibles carcinógenos humanos, estos reportes conjuntamente con otros que han demostrado el efecto tóxico de las aflatoxinas han llevado a que se establezcan límites máximos de residuo (LMR) en alimentos. La Unión Europea (UE) ha establecido un LMR para la AFM1 en leche y productos lácteos de 0.05 µg/kg, mientras el Codex Alimentarius de la FAO y la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos han propuesto valores de 0.5 µg/kg (Pérez et al., 2008).

Las condiciones climáticas de las regiones tropicales favorecen el crecimiento de mohos toxigénicos en el cultivo de maíz. La amplia variedad de ingredientes en la dieta de los rumiantes, que incluye cereales, forrajes, ensilados y concentrados, puede exponer a las vacas lecheras a una amplia gama de contaminante, como por ejemplo las aflatoxinas son un grupo de micotoxinas sintetizadas principalmente por los mohos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, que están presentes en numerosas materias primas utilizadas en alimentación animal. Estas toxinas causan efectos adversos en la salud humana y animal y están clasificadas como agentes carcinogénicos para humanos (Grupo 1) por la IARC. Es bien sabido que las aflatoxinas presentes en los alimentos para animales pueden transferirse a la leche en forma de aflatoxina M1 (Shundo et al., 2016)

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por ciertas especies de hongos cuando se exponen a ciertas condiciones ambientales. Dentro de las micotoxinas más importantes están las aflatoxinas (especialmente la B1), los tricotecenos, la ocratoxina A, la zearalenona y las fumonisinas. Algunas de las más comunes en los forrajes son el deoxinivalenol (DON), y la zearalenona frecuente en los alimentos ensilados. Además, la fumonisina y la aflatoxina también son contaminantes de importancia (Alpízar-Solis, 2015)).

Algunas investigaciones sugieren que la producción de leche es el principal factor que afecta la excreción total de AFM1 siendo influenciado por el estado nutricional y fisiológico, régimen de

alimentación, capacidad de biotransformación hepática (alta variabilidad individual), infecciones, fuente de contaminación y la concentración de aflatoxinas presente en el alimento. Los estudios señalan que las variaciones en la conversión de AFM1 son significativos, aún a niveles altos o bajos de contaminación con AFB1 (Rojo et al., 2014).

En el caso de los rumiantes, la especie es un factor muy importante en los efectos de las micotoxinas sobre su organismo y en la presentación de cuadros clínicos asociados a éstas, pues el rumen es el órgano responsable de una buena parte de la transformación, activación e inactivación de micotoxinas, que ocurre gracias a la acción de los microorganismos ahí presentes, especialmente bacterias (Upadhaya, Park, & Jong, 2010). Pero algunas moléculas pueden salir del rumen sin sufrir ninguna modificación o convertidas en otros metabolitos que pueden conservar su actividad biológica (Dogi et al., 2011).

Guatemala es un país que posee un clima tropical, y por ende la existencia de mohos como el *Aspergillus flavus* y el *Aspergillus parasiticus*, es considerada casi inevitable. Dichos mohos pueden producirse en la alimentación del ganado bovino, y al consumirla puede infectarse e iniciar la producción de AFM1, que llegarán a la leche fluida, por esta razón las aflatoxinas se convierten en un problema para la población, debido a que esta, en su mayoría incluye leche bovina cruda en su alimentación diaria (Torres, 2013).

Estas toxinas son el carcinógeno más potente producido en la naturaleza, por los diferentes cambios climáticos, que se traduce en el estrés de las plantas productoras de granos, aunado con la falta de manejo y prevención por parte de los productores de ganado; ocasionando efectos mutagénicos, teratogénicos y hepatotóxicos en los animales, afectando inclusive a los humanos que consumen productos lácteos contaminados (Londoño-Cifuentes & Martínez-Miranda, 2017). Debido a que existe información limitada sobre la contaminación de leche fluida con AFM1 en la región oriental del país, es necesario investigar sobre la presencia de esta, por el riesgo que presenta en el consumo humano.

Los residuos de aflatoxina M1 (AFM1) en la leche están regulados en muchas partes del mundo y tienen costos elevados a los productores de lácteos debido a pérdida de ventas de leche. Además, debido a la carcinogenicidad de este compuesto, la leche contaminada puede ser importante para la salud pública. (Masoero, Gallo, Moschini, Piva, & Diaz, 2007).

Por tal razón y tomando en cuenta la cantidad de leche que se produce, con un promedio de 3000 L diarios por cada uno de los tres municipios seleccionados como lo fueron Concepción Las Minas, Esquipulas y Chiquimula del departamento de Chiquimula, fue necesario realizar pruebas que determinaron la presencia de AFM1 en las fincas lecheras, utilizando pruebas confiables y modernas que presente datos fidedignos del análisis.

En tal sentido, fue importante llevar a cabo esta investigación no experimental de enfoque cuantitativo transversal observacional que permitió determinar la presencia o ausencia de AFM1 en leche fluida de bovino que se produce en la finca tradicional, en la época de verano y de lluvias y, el manejo de los alimentos proporcionados a los bovinos por parte del ganadero de los diferentes hatos lecheros de las regiones productoras del departamento de Chiquimula.

5. Planteamiento del problema

La FAO (2009) y la Organización Mundial de la Salud (FAO y la Organización Mundial para la Salud [OMS], 2006), han definido a las AFB1 y AFM1 como potentes carcinógenos humanos, sin embargo, existen pocos datos acerca de la toxicología y/o contaminación de los alimentos concentrados para animales de cría y los derivados de origen animal como la leche.

Los principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas son: factores físicos (humedad y agua disponible, temperatura, zonas de microflora, integridad física de los granos), factores químicos (pH, composición del sustrato, nutrientes minerales, potencial de oxireducción (O₂/CO₂), factores biológicos (presencia de invertebrados) (Espíndola-Figueroa, 2006).

La producción de micotoxinas puede ocurrir cuando el hongo crece en los cultivos en el campo según la precipitación pluvial, al momento de cosechar, en el almacenamiento o durante el procesamiento del alimento balanceado cuando las condiciones son favorables. No hay una sola zona en el mundo que se salve de estos asesinos silenciosos, y su impacto negativo sobre la productividad animal y la salud humana es enorme (Espíndola-Figueroa, 2006).

Se ha argumentado acerca de enfermedades transmitidas por alimentos contaminados con aflatoxinas, lo que demuestra la importancia y repercusión de este tema en la inocuidad de los alimentos y en la salud pública (Reza & Marjan, 2013).

Desde la perspectiva más general, las intoxicaciones transmitidas por los alimentos, en especial la leche de bovino con aflatoxina, afectan la salud en forma importante y más gravemente a niños, mujeres embarazadas, ancianos y a personas ya afectadas por otras enfermedades (Torres, 2013).

Aunque en la literatura se sugieren varios niveles de tolerancia para AFM1 en la realización de este estudio se utilizaron como guía las normas establecidas por la FDA Food & Drug Administration (FDA) de Los Estados Unidos de América y las establecidas por los países miembros de la Unión Europea (UE), debido a que estas entidades determinan los estándares de referencia respecto a la inocuidad alimentaria que se deben de cumplir para el comercio internacional (Vela-Morales, 2016)

Por tal razón y tomando en cuenta la cantidad de leche que se produce en las regiones lecheras del departamento de Chiquimula, que son más de 10,000 L diarios es necesario realizar pruebas que determinen la presencia de AFM1 en las fincas lecheras, en la época de verano y de lluvias, utilizando pruebas confiables y modernas, como es la prueba de ELISA directa para determinar los niveles mínimos y máximos de AFM1 en ppt.

Es evidente entonces, que la falta de información en Guatemala, referente a intoxicaciones de transmisión alimentaria como la aflatoxicosis, tanto en humanos como en animales, es uno de los impedimentos para llevar a cabo intervenciones gubernamentales fundamentadas en datos verificables con el objeto del consumo de leche inocua.

6. Preguntas de investigación

¿Existe presencia o ausencia de aflatoxinas M1 en la leche fluida de bovino en la región lechera del departamento de Chiquimula?

¿Cuáles son niveles mínimos y máximos de aflatoxinas M1 en la leche fluida de bovino en la región lechera del departamento de Chiquimula?

¿Incide la época de verano o lluvias en la presencia de aflatoxinas M1 en la leche fluida de bovino?

¿Qué medidas de manejo realiza el productor de leche bovina para evitar la presencia de aflatoxinas en la leche en los alimentos proporcionados a los bovinos?

7. Delimitación en tiempo y espacio

El estudio se realizó de febrero de 2019 a enero de 2020, de la manera siguiente; en febrero se ubicaron las fincas a muestrear, de marzo a octubre para la toma de las muestras de leche y análisis de laboratorio y análisis resultados en noviembre.

El trabajo de campo se realizó en el departamento de Chiquimula el cual colinda al Norte con el departamento de Zacapa, al Este con la república de Honduras, al Sur con el departamento de Jutiapa y la república de El Salvador y al Oeste con el departamento de Jalapa. Extensión de 2,376 km². Chiquimula se encuentra ubicada entre las latitudes de 14°31'15'' a 14°49'15'' norte y las longitudes de 89°21'05'' a 89°37'10'' oeste; altitudes entre 424 hasta 1,350 msnm con zonas de vida vegetal variadas de sub tropical muy seca, seca, húmeda y muy húmeda hasta montano ajo seco.

El estudio se realizó en los siguientes municipios: Concepción Las Minas, Esquipulas y Chiquimula de la región productora de leche del departamento. Cuentan con una red de carreteras asfaltadas, de terracería, caminos vecinales y de herradura que permiten la intercomunicación de municipios y el laboratorio de diagnóstico (figura1)

8. Marco teórico

Las aflatoxinas (AF) son producidas en la etapa final del crecimiento exponencial de una colonia fúngica, son metabolitos secundarios de hongos y presentan un bajo peso molecular (Reza & Majard, 2013); básicamente estas micotoxinas son producidas por hongos del genero *Aspergillus* (*A. flavus* y *A. parasiticus*). Entre sus principales manifestaciones clínicas asociadas a la exposición de estas sustancias se encuentra el daño hepático y renal, mutagénesis, teratogénesis, carcinogénesis, inmunosupresión y citotoxicidad (Landeros et al., 2012). Los factores para que un alimento sea contaminado con aflatoxinas son numerosos, caracterizados por temperaturas y humedades relativamente altas, condiciones de transporte y almacenamiento inadecuado y secado

deficiente, por tanto la contaminación del producto puede ocurrir en cualquier punto de la cadena alimenticia, desde la cosecha, pasando por la recolección, almacenaje, transporte, elaboración y conservación (Ortiz, 2009).

Dentro de las aflatoxinas se encuentran los tipos B1, B2, G1 y G2 siendo la B1 la más importante debido a su toxicidad. Cuando el animal ingiere este tipo de aflatoxina, la misma es biotransformada en el hígado por hidroxilación del carbono 4 a M1, siendo tan tóxico como la B1, que a su vez es excretado en la leche. La cantidad de Aflatoxina M1 encontrada en leche, generalmente es de 1% a 2% de la AFB1 ingerida, y puede llegar hasta 6% (Reyes-Velázquez et al., 2009).

La presencia de la AFM1 genera problemas de salud pública ya que es clasificada por la IARC, como clase 2B, la cual incluye a las sustancias carcinogénicas para los humanos, además de producir intoxicaciones severas, abortos, vómitos, diarreas y hemorragias internas, y con el tiempo se van acumulando lo cual puede llevar a generar en el individuo enfermedades crónicas (Ortiz, 2009).

Los infantes tienen mayor riesgo de contaminación, ya que la leche se utiliza como fuente primordial en su alimentación, ocurriendo de forma similar con la población de adultos mayores por considerarse una fuente importante de calcio. Este producto de consumo no representa un riesgo para la salud humana, puesto que constituye una fuente nutritiva no superada por ningún otro alimento conocido (Ortiz, 2009), siendo importante su consumo en la población infantil y en los adultos mayores, los cuales no tienen suficientes mecanismos bioquímicos que permitan una adecuada detoxificación. En los niños el cerebro continúa su desarrollo durante muchos años después del nacimiento y esto puede causar una mayor susceptibilidad para que algunos tipos de micotoxinas tengan capacidad de afección al nivel del sistema nervioso central (SNC) (Gimeno & Martins, 2011).

El término micotoxina proviene de dos palabras griegas: “mykes” que significa hongo y “toxicum” que significa veneno. Las micotoxinas son metabolitos tóxicos secundarios producidos por cepas toxigénicas de varios géneros y especies de hongos. Los metabolitos fúngicos primarios son aquellas moléculas sintetizadas por el hongo para la formación de biomasa. Cuando el crecimiento del hongo termina o es interrumpido por la depleción de algún nutriente esencial, los procesos de síntesis del hongo se encaminan hacia la producción de metabolitos secundarios. Este grupo de sustancias incluye, pigmentos, antibióticos y micotoxinas, las cuales son producidas en gran cantidad durante la fase estacionaria del hongo. Los factores más importantes implicados en el crecimiento del hongo y la producción de micotoxinas son la humedad ambiental relativa, humedad del alimento, actividad del agua, temperatura de almacenamiento, ventilación y niveles de oxígeno atmosférico, integridad de la cutícula del grano. Las micotoxinas son altamente tóxicas, actúan como: mutágenos, cancerígenos, teratógenos e inmunosupresores. La presencia de micotoxinas en los alimentos se considera de alto riesgo para la salud de personas y animales debido a que son termoresistentes y a la gran

variedad de efectos tóxicos que causan (Pérez-Flores, Moreno-Martínez, & Méndez-Albores, 2011).

Son compuestos universales que difieren en sus propiedades biológicas, toxicológicas y químicas afectando a la salud de quienes ingieren vegetales, cereales, carne, huevos, granos y leche de animales contaminados con micotoxinas (Vásquez-Santa, 2010).

La citotoxicidad y genotoxicidad de la AFB1 están estrechamente relacionadas con los procesos metabólicos de bioactivación y detoxificación de esta micotoxina en el hígado. En la bioactivación actúan primordialmente enzimas de la superfamilia citocromo P450 (CYP450); estas enzimas catalizan la oxidación de una amplia variedad de sustancias y las transforman en productos solubles, que se pueden eliminar fácilmente. En particular, las enzimas CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6 y CYP3A4 cumplen un papel fundamental en la transformación de la AFB1; algunos de los metabolitos son: aflatoxina Q1, aflatoxina B2a, aflatoxina P1 y aflatoxina M1; los tres primeros son productos de detoxificación y el último (aflatoxina M1) es un metabolito citotóxico y carcinógeno. El principal metabolito es una forma reactiva muy inestable, AFB1-8,9-exo-epóxido (AFBO), responsable de la mayoría de los efectos tóxicos y carcinógenos. La AFBO tiene la capacidad de unirse covalentemente al nitrógeno 7 del nucleótido guanina en el ADN y formar aductos (8,9-dihidro-8-(N7-guanil)-9-hidroxi-AFB1 o AFB1-N7-Gua). De esta unión se pueden generar sitios apurínicos (AP) o la apertura del anillo imidazol del aducto (AFB1-N7-Gua); este último genera una molécula química y biológicamente más estable y menos susceptible de reparar, conocida como AFB1 formamido pirimidina (AFB1-FAPY) (Carreño-Venegas, Hurtado-Guerra, & Navas-Navas, 2014).

El sistema de Análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) es un sistema de gestión de la inocuidad de los alimentos basado en la identificación y evaluación sistemática de los peligros que afectan a los alimentos y en la definición de medios para controlarlos. Es un componente importante de un enfoque integrado de la inocuidad de los alimentos (FAO, 2003).

El sistema de vigilancia deberá consistir en la medición, habitualmente de un parámetro básico como la temperatura o el tiempo, programado para detectar cualquier desviación con respecto a los límites críticos. Existen diversos ensayos de análisis semicuantitativo rápido (kits) basados en técnicas de inmunoafinidad cuyos resultados se ajustan al nivel previsto, por ejemplo 5 o 20 µg/kg de la micotoxina en cuestión.

Se conocen actualmente entre 300 y 400 clases de micotoxinas, de las cuales aquellas que son más importantes por su ocurrencia y toxicidad son las siguientes:

Aflatoxinas

Como muchas otras micotoxinas, las aflatoxinas absorben en el tracto gastrointestinal rápidamente por difusión pasiva a nivel ruminal principalmente. El órgano en el que se metabolizan las aflatoxinas es principalmente el hígado, gracias a la actividad del citocromo p450, que es capaz de transformar la AB1 en AB1 8,9 epóxido, AM1, AB1 dihidrodiol y

conjugados con la molécula de glutatión, aunque es posible que los microorganismos ruminales sean capaces de convertir AB1 en AM1 (Medina, Castro, Salcedo, Silva, & Montiel, 2016).

Es por cierto, en el metabolismo de la aflatoxina B1 que se han centrado las investigaciones. La principal ruta de detoxificación es la glucorono conjugación, la conjugación con sulfatos y con glutatión. Las aflatoxinas pueden ser excretadas en leche, orina, semen y bilis, y también pueden encontrarse en la carne y en las vísceras como el hígado y el riñón de animales faenados (Coppock, Christian, & Jacobsen, 2018).

La etapa de la lactancia en vacas tiene un efecto sobre la excreción de AM1 en leche, pues las vacas en lactancia temprana excretan hasta tres veces más micotoxina AM1 en la leche que las vacas en lactancia tardía (Frobish et al. 1986). Baliukoniene et al. (2012) encontraron valores medios de aflatoxina M1 en leche de hasta 0,01 µg/l. Debido a que las micotoxinas se asocian a la proteína de la leche, adquieren estabilidad en la leche y pueden ser encontradas incluso en derivados lácteos en concentraciones mayores que en la leche (Coppock et al., 2018).

Fumonisina

En el caso de la fumonisina, aunque su toxicocinética y toxicodinamia ha sido principalmente estudiada en cerdos, se sabe que se absorbe en el tracto gastrointestinal de mamíferos por difusión pasiva debido a su comportamiento polar. En general, la fumonisina sufre escaso metabolismo a nivel ruminal. Luego de conjugarse a nivel hepático durante la fase II del metabolismo hepático, es excretada en orina y en heces. A diferencia de las aflatoxinas, la fumonisina prácticamente no se secreta en la leche o es detectable en la carne, por lo que en este sentido el riesgo de su consumo en productos de origen animal es bajo (Smith, 2018).

Ocratoxina

La ocratoxina se absorbe fácil y rápidamente en el estómago e intestino delgado de especies monogástricas, sin embargo, en rumiantes sufre hidrólisis a nivel ruminal por las enzimas de bacterias y protozoarios, por lo que la cantidad detectada en carne o leche suele ser muy poca, sin embargo, se sugiere que efectivamente es posible la secreción de ocratoxina A en la leche (Blank & Wolfram, 2009).

La ocratoxina que escapa al metabolismo ruminal, se metaboliza en el tejido gastrointestinal, riñón e hígado, y da origen a la ocratoxina alfa, a través de quimotripsina y carboxipeptidasa A. Las características de la flora del tubo digestivo de los rumiantes hacen posible disminuir sustancialmente la absorción de la Ocratoxina A (Solís, 2016). Sin embargo, es recomendable evitar el consumo prolongado debido a la acumulación de la sustancia en los tejidos. Por este motivo, la aparición clínica de toxicosis en esta especie es poco frecuente. La excreción se da generalmente por orina y heces, y la excreción por orina de ocratoxina alfa se socia principalmente a la recirculación entero hepática. Debido al metabolismo de la ocratoxina en el rumen, su excreción en leche es muy poca, al igual que el paso a través de la barrera placentaria (Battacone, Nudda, & Pulina, 2010).

Tricotecenos

Al igual que con la ocratoxina, los tricotecenos se absorben rápidamente en estómago e intestino delgado de mamíferos monogástricos, sin embargo, en rumen son metabolizados ampliamente. Por ejemplo, DON es transformada rápidamente en rumen a DOM-1, que es un metabolito desactivado, y que puede ser absorbido y luego conjugado (glucorono conjugación) para ser eliminado. Por este motivo, muy poca DON es absorbida a nivel gastrointestinal (Coppock et al., 2018), y la excreción en orina es principalmente de los conjugados de DON y DOM-1. Además, se ha comprobado que el nivalenol y el fusarenol X (luego de ser biotransformado a nivalenol) pueden pasar a través de la placenta y la leche de ratones hasta los tejidos de los fetos, en donde alcanzan concentraciones similares a los tejidos de la madre (Poapolathep, Sugita-konishi, Phitsanu, Doi, & Kumagai, 2004).

Zearalenona

La zearalenona se absorbe fácil y rápidamente tras la ingesta oral, luego de que sufre una serie de modificaciones a nivel ruminal, que dan origen a alfa zearalenol, y en menor medida, beta zearalenol. La conjugación de éstos metabolitos se lleva a cabo principalmente a nivel hepático gracias a la hidroxisteroide deshidrogenasa. La zearalenona y sus metabolitos sufren recirculación enterohepática, y la principal vía de excreción es biliar. Sin embargo, se ha observado que la tasa de pasaje ruminal puede modificar la absorción de la zearalenona y sus metabolitos, pues a mayor tasa de pasaje se da menor absorción de las toxinas. Un estudio demostró que los búfalos de agua son capaces de realizar una bioactivación de la zearalenona a nivel hepático y que además es perpetuada por la circulación entero hepática (Hassan, Fatemeh, & Kobra, 2010). Aunque la zearalenona, alfa zearalenona y beta zearalenona pueden secretarse en la leche de vacas y ovejas que consuman altas dosis, esta es muy poca y suele ocurrir durante un corto periodo de tiempo.

Contaminación de alimentos y sus efectos

Desde 1980 se viene haciendo estudios sobre la aparición de aflatoxina M1 (AFM1) en la leche humana y animal, fórmula infantil, leche en polvo, queso y yogur. Además, de la influencia del almacenamiento y procesamiento de leche y productos lácteos en la ocurrencia y estabilidad de AFM1. Las recomendaciones dictadas. Se recomienda que; (a) se deben realizar esfuerzos para intentar armonizar los límites normativos ya existentes para la FA en alimentos y piensos; (b) nuevas investigaciones deberían verificar la influencia del almacenamiento y procesamiento de la leche en la ocurrencia de AFM1 para evitar la incertidumbre en la práctica real; (c) la presencia de AFM1 en leches animales y productos lácteos es generalizada, aunque, teniendo en cuenta el fondo científico actual, los niveles de contaminación no parecen ser un peligro grave para la salud; sin embargo, otros estudios deberían proporcionar información científica precisa sobre el riesgo para la salud humana relacionado con la exposición a largo plazo a los niveles de AF subcrónica; (d) los programas de monitoreo deberían ser más extensos y frecuentes; y (e) en los

países tropicales y subtropicales, se debe prestar especial atención al control de la leche y los productos lácteos distintos de los de las vacas, así como de los piensos. Además, se deben realizar estudios extensos y periódicos sobre la ocurrencia de FA y su metabolito en la leche materna humana, ya que podría ocurrir un grave peligro para la salud de la madre, el feto o los niños lactantes (Galvano, Galofaro, & Galvano, 1996)

Las fuentes de la contaminación por aflatoxinas en los suplementos concentrados para animales pueden variar geográficamente, aunque la contaminación de cultivos con estos productos tóxicos es un problema mundial no limitado a países en desarrollo, siempre y cuando las condiciones climáticas y tecnológicas favorezcan su producción (Prandini et al., 2009).

Existen resultados ambiguos sobre el efecto que, cambios físicos, (calentamiento, enfriamiento o congelación) tienen sobre la concentración de la micotoxina en la leche. Los resultados de la evaluación, mediante un modelo de exposición, sugieren que la presencia de micotoxinas, en niveles de contaminación normales en la alimentación bovina, no debe dar lugar a importantes concentraciones de micotoxinas en la leche. Sin embargo, se detectaron restos de aflatoxina M1 en leches y fórmulas comerciales para niños, en la ciudad de Ankara, Turquía, debido a que estas micotoxinas no se inactivan con la temperatura de pasteurización y desecación. (Er, Demirhan, & Yentür, 2014).

A su vez, se ha sugerido, mediante un análisis de sensibilidad, que la clave para reducir la contaminación por micotoxinas es tomar acciones sobre el terreno antes de la cosecha de granos para la producción de piensos. Otras micotoxinas, implicadas como causantes de enfermedad, son las fumonisinas, producidas por *Fusarium verticilloides* y *F. proliferatum*, han sido implicadas en cáncer esofágico en humanos, generalmente presentes en diversidad de granos y otros productos. También, han sido detectadas en leche, especialmente FB1 (Gazzotti, et al., 2009).

Los tricotecenos, producidos por *Fusarium graminearum* y otras especies relacionadas, en cereales, son causa de inmunosupresión y consecuentemente tienen un papel importante en la disminución de la resistencia a enfermedades. Existe evidencia de que las aflatoxinas son también inmunosupresoras. Estos componentes están ampliamente distribuidos en alimentos de algunos países y pueden tener un rol importante, pero insospechado, en ampliar la susceptibilidad a una gran variedad de enfermedades (Tompkin, 2002).

En un estudio propusieron, utilizando un modelo de simulación, que las concentraciones de micotoxinas en leche, como aflatoxina M1, ocratoxina, fumonisina B1 y zearalenona, no serían suficientemente dosis altas en la leche, como para sobrepasar el máximo de la ingesta diaria admisible (IDA) según las guías de la Unión Europea (UE). Sin embargo, se determinó, en este estudio, que aflatoxina M1, tenía el potencial para exceder los límites establecidos por la UE (Gutiérrez & Zuñiga, 2016).

Una estrategia práctica para prevenir la aflatoxicosis en animales y para evitar los residuos de aflatoxinas en los alimentos, es la adición de adsorbentes no-nutritivos en el alimento, los cuales se unen a las aflatoxinas en el tracto gastrointestinal y reducen su biodisponibilidad y distribución

en la sangre, hígado y otros órganos. Se han realizado numerosos estudios de adsorción in vitro, incluso con fluido ruminal, sin embargo, los adsorbentes deben ser evaluados in vivo para establecer la eficacia de la utilización de animales. Hasta el momento existen pocos estudios sobre la eficiencia de los diferentes adsorbentes en vacas lecheras, a diferencia de los realizados en otras especies animales. Los estudios in vivo mostraron que la adición de aluminosilicatos, o glucomanos de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* en el alimento de vacas y cabras productoras de leche expuestas a AFB1, disminuyeron los niveles de AFM1 en la leche. El objetivo del estudio fue comparar dos métodos de exposición a aflatoxina B1 en ganado lechero y evaluar la eficiencia de adsorbentes de micotoxinas para reducir los niveles de AFM1 en la leche de vacas expuestas a alimentos contaminados artificialmente con AFB1 (Rojo, 2014).

La legislación de la UE establece para alimentos completos y alimentos complementarios destinados al ganado bovino, ovino y caprino lechero una concentración máxima permitida de 5 ppb en el alimento con una humedad del 12%. Según el reglamento de la CE (Comisión Europea) No. 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Para leche cruda, leche destinada a la fabricación de productos a base de leche y leche de consumo tratada térmicamente, la concentración máxima permitida de la AFM1 es de .05 µg/L o Kg (.05 ppb). En el caso de preparados para lactantes, preparados de continuación (incluidas la leche para lactantes y la leche de continuación) y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de AFM1 es de .025 µg/L o Kg (.025 ppb). Debido a la alta susceptibilidad mencionada anteriormente de parte de los infantes a estas toxinas (Vela-Morales, 2016).

En Guatemala las aflatoxinas constituyen un problema serio tanto a nivel agronómico como de salud pública, con una elevada proporción de muestras que exceden los niveles aprobados para consumo humano, hasta 20 ppb según la Comisión Guatemalteca de Normas (2002). Encontrando muestras por encima de 6000 ppb. La aflatoxina predominante en Guatemala es la B1, además, el maíz tiene fumonisinas, tóxicas que actúan sinérgicamente con las aflatoxinas potenciando su poder hepato-cancerígeno (Torres, 2013).

Un estudio indica que el 58% de las muestras colectadas de leche fluida de vaca en los expendios del municipio de Esquipulas muestra presencia de Aflatoxina M1 (< 50 ppt), y el 38% no presente ninguna presencia. El 92% del total de muestras de leche cruda de bovino colectada en expendios se encuentra dentro el límite permitido (50 ppt) y el 8% de las muestras presenta niveles superiores al límite, según la reglamentación de la Unión Europea, considerándose no apta para el consumo humano del municipio de Esquipulas, departamento de Chiquimula (Pinto-España, 2012).

9. Estado del arte

Las AFB1 y AFM1 han sido clasificadas por la IARC en el Grupo I como carcinógenos para humanos. La presencia de aflatoxinas en alimentos ha generado alarmas de seguridad alimentaria a nivel mundial. Aunque se han creado algunas regulaciones, en países donde hay mayor exposición a estas micotoxinas, existe poco o ningún control de calidad. Por ello, es importante generar mecanismos de vigilancia pertinentes para disminuir el riesgo de contaminación fúngica y alimentos con aflatoxinas (Londoño-Cifuentes & Martínez-Miranda, 2017).

A fines del año 2003 existían reglamentaciones para la aflatoxina M1 en 60 países, un incremento superior a las tres veces comparado con el año 1995. Nuevamente son la UE, la AELC y los países candidatos a incorporarse a la UE los que contribuyen mayoritariamente al pico más significativo indicado de $.05 \mu\text{g}/\text{kg}$, aunque otros países en el África, Asia y América Latina aplican también este límite. Otro límite significativo aparece con $.5 \mu\text{g}/\text{kg}$. Este límite superior se aplica en los Estados Unidos, varios países asiáticos y europeos, aunque con más frecuencia aparecen en América Latina donde ha sido fijado también como un límite armonizado en el MERCOSUR. (FAO 2004)

Diversos países han hecho estudios acerca de los niveles de AFM1 en muestras de leche de vaca y derivados como leche en polvo, quesos, helados, entre otros, con el fin de exponer el riesgo existente por el consumo de estos alimentos y establecer si se realizan los procesos de vigilancia y control adecuadamente, pues se ha demostrado que ni siquiera los tratamientos térmicos utilizados en la industria (como la pasteurización y esterilización), son capaces de inactivar esta micotoxina (Londoño-Cifuentes & Martínez-Miranda, 2017).

El tipo de alimento consumido por el animal influye en la contaminación de la leche con AFM1, donde la alimentación con pasto disminuye la concentración en las muestras de leche cruda. La alimentación del animal con alimentos mixtos (pasto y alimento concentrado) redujo el 50% aproximadamente la concentración de AFM1 en la leche cruda. Asimismo se considera que es necesario un monitoreo en las épocas de lluvia, ya que durante este lapso pluvial aumenta la humedad y baja la temperatura, condiciones bioclimáticas que permiten mayor proliferación de hongos ambientales productores de aflatoxinas (Medina et al., 2016).

Además, las aflatoxinas son recurrentes y su formación en alimentos y piensos a veces puede ser difícil de evitar debido a que esta contaminación tiene una relación directa con las condiciones climáticas, como la temperatura y la humedad. Por estas razones, una estrategia efectiva para controlar AFB1 en los piensos y un programa de monitoreo sistemático de AFM1 bajo los límites obligatorios de regulación de micotoxinas, junto con una técnica analítica precisa y validada constituye una estrategia importante para reducir su riesgo de salud y pérdida económica (Shundo, et al., 2016).

La industria lechera demanda un producto proveniente de la finca que cumpla estándares deseables de calidad; esto se logra con la aplicación de normas específicas, tanto nacionales como

internacionales, que procuren reducir los riesgos a un mínimo aceptable. Entre estas normas se encuentran las emitidas por el Codex alimentarius y FAO (2009). Por ende, los productores de leche, así como las asociaciones, cooperativas, industria y gobierno, deben impulsar y verificar la aplicación de medidas de manejo que colaboren a controlar los aspectos que influyen durante la extracción y mantenimiento de la leche.

10. Objetivo general

Determinar los niveles de aflatoxinas M1 en la leche fluida de bovino en finca de la región lechera del departamento de Chiquimula.

11. Objetivos específicos

Establecer la presencia o ausencia de aflatoxinas M1 en leche fluida de bovino, de acuerdo a la época de verano y lluvia en el departamento de Chiquimula.

Determinar los niveles mínimos y máximos de aflatoxinas M1 en la leche fluida de bovino en la región lechera del departamento de Chiquimula.

Determinar las medidas de manejo que realiza el productor para evitar la presencia de aflatoxinas en los alimentos ofrecidos a los bovinos.

12. Hipótesis (si aplica).

Se considera que por el tipo de investigación no es necesaria hipótesis.

13. Materiales y métodos

Enfoque y tipo de investigación

La investigación fue no experimental con un estudio con un enfoque cuantitativo transversal observacional donde se determinó la ausencia y presencia, y niveles mínimos y máximos de aflatoxina M1 en la leche cruda de bovino en finca para el consumo humano de la región lechera del departamento de Chiquimula en la época de verano y lluvias. Además, se efectuó el análisis cualitativo observacional de las medidas de manejo que realizan los productores con los alimentos que ofrecen a los bovinos en la época de verano y de lluvias respectivamente.

Tipo de la investigación:

El presente estudio fue una investigación descriptiva correlacional en función de los datos sobre la presencia y ausencia de aflatoxinas en la leche fluida en la época de verano y lluvia y la explicativa en cuanto a los aspectos del manejo de los alimentos proporcionados a los bovinos por parte del productor.

Recolección de la información

Para la determinación de la muestra de fincas en el departamento de Chiquimula de donde se tomaron las muestras de leche, se usó la información del último censo agropecuario nacional (Instituto nacional de Estadística, 2004) donde hay registrados municipios que producen más de 3,000 litros/leche/día como es el caso de Chiquimula, Esquipulas y Concepción Las Minas, en donde existían 952 fincas productoras de leche, de estas fincas se tomó una muestra no probabilística por juicio que fueron 34 fincas distribuidas en los tres municipios a través un muestreo aleatorio estratificado con afijación proporcional (siete en Chiquimula, 13 en Esquipulas y 14 en Concepción las Minas), con una muestra de leche por finca en la época de verano y otra muestra en la época de lluvias de los municipios en estudio, este muestreo se debió al costo elevado de cada muestra de leche a analizarla en el laboratorio. Las características de inclusión que tuvieron dichas fincas fueron el uso de alimentos como rastrojos, granos como el maíz y maicillo, ensilados y alimentos concentrados, además, producir más de 50 litros/día, más la comercialización de la leche y de sus subproductos; fueron establecimientos que producen leche de vaca localizadas en diversos ecosistemas y con diferentes sistemas de producción mixtos.

La fuente de información que se utilizó fue una boleta donde se solicitó a través de una entrevista los datos al ganadero, principalmente las características organolépticas de los suplementos y la manipulación que se les da dentro de cada finca para determinando la posible relación de contaminación con AFM1 en la época de verano y de lluvias. A partir de la información suministrada se calculó el volumen de leche positiva arriba del nivel permisible (ppt) por finca/municipio (volumen de leche positiva/volumen total producida por finca * 100) a partir de 0.5 µg/L (ppt) a AFM1.

Técnicas e instrumentos:

La toma de la muestra consistió en 200 mL de leche del recipiente colector de la finca, la cual se dispuso en un recipiente estéril y hermético, trasladado en refrigeración a 4 °C hasta el laboratorio de diagnóstico, con su respectiva boleta de datos e identificación de la misma.

En el laboratorio, a partir del Kit para la determinación de AFM1 con el método ELISA directa se establecieron los rangos estándar para hacer las conversiones de ng/L a partes por trillón (ppt), a partir del límite máximo de residuo (LMR) de 0.05 µg/L (50 ppt) en un lector de microplacas con una calibración de 450 nm con un filtro de aire diferencial de 630 nm.

Operacionalización de las variables o unidades de análisis

Para el objetivo: establecer la presencia o ausencia de aflatoxinas M1 en leche fluida de bovino, de acuerdo a la época de verano y lluvia en el departamento de Chiquimula con sus variables a medir AFM1 en ppt en la leche, número de fincas productoras de leche con presencia de AFM1, número de vacas en producción con presencia de AFM1 en la leche, litros de leche producidos

por finca con presencia de AFM1 y la concentración de AFM1 en ppt en leche fluida/finca/municipio.

En el objetivo: determinar los niveles mínimos y máximos de aflatoxinas M1 en la leche fluida de bovino en la región lechera del departamento de Chiquimula con sus variable a medir los niveles mínimos y máximos en ppt de AFM1 en la leche fluida/finca/municipio.

Y en el objetivo: determinar las medidas de manejo que realiza el productor para evitar la presencia de aflatoxinas en los alimentos ofrecidos a los bovinos con las variables del manejo de las materias primas para la alimentación de los bovinos, tipos de alimentación, uso de concentrados, ensilados, granos, harinas certificadas se utilizó tablas de frecuencia y contingencia.

Procesamiento y análisis de la información

Se realizó en las fincas muestreadas una encuesta transversal recabando información del manejo de los alimentos proporcionados al ganado en producción y del conocimiento por parte del productor sobre la presencia de AFM1.

Se evaluó estadísticamente las variables en estudio en función de los niveles AFM1 (ppt) en leche, se realizó un análisis con una prueba no paramétrica, la prueba de muestras pareadas, la cual se aplicó para los resultados de AFM1 de las muestras de verano y época de lluvias con el paquete estadístico SPSS. Se estableció la concordancia entre el volumen de leche por finca/municipio y porcentaje del volumen de leche positiva a AFM1 y su relación con el manejo de los alimentos proporcionados a los bovinos para lo cual se hicieron tablas de frecuencias y contingencia para contrastar los resultados.

14. Vinculación, difusión y divulgación

La oferta principal de vincular los resultados del estudio fue con el sector lechero del departamento de Chiquimula, al cual se le informó de la situación sanitaria de la leche fluida, esto debido a que existen una serie de fincas y centros de acopio de leche fluida en los cuales no se realizan pruebas de plataforma ni de laboratorio y de esta leche se elaboran subproductos como queso y crema, por lo tanto fue indispensable la información que les proporcionó en los talleres implementados de la presencia o ausencia de AFM1, y los riesgos que se corren a la salud de las personas.

Se contactaron dos grupos de productores organizados (un grupo de los lecheros de la comunidad de Chanmagua, Esquipulas y el otro de los productores del municipio de Concepción Las Minas) a los que se les apoyo para resolver su problemática de la producción láctea capacitaciones frecuentes sobre aspectos de las buenas prácticas de la vaca lechera y el manejo de los alimentos proporcionados al bovino, libre de aflatoxinas, por la importancia de producir leche inocua.

Algunos aspectos importantes a mencionar fue la confidencialidad de los resultados que fueron exclusividad del ganadero que aportó la información para lo cual cada finca tuvo un código y los resultados fueron globalizados sin mencionar nombres de las personas o las fincas.

15. Productos, hallazgos, conocimientos o resultados:

La presencia de AFM1 en ppt en la leche fluida en base a los límites permisibles residual para su consumo en la época de verano fue el 12% positivas a AFM1 y en época de lluvia se presentó en un 69% de las muestras.

La cantidad de litros de leche fluida producidos que fueron contaminados con AFM1 en ppt por municipio en la época de lluvias fue de 1036 L en el momento de la toma de la muestra.

Los niveles máximos de AFM1 en ppt en la leche fluida en base a los límites permisibles residual para su consumo en la época de verano alcanzaron de 70.24 a 134.76 ppt/AFM1 y la época de lluvia de 51.28 a 978.06 ppt/AFM1.

Se capacitaron a los productores (62) en dos talleres sobre el tema de las aflatoxinas y manejo de los alimentos proporcionados a las vacas productoras y a los cuales se les entregó sus resultados con la confidencialidad del caso.

16. Análisis y discusión de resultados:

En total se analizaron 34 muestras de leche fluida de igual número de fincas donde había vacas en producción y se obtuvo una muestra de leche en verano y una muestra en la época lluviosa, de lo anterior se presentan los siguientes resultados y análisis:

Tabla 1

Resultados de la presencia o ausencia de aflatoxinas M1 en leche fluida de bovino, de acuerdo a la época de verano y lluvia en tres municipios del departamento de Chiquimula.

Fincas (n=34)	Verano				Invierno			
	Negativas	%	Positivas	%	Negativas	%	Positivas	%
Esquipulas	13	38	0	0	4	31	9	26
Chiquimula	6	18	1	3	4	57	3	9
Concepción Las Minas	11	32	3	9	4	29	10	29
Total	30	88	4	12	12	35	22	65

La Tabla 1 se puede observar que las muestras tomadas en el verano 30 (88%) de ellas fueron negativas es decir ausencia de aflatoxina M1 o con trazas no detectables y cantidades de aflatoxinas M1 menores a 50 ppt que es el límite permisible. Ahora bien 4 (12%) muestras fueron positivas a la presencia de aflatoxinas M1 arriba de los límites máximos de residuo (LMR) que es

50 ppt. Hay que destacar que las fincas productoras de leche de Esquipulas el 100% (13) fueron negativas en el verano.

En la época de lluvias la situación cambio totalmente pues solo 12 (35%) muestras fueron negativas y 22 (65%) muestras fueron positivas con presencia de aflatoxina M1 arriba de los LMR (> 50 ppt). En donde las fincas productoras de leche de Concepción Las Minas el 29% (10) fueron positivas del total de fincas muestreadas en la época de lluvias.

Un estudio que se realizó en un centro de acopio de leche ubicado en la región de la costa sur de Guatemala, acerca de la presencia de la aflatoxina M1 (AFM1) en la leche cruda de bovino, Los resultados determinaron la presencia de AFM1 en todas las muestras de leche cruda analizadas, demostrando que el 100% de las concentraciones se encuentra por encima del límite máximo aceptado por la UE. Sin embargo, 90% de las muestras se encuentran en un nivel de acción aceptable según la FDA (Vela-Morales, 2016).

En un estudio con resultados similares se observó que el 70% (14) de las muestras de leche analizadas presentaban contaminación por Aflatoxina M1 en Medianeira y Serranópolis de Iguacu Paraná, Brasil; sin embargo, solo 3 (15%) presentaron resultados por encima del límite de detección estipulado por el método (.10 ppb). Entre estas muestras, una representa la muestra de leche informal completa (16.66% de las muestras de leche informales completas) Las otras dos contaminaciones se detectaron en una muestra de leche pasteurizada entera homogeneizada (20% del total de este tipo de muestra) y la otra en leche entera UHT homogeneizada, que también totaliza el 20% de las muestras de leche UHT analizadas. (Becker, Franco, Racoulte, & Drunkler, 2010).

En una investigación realizada en la ciudad de Cuenca Ecuador por Malla-Bravo y Saula-López (2016) se efectuó el análisis de 84 muestras en total y para cada clase de leche se realizaron dos muestreos correspondientes cada uno a diferentes lotes de producción, tres muestras por cada lote, es decir seis muestras por marca en el caso de las leches entera y descremada UHT y dos muestras en el caso de la leche entera pasteurizada y la leche cruda. Se encontraron 16 muestras positivas que estaban entre el límite de detección y cuantificación (.09 – .18 ppb), obteniéndose una prevalencia del 19%. Los valores de AFM1 fueron inferiores a la concentración permitida por la normativa nacional vigente INEN 9-10 (.5 ppb) e internacionalmente por la FDA (.5 ppb); por lo que, la concentración de AFM1 no contiene niveles que constituyan un peligro para la salud de la población consumidora.

Muestras de leche procedentes del Altiplano Mexicano (9 cruda, 20 ultrapasteurizada y 15 orgánica) fueron analizadas para determinar la presencia de aflatoxina M1. Los resultados mostraron que el 59% de las muestras presentaron niveles de aflatoxina M1 y todos los casos se encontraron por encima del límite máximo de residuo de .05 µg/Kg propuesto por la Unión Europea. Las medianas de aflatoxina M1 encontradas en muestras de leche cruda, ultrapasteurizada y orgánica fueron 16.21; 16.1 y 23.1 µg/Kg respectivamente. El porcentaje de muestras por encima del límite máximo de residuo fue menor en leche de producción orgánica

(20%) comparada con las leches crudas y ultrapasteurizadas que estuvieron por encima del 50 y 60% respectivamente (Pérez, et al., 2008).

En otro estudio el 100% de la leche cruda y pasteurizada de la comunidad Mene Mauroa del occidente de Venezuela analizadas presentaron niveles de concentración de AFM1 dentro de los límites establecidos por la FDA y la UE. La incidencia de AFM1 tanto en leche cruda como pasteurizada en las zonas estudiadas fue baja. La leche cruda y pasteurizada distribuida en la región representa un alimento seguro al consumidor por contener concentraciones de AFM1 dentro de los límites establecidos (Medina, 2016).

Tabla 2

Resultados de los niveles mínimos y máximos de aflatoxinas M1 en la leche fluida de bovino arriba de 50 ppt en las 34 fincas de producción láctea muestreadas de tres municipios del departamento de Chiquimula, en la época de verano y de lluvias.

No	Esquipulas		Chiquimula		Concepción La Minas			
	Verano (ppt)	Invierno (ppt)	No	Verano (ppt)	Invierno (ppt)	No	Verano (ppt)	Invierno (ppt)
1	< 50	51.28	14	< 50	70.36	21	104.66	55.13
2	< 50	74.04	15	70.24	73.51	22	88.82	70.70
3	< 50	82.28	16	< 50	116.48	23	< 50	86.72
4	< 50	89.14	17	< 50	< 50	24	< 50	87.52
5	< 50	108.12	18	< 50	< 50	25	< 50	133.17
6	< 50	112.48	19	< 50	< 50	26	< 50	155.43
7	< 50	142.00	20	< 50	< 50	27	< 50	165.85
8	< 50	623.61				28	< 50	182.53
9	< 50	978.06				29	< 50	397.96
10	< 50	< 50				30	< 50	691.22
11	< 50	< 50				31	134.76	< 50
12	< 50	< 50				32	< 50	< 50
13	< 50	< 50				33	< 50	< 50
						34	< 50	< 50
\bar{X}	0.00	173.92		10.03	37.19		23.45	144.73
(DE)	(0.00)	(291.49)		(26.55)	(47.20)		(50.47)	(195.39)

En la Tabla 2 se presentan los niveles de aflatoxinas M1 detectados en las muestras de leche de las 34 fincas de la siguiente manera:

En la época de verano solamente cuatro fincas presentaron niveles arriba del LMR (>50 ppt) y que oscilaron entre 70.24 a 134.76 ppt/AFM1, con una media de 11.72 (33.6) ppt/AFM1 ($p <$

.001) y fue en el municipio de Concepción las Minas donde se observaron tres fincas entre 88.82 a 134.76 ppt/AFM1 y una finca del municipio de Chiquimula.

En la época de lluvia fueron 22 fincas que se encontraron con niveles arriba del LMR y que fluctuaron entre 51.28 a 691.22 ppt/AFM1 con una media de 133.75 (226.97) ppt/AFM1 ($p < .001$). Hay que hacer notar que las fincas de Esquipulas fueron las que tuvieron los más altos niveles entre 51.28 a 978.06 ppt/AFM1 con una media de 173.92 (291.49) ppt/AFM1, luego Concepción las Minas con niveles entre 55.13 hasta 691.22 ppt/AFM1 con una media de 144.73 (195.39) ppt/AFM1 y Chiquimula entre 70.36 a 116.48 ppt/AFM1 con una media de 37.19 (47.20) ppt/AFM1.

Hubo solo tres fincas que presentaron tanto en la época de verano como de lluvias presencia de AFM1 una del municipio de Chiquimula y tres en Concepción Las Minas.

Un estudio determinó AFM1 en leche cruda de los principales municipios productores de leche de la región de los Altos y Ciénega, Jalisco, México. Los resultados mostraron contaminación con aflatoxina en el 92.5%, con niveles entre 4.82 a 24.89 $\mu\text{g}/\text{Kg}^{-1}$. Del total de las muestras contaminadas, 9.3% contenían niveles superiores al valor permitido por las Normas Oficiales Mexicanas (20 $\mu\text{g}/\text{Kg}^{-1}$). AFM1 se presentó en el 80% de las muestras de leche, los niveles detectados fluctuaron de .006 a .065 $\mu\text{g}/\text{L}^{-1}$. Ninguna de las muestras sobrepasó el nivel permitido por la regulación (0.5 $\mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) (Reyes-Velásquez, 2009).

En la ciudad de Ribeirao Preto en el estado de São Paulo, determinaron la concentración AFM1 en 36.7% de las muestras de leche que variaron de .01 a 0.645 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ y solo una muestra estaba por encima del límite de tolerancia adoptado en el Brasil. Además, encontró el 20.9% de la 139 muestras excedieron el límite Unión Europea (0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$), con una variación de .05-.24 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ Garrido y col. (2003).

En otro estudio 257 muestras de leche procedentes de diferentes regiones geográficas de Brasil fueron analizados para determinar la presencia de AFM1. Los límites de cuantificación (LOQ) fueron .008 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y .080 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para leche fluida y la leche en polvo, respectivamente. Se detectaron AFM1 en 209 (81.3%) muestras, siendo 26 (63.4%), 105 (84.0%) y 78 (85.7%) de leche pasteurizada, UHT (temperatura ultra alta) y en polvo, respectivamente. La concentración más alta de AFM1 en leche en polvo fue de (1.210 $\mu\text{g}/\text{kg}$). En UHT y leche pasteurizada, .120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y una muestra con .050 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. (Shundo, 2016)

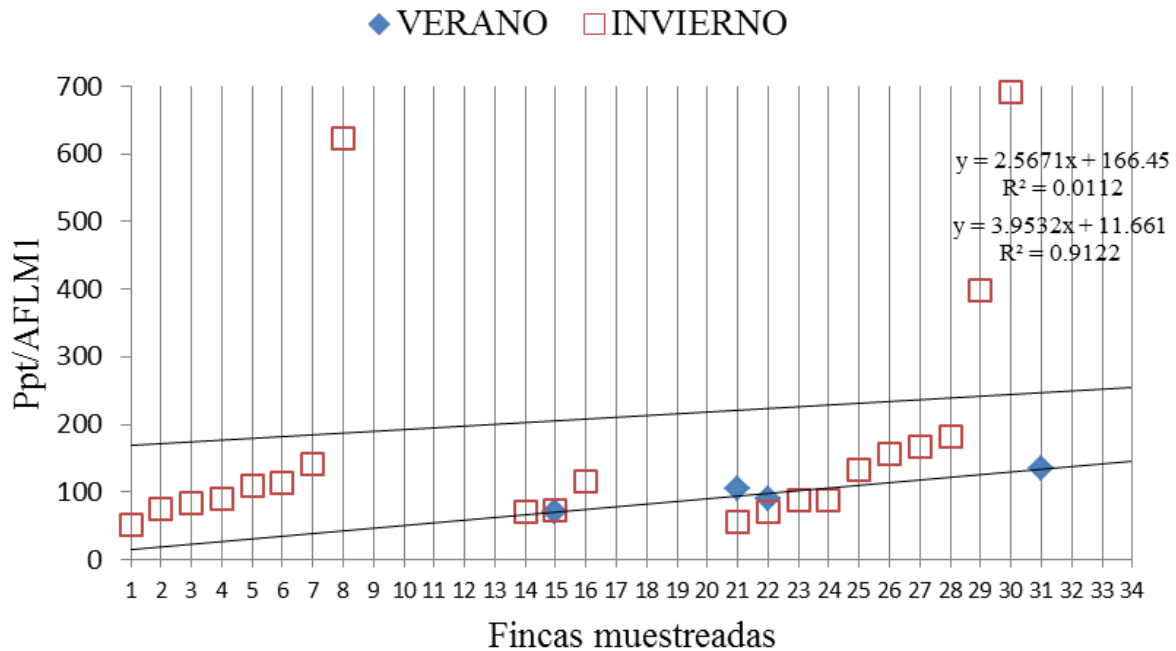


Figura 1

Diagrama de dispersión de las ppt/AFLM1 en las fincas muestreadas (34) arriba de LMR 50 ppt en donde de la 1 a la 13 corresponde al municipio de Esquipulas, de la 14 a la 20 Chiquimula y de la 21 a la 34 a Concepción Las Minas.

En la *Figura1* se observa la dispersión de los niveles de AFLM1 en las 34 fincas muestreadas en la época de verano y de las lluvias en donde existió diferencia significativa en el municipio de Esquipulas (de la 1 a la 13) de acuerdo a la época ($p < .05$) y en Concepción Las Minas (de la 21 a la 34) también existió diferencia significativa de acuerdo a la época ($p < .004$); solamente en Chiquimula (de la 14 a la 20) donde no presentó diferencia significativa ($p < .17$).

Ahora al analizar los niveles de AFLM1 en los tres municipios si existe diferencia significativa de acuerdo a la época ($p < .003$).

Tabla 3

Litros de leche producidos y en riesgo de contaminación con AFLM1 en ppt por municipio en época de lluvias.

Variable	Esquipulas		Chiquimula		Concepción Las Minas		Totales	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
Número de fincas muestreadas	13	38	7	21	14	41	34	100
Fincas positivas a AFM1	9	26	3	9	10	29	22	65
Litros de leche/día	326	11.6	1568	55.9	913	32.53	2807	100
Litros de leche/día en riesgo	117	4.17	350	12.5	569	20.27	1036	36.91
Elaboración de subproductos lácteos*	12	35.3	5	14.7	1	2.94	18	52.94
Leche para centro de acopio*	1	4.55	2	9.09	13	59.09	16	47.06

*Productores

La Tabla 3 refleja los resultados de los litros de leche producidos en el momento que se realizó la entrevista con los productores de las 34 fincas muestreadas, los cuales en ese momento alcanzaron 2807 L/día y se encontró que 1036 L/leche/día estaban contaminados con AFLM1 que representó el 36.91% de la leche con presencia arriba del LMR. Cabe mencionar que el municipio de Concepción Las Minas fue el que tuvo mayor porcentaje de litros contaminados el 54.92% (569L/leche con residuos de AFLM1) de su leche producida. Además, lo preocupante del caso es que el 36.91% (1036 L) de esa leche total tuvo aflatoxinas de 18 productores y se utiliza para la elaboración de subproductos como quesos y cremas; el resto de los 16 productores depositan su leche en centros de acopio o para consumo.

En un estudio donde se analizó que la etapa de la lactancia en vacas tiene un efecto sobre la excreción de AFLM1 en leche, pues las vacas en lactancia temprana excretan hasta tres veces más micotoxina AFLM1 en la leche que las vacas en lactancia tardía encontraron valores medios de hasta .01 µg/L. Debido a que las micotoxinas se asocian a la proteína de la leche, adquieren estabilidad en la leche y pueden ser encontradas incluso en derivados lácteos en concentraciones mayores que en la leche (Alpízar-Solís, 2015).

En otro estudio se realizó para encontrar un método in vivo confiable de exposición artificial a AFLB1 en vacas lecheras. En estos ensayos, siempre fue detectada la presencia de residuos de AFLM1 en la leche después de la exposición a aflatoxina B1. Cuando las vacas lecheras se expusieron a AFLB1, la AFLM1 apareció en la leche 48 h después de la ingestión y volvió a nivel no detectable después de 72 a 96 h después del retiro del alimento contaminado con AFLB1. La tasa de conversión para los grupos testigo (T1) en el experimento 1 fue 3.35 %, y 1.8 % en el experimento 2 (Rojo, 2014).

En otro experimento se llevó a cabo utilizando ovejas lecheras para estudiar la transferencia de aflatoxina B1 (AFLB1) del alimento a la leche y de la leche al queso y los efectos de AFLB1

sobre la función hepática y los parámetros hematológicos. Los grupos de ovejas recibieron 32, 64 o 128 $\mu\text{g/d}$ de AFLB1 pura durante 7 días seguidos. Los resultados indican que el nivel de AFLB1 utilizado no afecta negativamente la salud animal y la producción de leche. Las concentraciones medias de AFM1 de los grupos tratados (184.4, 324.7 y 596.9 ng/kg en ovejas con dosis de 32, 64 o 128 $\mu\text{g/AFLB1}$, respectivamente) fueron afectado significativamente por las dosis de AFLB1. Los valores de arrastre de AFB1 de la alimentación a AFM1 en la leche (0.26 a 0.33%) no fueron influenciados por las dosis de AFLB1. Las concentraciones de AFLM1 en cuajada y suero se relacionaron linealmente con las concentraciones de AFM1 en la leche fluida (Battacone, et al., 2005)

De igual manera en un estudio donde se determinaron los patrones de excreción de aflatoxina M1 (AFLM1) en la leche de cabras lecheras alimentadas con una dosis única de aflatoxina B1 pura (AFLB1), que puede ocurrir ocasionalmente si los alimentos están infectados por el crecimiento de mohos que producen aflatoxinas. Cinco cabras lecheras en la lactancia media se administró 0,8 mg/ AFLB1 por vía oral. Se recogieron muestras de leche individuales durante 84 h después de la dosificación de AFLB1. La aflatoxina M1 fue la que se encontró en la leche con la concentración más alta en todas las cabras y se detectó en el primer ordeño después de la administración de AFLB1. Los valores máximos para la concentración de AFLM1 en la leche se observaron en la leche muestreada 3 y 6 horas después de la aplicación. AFLM1 en la leche desapareció con una tendencia ajustada decreciente exponencial, y la toxina no se detectó después de 84 horas y solo aproximadamente el .17% de la cantidad de AFLB1 administrada se detectó como AFLM1 en la leche, y el 50% de esto fue excretado en el primer litro de leche producido después de aplicación de AFLB1 (Battacone, Nudda, Rassu, Decandia, & Pulina 2012).

En lo que respecta a la toxicidad de la aflatoxina B1, se podría también establecer para los bovinos, ovinos y caprinos lecheros una concentración máxima tolerable de 25 $\mu\text{g/kg}$. Sin embargo y como consecuencia de que la aflatoxina B1 se transforma dentro del animal en aflatoxina M1 y esta última va a la leche, la concentración máxima tolerable para aflatoxina B1 en esos animales debe ser más rigurosa, concretamente 5 $\mu\text{g/kg}$, a fin de que la concentración de aflatoxina M1 en la leche no represente riesgo para los humanos consumidores de ese alimento (Gimeno & Martins, 2011).

Tabla 4

Manejo que realizan los productores para evitar la presencia de aflatoxinas en los alimentos ofrecidos a los bovinos en producción en los tres municipios en estudio.

Variable	Esquipulas		Chiquimula		Concepción Las Minas		Totales		
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%	
Número de fincas muestreadas	13	38	7	21	14	41	34	100	
Uso de ensilaje	7	27	5	19	14	54	26	76	
Forrajes para el ensilaje	Sorgo	0	0	5	38	8	62	13	50
	Maíz	7	33	0	0	14	67	21	81
	Napier	1	14	0	0	6	86	7	27
	Caña de azúcar	3	75	0	0	1	25	4	15
Días de ensilaje	22-60		30-120		20-120				

En la Tabla 4 se observa la cantidad de 26 (76%) productores que utilizan el ensilaje que es uno de los alimentos precursores de aflatoxinas B1 sino se elabora apropiadamente y que es una opción de alimentación para la vaca lechera en la dieta de las mismas, además, en el municipio de Concepción Las Minas todos los productores muestreados (14) usan el ensilaje. Ahora bien, los forrajes utilizados para la elaboración del ensilaje fueron el maíz y sorgo con tiempos de maduración entre 20 y 120 días del ensilado.

Eckard, Wettstein, Forrer, y Vogelgsang (2011) encontraron una incidencia de infección con *Fusarium* de un 46% en plantas de maíz antes de la cosecha, y las especies más prevalentes fueron *F. sporotrichoides*, *F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. proliferatum* y *F. equiseti*. También determinaron que la apariencia de síntomas visuales de infección del maíz con *Fusarium* no es un parámetro adecuado para predecir el posible contenido de toxinas en el ensilaje de maíz. Estos datos también concuerdan con los encontrados por Van Asselt y colaboradores (2012) en Holanda, quienes observaron que el 50% de las muestras de ensilajes de maíz que estudiaron resultaron positivas para *Fusarium*, donde a la vez las especies más frecuentes fueron *F. crookwellense*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides* y *F. equiseti*.

El correcto manejo de los cultivos, de las etapas del proceso de ensilaje y el control de las condiciones en las que se elabora constituyen las medidas más efectivas para disminuir la contaminación de los ensilajes con micotoxinas. Además, es necesario seguir avanzando en las investigaciones relacionadas con la presencia de micotoxinas en ensilajes para consumo de rumiantes, muy especialmente en regiones tropicales, pues las condiciones ambientales y las características de los alimentos producidos en dichas regiones favorecen, al menos teóricamente, el desarrollo de estas toxinas, lo cual representa un alto riesgo para la salud y seguridad alimentaria de las poblaciones que dependen de la producción agropecuaria de estos países. (Alpizar-Solís, 2015).

Algunos comentarios sobre la temática indican que los niveles de contaminación más altos de AFLM1 encontrados se relacionaron con los resultados obtenidos en la encuesta efectuada, donde se identificaron ciertas deficiencias en el almacenamiento del alimento (Vela-Morales, 2016)

Tanto el contenido de materia seca como el pH de los ensilajes también parecen tener un efecto importante sobre el desarrollo de ciertos hongos, y posiblemente, sobre la producción de micotoxinas (O'Brien et al., 2010)

Tabla 5

Tipos de alimentos proporcionados a las vacas en producción de las fincas muestreadas de acuerdo a la época de verano o lluvias en los tres municipios en estudio

Tipos de alimentos ofrecidos	Época	Esquipulas		Chiquimula		Concepción Las Minas		Totales	
		Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
Fincas muestreadas		13	38	7	21	14	41	34	100
Forrajes verde	Verano	2	6	2	6	11	32	15	44
	Lluvias	7	21	5	15	10	29	22	65
Balanceados	Verano	13	38	7	21	14	41	34	100
	Lluvias	10	29	7	21	10	29	27	79
Heno	Verano	2	6	0	0	11	32	13	38
	Lluvias	0	0	0	0	0	0	0	0
Ensilaje	Verano	7	21	5	15	14	41	26	76
	Lluvias	2	6	0	0	11	32	13	38
Granos	Verano	0	0	0	0	1	3	1	3
	Lluvias	0	0	0	0	0	0	0	0
Pastoreo	Verano	4	12	7	21	1	3	12	35
	Lluvias	7	21	7	21	14	41	28	82
Rastrojos pastoreo	Verano	0	0	0	0	14	41	14	41
	Lluvias	0	0	0	0	0	0	0	0
Harinas	Verano	2	6	0	0	9	26	11	32
	Lluvias	0	0	0	0	3	9	3	9

En la Tabla 5 se observa los alimentos que son proporcionados por los productores de las fincas muestreadas a las vacas en producción de acuerdo a la época de verano o de lluvias. En la época de verano los alimentos brindados indicaron que el cien por ciento de los productores usan los balanceados comerciales por la misma escases de forraje verde, el ensilaje es la segunda opción de alimentación con el 79% (26 productores) y el 44% (15) utilizaron forrajes verdes de corte. En la época de las lluvias el 82% (28) utilizan el pastoreo como fuente principal de alimentación, el 79% (27) usan los balanceados comerciales y el 65% (22) forrajes verdes de corte.

Medina y colaboradores (2016) indican que el tipo de alimento consumido por el animal influye en la contaminación de la leche con AFLM1, donde la alimentación con pasto disminuye la

concentración en las muestras de leche cruda. La alimentación del animal con alimentos mixtos (pasto y alimento concentrado) redujo el 50% aproximadamente la concentración de AFLM1 en la leche cruda. La incidencia de AFLM1 tanto en leche cruda como pasteurizada en las zonas estudiadas de Mene Mauroa del occidente de Venezuela fue baja.

La aflatoxina M1 se puede detectar en la leche unas horas después administrando una dosis oral de AFLB1 a vacas en producción, lo que indica que al menos parte de su absorción ocurre en el rumen. Porque hasta el 6% de la AFLB1 que consumen las vacas lactantes se secreta en leche como AFM1 (Morán, et al., 2013),

Asimismo, el mayor o exclusivo uso de pasturas frescas durante el verano favorecen la ausencia de hongos (Ortiz, 2009).

Tabla 6

Conocimiento de los productores de las fincas muestreadas sobre la contaminación y prevención de las aflatoxinas en la leche fluida en el departamento de Chiquimula.

Variable		Esquipulas		Chiquimula		Concepción Las Minas		Totales	
		Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
Presencia de mohos y mal olor en ensilajes	Si	3	43	3	60	11	79	17	65
	No	4	57	2	40	3	21	9	35
Control del hongo en el ensilaje	Si	0	0	0	0	0	0	0	0
	No	7	100	5	100	14	100	26	100
Conocimiento sobre aflatoxinas	Si	0	0	0	0	0	0	0	0
	No	13	100	7	100	14	100	34	100
Conoce algún método de prevención	Si	0	0	0	0	0	0	0	0
	No	13	100	7	100	14	100	34	100

La Tabla 6 se presentó la información sobre la información que posee el productor sobre la presencia de las aflatoxinas en la leche y la contaminación de micotoxinas de los alimentos que le proporciona a sus vacas y los resultados indicaron que el 65% (17) de los productores que usan ensilajes para alimentar sus vacas en producción (26) detectan la presencia de mohos y mal olor en sus ensilajes pero el 100% no conoce ningún control o método para eliminar los hongos en el ensilaje ya elaborado.

Con respecto al conocimiento o información sobre que son las aflatoxinas, sus efectos en la salud humana y métodos de prevención en el bovino, los 34 productores respondieron que desconocen el tema sobre las aflatoxinas.

La contaminación con micotoxinas es un problema de graves repercusiones económicas y de salud. A pesar de los numerosos estudios realizados, todavía hay más interrogantes que respuestas. La presencia de micotoxinas en los alimentos para animales representa un desafío para la industria, ya que por lo regular la intoxicación se da por varias micotoxinas al mismo tiempo y los efectos se complican por la presencia de otros factores. Dado que es muy difícil

obtener insumos libres de toda contaminación se han propuesto diversas formas para el manejo de este problema. Así se han establecido valores límites de contaminación y propuesto diferentes alternativas de control. En este último aspecto, la alternativa actual más práctica para controlar la micotoxicosis en la industria pecuaria es la del uso de adsorbentes de micotoxinas, sin embargo, este tema es muy polémico pues existen muchas opciones en cuanto a productos. (Espíndola-Figueroa, 2006).

En animales lactantes, la tasa de conversión de AFLB1 a AFLM1 oscila entre 0,5 y 6%. La variabilidad se debe a diferentes factores, como la respuesta individual, el nivel de ingesta de AFLB1, la etapa y el orden de lactancia. Varios investigadores informaron que existe una relación lineal entre la cantidad de AFLM1 en la leche y AFLB1 en el alimento que consume el ganado lechero. Se considera que la aflatoxina M1 en la leche y los productos lácteos presenta ciertos riesgos higiénicos para la salud humana. Estos metabolitos no se destruyen durante el proceso de pasteurización y calentamiento. La contaminación por aflatoxinas en la leche y sus productos se produce de dos maneras. O las toxinas pasan a la leche con la ingestión de alimentos contaminados con Aflatoxina, o resulta como una contaminación posterior de la leche y los productos lácteos con hongos. Al igual que otras micotoxinas. Los límites estándar de muchos países para las aflatoxinas M1 y M2 oscilaron entre 0 y 0,5 ppb, en la leche y los productos lácteos. Algunas Comunidades Europeas y el Codex Alimentarius prescriben que el nivel máximo de AFLM1 en la leche líquida y los productos lácteos secos o procesados no debe exceder los 50 ng/kg. Entonces, en este artículo de revisión, queremos destacar estas peligrosas micotoxinas en nuestros productos lácteos al informar toda la información que se encuentra disponible en la literatura. (Nogaim, 2014)

17. Conclusiones

Las fincas muestreadas positivas en la época de verano fue del 12% todo lo contrario para la época de lluvias donde el resultado fue del 65%.

Cuatro de las fincas muestreadas presentaron resultados positivos a AFM1 tanto en la época de verano como en la de lluvias arriba del LMR.

Los niveles de AFM1 en los tres municipios si existió diferencia significativa de acuerdo a la época ($p < .003$) e incide la época de lluvias en la presencia de AFM1 en la leche.

El nivel mínimo encontrado arriba del LMR fue de 70.24 ppt/AFM1 y el nivel máximo encontrado fue de 134.76 ppt/AFM1 en la época de verano

El nivel mínimo encontrado en arriba del LMR fue de 51.28 ppt/AFM1 y el nivel máximo encontrado fue de 978.06 ppt/AFM1 en la época de lluvias

Los productores desconocen el impacto negativo que tienen las aflatoxinas en la salud humana y no saben que manejo darle a los alimentos contaminados que se les ofrecen a los bovinos en producción con micotoxinas.

18. Impacto esperado

Actualmente el sector lechero de la región oriental del país se está vinculando nuevamente debido a la demanda de leche fluida de alta calidad, por ello fue importante llevar a cabo este tipo de estudios para establecer parámetros de la calidad de leche que se produce para luego inducir al productor a que se capacite buscando fortalecer el sistema de producción que posee, no importando la cantidad de litros producidos por día.

Pese a los esfuerzos por establecer normas para el control de la exposición humana a alimentos contaminados con aflatoxinas, la lucha se hace insuficiente y poco práctica, ya que se requiere necesariamente un abordaje interdisciplinario del problema, el cual hasta el momento no se ha podido gestar.

Por lo anterior, los resultados de este trabajo sirvieron para que el productor de leche de bovino en el departamento de Chiquimula tome conciencia de cómo evitar la contaminación con hongos los alimentos que se le proporcionan a sus vacas al determinar los residuos de aflatoxinas en leche a nivel de laboratorio, para luego tomar las medidas correctivas y evitar los efectos secundarios en la salud de las personas que consumen productos o subproductos de leche fluida de vaca.

En la parte académica el aporte que se dio a los estudiantes de zootecnia del CUNORI sobre la información puntual sobre los resultados del estudio y su importancia en la salud pública que incluye cuál es el papel del zootecnista en la producción láctea del país.

19. Referencias

- Alpízar-Solís, C.A. (2015). Presencia de hongos y contaminación con micotoxinas en ensilajes para alimentación de rumiantes. *Revista Ciencias Veterinarias*, 33(1), 7-31.
- Battacone, G., Nudda, A., Rassu, S. P., Decandia, M., & Pulina, G. (2012). Excretion pattern of aflatoxin M1 in milk of goats fed a single dose of aflatoxin B1. *Journal of dairy science*, 95(5), 2656-2661.
- Battacone, G., Nudda, A., & Pulina, G. (2010). Effects of ochratoxin a on livestock production. *Toxins*, 2(7), 1796-1824.
- Battacone, G., Nudda, A., Palomba, M., Pascale, M., Nicolussi, P., & Pulina, G. (2005). Transfer of aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *Journal of Dairy Science*, 88(9), 3063-3069.
- Becker, T. A., Franco N. I., Racoulte, F., Drunkler, D. A. (2010). Avaliação da qualidade sanitária de leite integral informal, pasteurizado, UHT e empó comercializados nacidade de Medianeira e Serranópolis do Iguaçu – Paraná *Semina Ciências Agrárias*, 31(3), 707-716.

- Blank, R., & Wolfram, S. (2009). Effects of live yeast cell supplementation to high concentrate diets on the toxicokinetics of ochratoxin A in sheep. *Food additives and Contaminants*, 26(1), 119-126.
- Carreño-Venegas, A., Hurtado-Guerra, J. J., & Navas-Navas, M. C. (2014). Exposición a aflatoxina: un problema de salud pública. *Iatreia*, 27(1), 42-52.
- Comisión Guatemalteca de Normas. (2002). *Leche de vaca, pasteurizada, fresca, ultra alta temperatura (UHT) y esterilizada, homogeneizada. Especificaciones, NGO 34041*. Guatemala: Ministerio de Economía de Guatemala.
- Coppock, R., Christian, R., & Jacobsen, B. (2018) Micotoxyn. In R. Gupta, (Ed.). *Veterinary toxicology*. Oxford: Elsevier.
- Dogi, C., Armando, R., Ludueña, R., De Moreno, A., Rosa, C., Dalcero, A., & Cavaglieri, L. (2011). *Saccharomyces cerevisiae* strains retain their viability and aflatoxin B1 binding ability under gastrointestinal conditions and improve ruminal fermentation. *Food Add & Cont.* 28 (12): 1705–11. doi: 10.1080/19440049.2011.605771
- Espíndola-Figueroa, S. (2006). Micotoxinas y micotoxicosis en el ganado bovino lechero. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, (1).
- Eckard, S., Wettstein, F., Forrer, H. & Vogelgsang, S. (2011). Incidence of Fusarium species and mycotoxins in maize silage. *Toxins* 3 (8): 949–67. doi: 10.3390/toxins3080949.
- Er, B., Demirhan, B., & Yentür, G. (2014). Investigation of aflatoxin M1 levels in infant followon milks and infant formulas sold in the markets of Ankara, Turkey. *Journal Dairy Science*, 97, 3328-3331.
- Galvano, F., Galofaro, V., & Galvano, G. (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products: a worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59(10), 1079-1090.
- Gazzotti, T., Lugoboni, B., Zironi, E., Barbarossa, A., Serraino, A., & Pagliuca, G. (2009). Determination of fumonisin B1 in bovine milk by LC-MS/MS. *Food Control*, 20, 1171-1174.
- Gimeno, A., & Martins, M., (2011). *Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos* (3 ed.). Miami: Special nutrient INC.
- Gutiérrez, L. Z., & Zuñiga, J. J. (2016). Conceptos sobre inocuidad en la producción primaria de la leche. *Revista Ciencias Veterinarias*, 33(2), 51-66.
- Hassan, M., Fatemeh, R., & Kobra, B. (2010). Zearalenone is bioactivated in the river Buffalo (*Bubalus bubalis*): hepatic biotransformation. *Tropical Animal Health Production*, 42(6), 1229-1234.
- Instituto Nacional de Estadística. (2004). *IV Censo nacional agropecuario*. Guatemala: Autor.
- Landeros, P., Noa, M., López, Y., González, D. G., Noa, E., Real, M. ... Medina M. S. (2012). Niveles de aflatoxina m1 en leche cruda y pasteurizada comercializada en la zona metropolitana de Guadalajara, México. *Revista Salud Animal*, 34(1), 40-45.

- Londoño-Cifuentes, E. M., & Martínez-Miranda, M. M. (2017). Aflatoxinas en alimentos y exposición dietaria como factor de riesgo para el carcinoma hepatocelular. *Biosalud*, 16(1), 53-66.
- Malla-Bravo, A. C., & Saula-López, S. V. (2016). Determinación del metabolito tóxico aflatoxina M1 en leches cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada consumidas en la ciudad de Cuenca mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Tesis de Licenciatura). Escuela de bioquímica y farmacia, Facultad de ciencias químicas, facultad de Cuenca, Ecuador.
- Masoero, F., Gallo, A., Moschini, M., Piva, G., & Diaz, D. (2007). Carryover of aflatoxin from feed to milk in dairy cows with low or high somatic cell counts. *Animal*, 1(9), 1344-1350.
- Medina, Z., Castro, G., Salcedo, A., Silva, R. A., & Montiel, M. (2016). Detección de Aflatoxina M1 en muestra de leche cruda y pasteurizada en el ganado vacuno de Mene Mauroa. Región Occidente de Venezuela. *Revista de la Universidad del Zulia*, 5(12), 67-78.
- Morán, C. A., Kettunen, H., Yiannikouris, A., Ojanperä, S., Pennala, E., Helander, I. M., & Apajalahti, J. (2013). A dairy cow model to assess aflatoxin transmission from feed into milk—Evaluating efficacy of the mycotoxin binder Mycosorb®. *Journal of Applied Animal Nutrition*, 2.
- Nogaim, Q. A. (2014) Aflatoxins M1 and M2 in dairy products. *Journal of Applied Chemistry*, 2 (5)14-25
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2009). *Comité del Codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos*. Roma: Autor.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Organización Mundial para la Salud. (2006). *Que es el codex alimentarius*, 3 ed. Roma: Autor.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2003). *Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas*. Roma: Autor.
- Ortiz, C. (2009). Análisis de aflatoxina m1 en leche fresca de establos lecheros de Arequipa. *Revista de Investigación Veterinaria*, 20(1)139-141.
- Pérez, J., Gutiérrez, R., Vega, S., Díaz, G., Urbán, G., Coronado, M., & Escobar, A. (2008). Ocurrencia de aflatoxina M1 en leches cruda, ultrapasteurizada y orgánica producidas y comercializadas en el Altiplano Mexicano. *Revista de Salud animal*, 30(2), 103-109.
- Pérez-Flores, G. C., Moreno-Martínez, E., & Méndez-Albores, A. (2011). Effect of microwave heating during alkaline-cooking of aflatoxin contaminated maize. *Journal of Food Science*, 76(2), 48-52.
- Pinto-España, J.R. (2012). *Incidencia de aflatoxina M1 en leche fluida de vaca en los expendios del municipio de Esquipulas Chiquimula*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Centro Universitario de Oriente, Guatemala.
- Poapolathep, A., Sugita-konishi, Y., Phitsanu, T., Doi, K., & Kumagai, S. (2004). Placental and milk transmission of trichothecene mycotoxins, nivalenol and fusarenon X, in mice. *Toxicon*, 44(1), 111-113.

- Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M., & Piva, G. (2009). On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 984-991.
- Reyes-Velázquez, W., Martínez, P., Espinosa, V., Nathal, M., Palacios, L., & Rojo, F. (2009). Aflatoxinas totales en raciones de bovinos y AFM1 en leche cruda obtenida en establos del estado de Jalisco, México. *Técnica Pecuaria en México*, 47(2), 223-230.
- Reza, D., & Marjan, M. (2013). Aflatoxin M1 Contamination in Dairy Products. *Journal of Science and Today's World*, 2(5), 500-514.
- Garrido, N. S., Iha M. H., Santos O. M. & Duarte, F. R. (2003) Occurrence of aflatoxins M1 and M2 in milk commercialized in Ribeirão Preto-SP, Brasil. *Food Additives and Contaminants, London*, 20(1), 70-73.
- Rojo, F. W. (2014). Evaluación de adsorbentes para la reducción de aflatoxina M1 en leche de vacas alimentadas con dietas contaminadas artificialmente con AFB1. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5(1), 1-15.
- Rojo, F., Martínez, S. P., Espinoza, V. H., Nathal, M. A. De Lucas, E., & Reyes-Velázquez, W. P. (2014). Evaluación de adsorbentes para la reducción de aflatoxina M1 en leche de vacas alimentadas con dietas contaminadas artificialmente con AFB1. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5(1), 1-15.
- Shundo, L., de Almeida, A. P., Alaburda, J., Lamardo, L. C., Navas, S. A., Ruvieri, V., & Sabino, M. (2016). Ocorrência de aflatoxina M1 em amostras de leite bovino consumido em diferentes regiões do Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 75, 1-8.
- Smith, G. (2018). Slaframine. In R. Gupta, (Ed.) *Veterinary Toxicology*. Oxford: Elsevier
- Tompkin, R.B. (2002). *Microorganisms in food (Vol 7): Microbiological testing in food safety management*. In R. Tompkin, (Ed.) New York, USA: Elsevier
- Torres, O. R. (2013). *Determinación, Caracterización y evaluación de aflatoxinas que influyen en el retardo de talla para edad en niños de Guatemala*. (FODECYT No. 04-2012). Guatemala: Consejo nacional de Ciencia y Tecnología.
- Upadhaya, S., Park, M. & Jong, K. (2010). Mycotoxins and their biotransformation in the rumen. *Asian-Aust Journal Animal Science*. 23 (9): 1250-1260. doi: 10.5713/ajas.2010.r.06.
- Van Asselt, E., Azambuja, W., Kastelein, P., De Rijk, T., Stratakou, I. & Van Der Fels-Klerx, H. (2012). A Dutch field survey on fungal infection and mycotoxin concentrations in maize. *Food Add. Cont.* 29 (10), 1556-1565. doi: 10.1080/19440049.2012.689997.
- Vásquez-Santa, M. P. (2010). *Evaluación de aflotoxinas en suplementos para vacas lecheras en la Sabana de Bogota, y su relación con aflotoxina M1 en leche*. (Tesis de licenciatura), Universidad La Salle, Colombia.
- Vela-Morales, E. M. (2016). *Determinación de la presencia de aflatoxina m1 en leche cruda de vaca distribuida en un centro de acopio ubicado en la región de la costa sur de Guatemala 2015* (Tesis de licenciatura), Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala

20. Apéndice

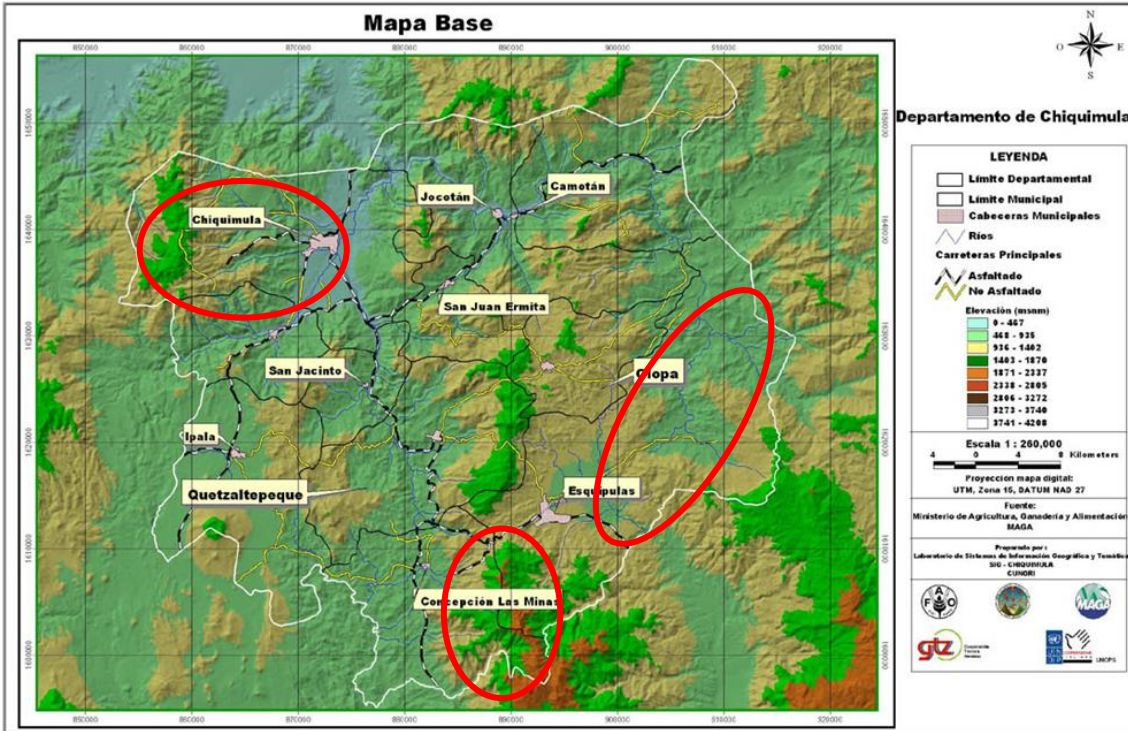


Figura 2

Mapa del departamento de Chiquimula y los municipios del muestreo (Esquipulas, Concepción las Minas y Chiquimula).

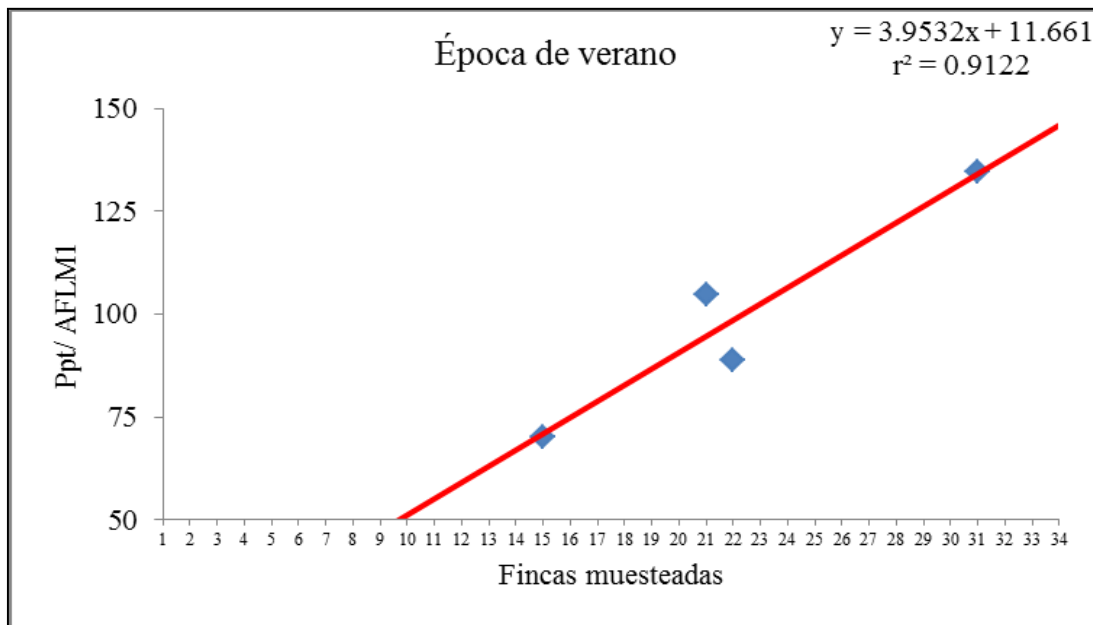


Figura 3

Tendencia a la presencia de AFM1 en leche arriba del LMR (50ppt) en la época de verano.

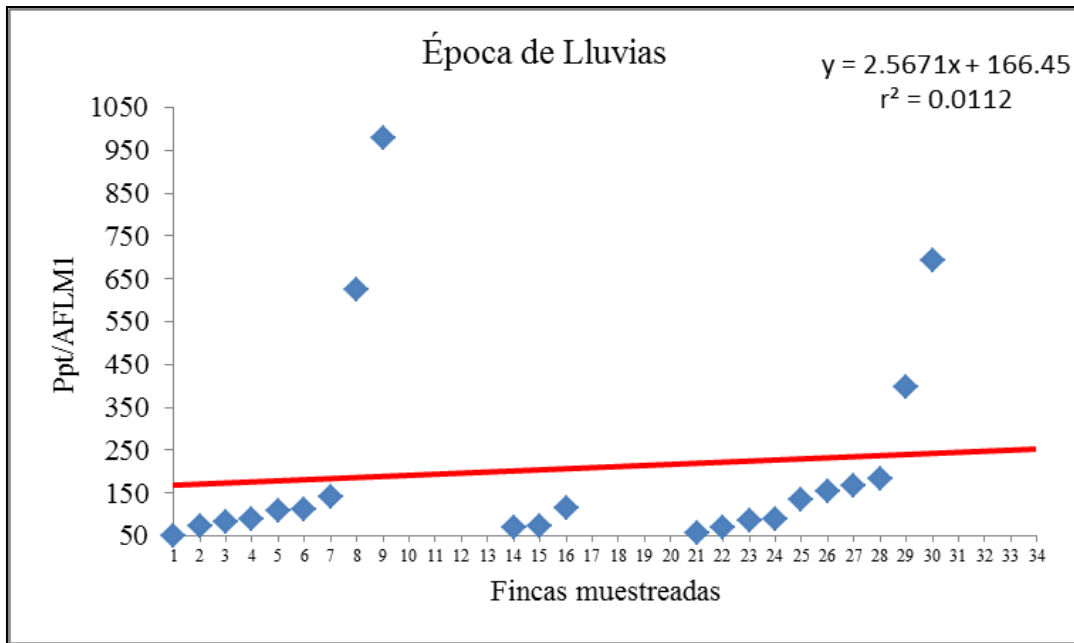


Figura 4

Tendencia a la presencia de AFM1 en leche arriba del LMR (50ppt) en la época de lluvias.

Listado de los integrantes del equipo de investigación

Contratados por contraparte y colaboradores

Nombre	Firma
Raúl Jáuregui Jiménez	

Contratados por la Dirección General de Investigación

Nombre	Categoría	Registro de Personal	Pago		Firma
			SI	NO	
Edgar Alan Celis Vielman	Investigador	20160133	X		

Guatemala 24 de enero 2020

Raúl Jáuregui Jiménez

Nombre y firma

Coordinador proyecto de Investigación

Liuba María Cabrera Ovalle

Nombre y firma

Coordinador Programa Universitario de Investigación

Julio Rufino Salazar

Nombre y firma

Coordinador general de programas Universitarios de Investigación