

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS.
DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS



DETERMINACIÓN DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN CON OCHRATOXINA "A" Y
CUANTIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS EN ALIMENTO BALANCEADO PARA
POLLO DE ENGORDA EN GRANJAS DE LA PERIFERIA DE GUADALAJARA.

TESIS PRESENTADA POR

MVZ. MARICELA MARTÍNEZ VIRGEN

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN ANIMAL

Director: M. en C. Margarita Hernández Gallardo
Asesor: DMV. Agustín Ramírez Álvarez.

Las Agujas, Nextipac, Mpio. de Zapopan, Jalisco.

Febrero de 1999.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FORMA: CIP-008

**II. COMISIÓN DE POSGRADO
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

PRESENTE.-

Por este conducto nos permitimos enviar a ustedes la **VERSIÓN FINAL** de la **TESIS** desarrollada por: M.V.Z. MARICELA MARTINEZ VIRGEN. cuyo título es:
DETERMINACION DEL GRADO DE CONTAMINACION CON OCRATOXINA "A" Y CUANTIFICACION DE HONGOS EN ALIMENTO BALANCEADO PARA POLLO DE ENGORDA EN GRANJAS DE LA PERIFERIE DE GUADALAJARA.

Los que suscriben la presente avalan esta versión de la tesis, la cual fue revisada en forma colegiada y reúne los requisitos metodologicos necesarios.

ATENTAMENTE

"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Nextipac, Mpio. de Zapopan, Jal., _____ de _____, 199__

REVISOR

DR. EFRAIN PEREZ TORRES

REVISOR

M.C. ALBERTO CASILLAS BENITEZ

REVISOR

M.C. LOURDES ISAAC VIRGEN

M.C. PEDRO M. GARCIA LOPEZ.

M.C. ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS

COORDINACIÓN DE POSGRADO

DR. MARCELINO VAZQUEZ GARCIA
COORDINADOR DE POSGRADO DEL CENTRO UNIVERSITARIO
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
P R E S E N T E .

Por éste conducto se hace constar que la pasante **C. MARICELA MARTINEZ VIRGEN** ha cumplido con los requisitos académicos establecidos por el dictamen del POSGRADO EN NUTRICIÓN ANIMAL para presentar su tesis, la cual se titula:

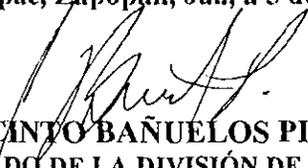
“DETERMINACION DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN CON OCHRÁTOXINA “A” Y CUANTIFICACION E IDENTIFICACION DE HONGOS EN ALIMENTO BALANCEADO PARA POLLO DE ENGORDA EN GRANJAS DE GUADALAJARA”

Por lo tanto se le solicita sean expedidos los oficios correspondientes para que el Exámen de Tesis se realice el día 04 de Febrero de 1999 a las 12:00 horas en la Sala de Eventos Académicos de la División de Ciencias Veterinarias, contando con para ello con el siguiente jurado:

PRESIDENTE:	Dra. IRMA ELIZONDO ESPINOZA
SECRETARIO	Dr. AGUSTIN RAMIREZ ALVAREZ
VOCAL:	M. en C. Ma. De LOURDES ISAAC VIRGEN
VOCAL:	M. en C. DELIA GUILLERMINA GONZALEZ AGUILAR
VOCAL:	M. en C. ALBERTO CASILLAS BENITEZ

Sin otro particular y agradeciendo de antemano su valioso apoyo, me despido no sin antes enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., a 5 de Enero de 1999.


DR. JACINTO BAÑUELOS PINEDA
COORDINADOR DE POSGRADO DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS

c.c.p. El Director de la Div. de Cs. Vet. MVZ Fabian Uviña Luna.
c.c.p. El Secretario de la Div. de Cs. Vet. MVZ Francisco J. Lagos Navarrete.
c.c.p. Archivo de la Coordinación de Posgrado de la Div. de Cs. Vet.

AGRADECIMIENTOS

A ti Ricardo

Ricardo, Mariana y Alejandro

Por su amor y apoyo

- A.P.R.M. y Anita.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Para todos aquellos que me dieron su apoyo en todo momento.

A mi director y asesor de tesis.

A Margarete, Gaby y Carlos Alejandro.

Por su paciencia y apoyo para la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN-----	X
INTRODUCCIÓN-----	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA-----	5
JUSTIFICACIÓN-----	6
HIPÓTESIS-----	8
OBJETIVOS-----	9
MATERIALES Y MÉTODOS-----	10
RESULTADOS-----	23
DISCUSIÓN-----	29
CONCLUSIONES-----	33
BIBLIOGRAFIA-----	34



RESUMEN

BIBLIOTECA CENTRAL

La contaminación por hongos es muy común en México las ocratoxinas son metabolitos de los hongos como *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium viridicatum* que pueden estar presentes en diversos productos agrícolas, así como en los tejidos de los animales consumidores de productos contaminados, representando un problema de salud.

El presente estudio se realizó para determinar los agentes causales de dicha contaminación, realizar investigación que proporcione información de la región a las organizaciones de productores de aves.

Para la realización de este trabajo, se tomaron 90 muestras al azar de alimento para pollo de engorda de diferentes granjas de pollo de engorda, en la periferia de la ciudad de Guadalajara Jal.

Con el fin de determinar el grado de contaminación con ocratoxina "A" así como la cuantificación e identificación de hongos en el alimento balanceado, se utilizó la técnica de vaciado en placa y cromatografía de capa fina.

Dentro de los resultados se observó el grado de humedad variada del 8 al 13.4%, del 100% de la muestras se obtuvo recuentos de unidades formadoras de colonias; altos 3.3%, moderados 41.1%, y bajos 55.6%. Se identificaron los géneros *Aspergillus spp* 13.95%, *Penicillium spp* 8.99%, *Fusarium spp* 10.89%, *Epicoccum spp* 5.43%, *Viridicatum spp* 5.67%, *Absidia spp* 8.05%, *Diplodia spp* 5.43%, *Rhizopus spp* 5.67%, *Phoma spp* 6.14%, *Alternaria spp* 8.05%, *Mucor spp* 8.98%, *Trichoderma spp* 6.14%, *Cladosporium spp* 5.91%, y *Paecilomyces spp* .71%.

Los resultados de prevalencia y grado de contaminación de hongos encontrados, en las muestras fueron con ocratoxina "A" en un 17% se concluye que el alimento se encontró contaminado por hongos así como con ocratoxina "A".

Es importante realizar más investigación para determinar la prevalencia y efecto de estos contaminantes y sus efectos de salud animal especialmente en salud pública.



INTRODUCCION

BIBLIOTECA CENTRAL

El hombre utiliza como principal componente de su alimentación a los granos, y sus derivados. En los países en vías de desarrollo aproximadamente un 85% de la alimentación del hombre depende de los productos agrícolas y en países desarrollados el 40%. Se considera que la dieta del hombre, a nivel mundial, esta constituida en un 70% por productos vegetales, principalmente granos, y en un 30% de productos de origen animal. Los alimentos de origen pecuario son producidos en gran parte con granos y concentrados proteicos que provienen del proceso de extracción de aceites de a soya, girasol, ajonjolí, cartamo y algodón. Los granos en forma directa o indirecta, constituyen la fuente principal de energía en la alimentación del hombre y de los animales (17,29,38).

Las materias primas para la alimentación animal son portadores naturales de bacterias, levaduras y hongos. Después de los esfuerzos realizados para superar estos problemas, se deteriora su calidad nutricional y sanitaria por la acción de factores físicos y bióticos, que son favorecidos por la carencia de infraestructura adecuada para el almacenamiento y conservación (12,24,29,36).

Las pérdidas cualitativas y cuantitativas que sufren los granos, semillas, frutas y verduras por insectos, roedores, pájaros y hongos inciden en los almacenes. En el caso de los

insectos y hongos, el principal factor que favorece su desarrollo es la humedad y la temperatura (11,31).

Sin embargo, en algunas zonas agrícolas los granos se cosechan con alto contenido de humedad, sufriendo un rápido deterioro. Por otra parte, el grano seco almacenado en lugares húmedos igualmente favorece la proliferación de hongos de almacén. Es aquí donde se encuentran los nutrimentos para cubrir las necesidades de los hongos y acelerar su crecimiento y multiplicación (11,30).

Además durante la cosecha, y el manejo, hasta su destino final los granos están expuestos a sufrir daños físicos que generan fuertes pérdidas. El grano quebrado favorece la actividad de los hongos quienes constituyen una de las causas de pérdida de viabilidad y volumen de la calidad nutritiva y sanitaria de los granos que se consumen (10,36).

En los granos cereales y frutas se encuentran variedad de géneros y especies de hongos toxigénicos, responsables importantes del deterioro de estos que pueden producir una o más micotoxinas (4,26,43).

La contaminación por hongos en graneros y silos se lleva a cabo principalmente por los géneros *Aspergillus* y algunos *Penicillium*, es ahí donde encuentran las condiciones favorables para su desarrollo y donde sus esporas permanecen viables de ciclo a ciclo. Las características principales de estos hongos es su habilidad de crecer y producir

sustancias tóxicas bajo condiciones de humedad relativa de 75 al 85%, temperatura de 12 a 37°C, oxígeno, dióxido de carbono y tiempo por 3 a 5 días (1,3,24,32).

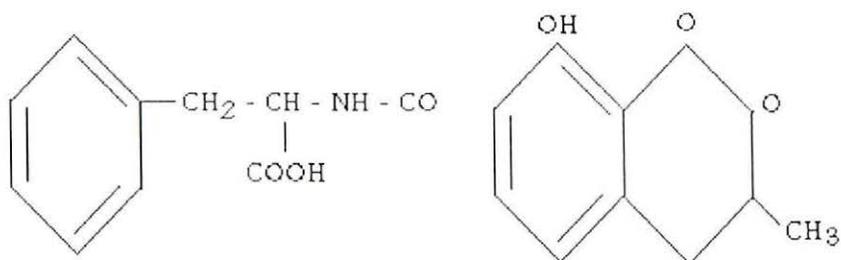
A estas sustancias tóxicas se le conoce con el nombre de micotoxinas que son un grupo muy variado de sustancias químicas-tóxicas elaboradas por hongos toxigénicos, Los cuales al crecer en alimentos que contienen substratos específicos para su crecimiento de ellos y además las condiciones de humedad, temperatura del ambiente favorable (44,47).

.. Una vez producidas las micotoxinas son compuestos muy estables, termoresistentes, que provocan cambios patológicos en seres humanos y animales. Uno de estos compuestos tóxicos es la ochratoxina , comúnmente producido por especies de hongos del genero, *Penicillium viridicatum* y *Aspergillus ochraceus*, hongos ampliamente distribuidos en la naturaleza. La cantidad de ochratoxina producida por el de hongo dependerá de los factores; actividad del agua, temperatura, tipo de substrato, presencia de microflora competitiva, cepa del hongo e integridad de la semilla.(3,7,18,28).

Se han identificado cuatro tipos de ochratoxinas, A, B, C y D, de estas cuatro la ochratoxina “A”, es la más frecuente en la naturaleza y tres veces más tóxica que las aflatoxinas, por tal motivo se considera importante como contaminante de las materias primas y alimento terminal para pollo de engorda (4,13,21,42).

La ochratoxina “A” ($C^{20}H^{18}ClNO^6$) es un compuesto cristalino, incoloro, con un peso molecular aproximadamente 404, su punto de fusión cristalizado en benceno es de 94-

96°C, cuando se cristaliza con xileno es de 169°C, presenta una fluorescencia azul verdoso con luz ultravioleta en placas de cromatografía de capa fina de gel de sílice, cuando es expuesta a gases de amoníaco, la fluorescencia cambia azul intenso. Su RF 0.7 en tolueno + acetato de etilo 90% + ácido fórmico (6:3:1) tiene una absorción de luz ultravioleta máxima 215 y 334 nm (8,42,45).

CUCBA**BIBLIOTECA CENTRAL****OCHRATOXINA "A".**



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

BIBLIOTECA CENTRAL

La avicultura intensiva requiere de alimentos balanceados, en la alimentación se proporcionan los nutrimentos indispensables para el desarrollo pero, al mismo tiempo se pueden incluir compuestos tóxicos de microorganismos no deseables para la salud y producción.

Sin embargo el poco control (de humedad y temperatura) que se tiene en los almacenes de materias primas y alimentos balanceados, permite que los hongos proliferen y que produzcan las sustancias tóxicas y así estas son introducidas a los animales.

Entre los microorganismos que se pueden encontrar en el alimento balanceado para pollo de engorda se pueden localizar los hongos productores de la ochratoxina "A", siendo esta una toxina de suma importancia por los efectos que producen en los pollos y a la vez por la acumulación en los tejidos y huevo, formando con esto un serio problema de Salud Publica.

El determinar el grado de contaminación con ochratoxina "A" permite buscar alternativas de manejo y almacenamiento libre de sustancias tóxicas.



JUSTIFICACIÓN

BIBLIOTECA CENTRAL

Las micotoxinas son sustancias tóxicas producidas en el metabolismo de los hongos que aparecen como contaminantes naturales en los alimentos cuando las condiciones climatológicas son propicias, teniendo en cuenta la presencia de la ochratoxina “A” , como contaminante, en el alimento para pollo de engorda es conocido que esta es uno de los principales problemas que causan pérdidas económicas donde la avicultura se desarrolla. Estas pérdidas son debidas a disminución en los rendimientos productivos, efectos negativos sobre el sistema inmunológico del animal y un incremento en la morbilidad y mortalidad de las parvadas. La contaminación de granos y alimento es virtualmente inevitable, pero puede ser controlada.

La ochratoxina “A” produce retraso del crecimiento en aves jóvenes, aunque la ingestión de niveles altos es capaz de producir la muerte en 24 horas la única manera de evitar la ochratoxicosis es impidiendo la ingestión de niveles tóxicos.

Es responsabilidad de las industrias avícolas el incrementar y mejorar las técnicas de manejo para reducir el crecimiento de hongos y la subsecuente formación de ochratoxina “A”. La ingestión de esta micotoxina causa variada sintomatología en animales, principalmente es nefrotóxica. Los efectos de esta en humanos están determinados, por el consumo de alimento con esta toxina.

Por esta razón se hace necesario llevar a cabo investigaciones con el propósito de conocer la calidad de alimentos que son proporcionados a las aves y poder controlar la contaminación.

La micotoxicosis es uno de los padecimientos que esta causando más estragos en la industria agropecuaria, especialmente en aves y cerdos, tanto a nivel nacional como mundial, aumentando el costo de producción .En países con escasa tecnología, la contaminación de alimentos durante el almacenaje, es mas frecuente llegando a ser hasta del 30%.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

HIPÓTESIS

Si se presentan las condiciones climatológicas de humedad y temperatura adecuadas aunadas a un manejo inadecuado del alimento balanceado, exclusivas para la proliferación de la flora micológica, los alimentos podrán presentar altos porcentajes de contaminación fungica y por micotoxinas, en el consiguiente un elemento de riesgo para su consumo.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

OBJETIVOS

Determinar el grado de contaminación con ochratoxina "A", así como la identificación y cuantificación de hongos en el alimento balanceado para pollo de engorda.

PARTICULARES:

1. Determinar la correlación entre presencia de hongos y humedad del alimento para pollo de engorda .
2. Determinar la carga fúngica del alimento mediante recuento de unidades formadoras de colonias (U.F.C./g).
3. . Identificar las especies fúngicas más frecuentes en alimento balanceado, mediante la técnica de vaciado en placa.
4. Cuantificación de ochratoxina "A" en alimento balanceado para pollo de engorda .

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevo a cabo en el área de micotoxicología del Departamento de Salud Publica de la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.

Se recolectaron 90 muestras de alimento balanceado en granjas para pollo de engorda, en la periferia de la ciudad de Guadalajara. Estas se obtuvieron de comederos, almacenamiento y tolvas de las etapas de iniciación, desarrollo y finalización.

Se utilizó un muestreador de grano para recolectar el alimento y depositarlo en mantas para su homogenización, obteniendo muestras compuestas de aproximadamente 2 kg. se depositaron en bolsas de papel previamente identificadas y se transportaron al área de micotoxicología para la siguientes determinaciones;

1. Determinación de humedad. (Diagrama 1).
2. Cuantificación e identificación de hongos por la técnica de vaciado en placa.(Diagrama 2).
3. Determinación cualitativa y cuantitativa de Ochratoxina "A" por la técnica de cromatografía de capa fina.(Diagrama 3).

Los criterios que se utilizaron para la identificación de hongos productores de micotoxinas se basaron en la observación y comparación de los cultivos microscópicos y macroscópicos.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

DIAGRAMA No. 1

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

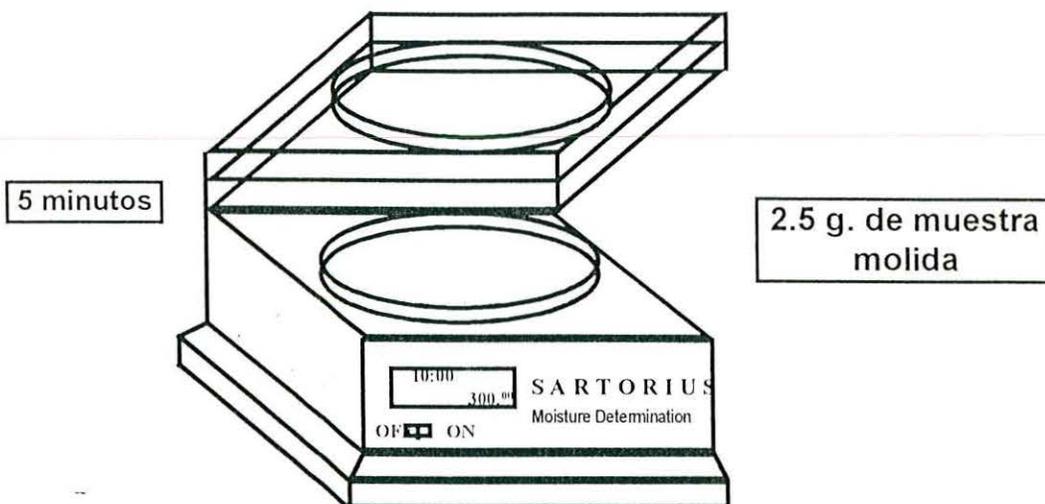
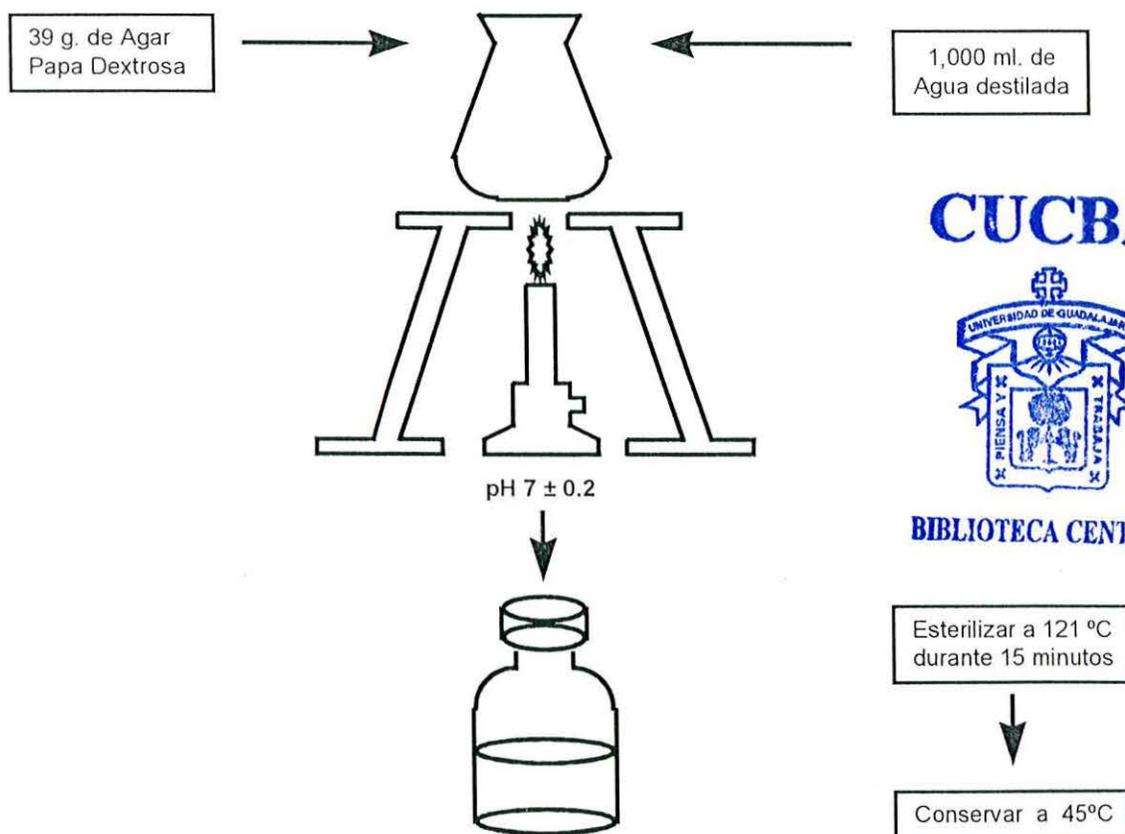


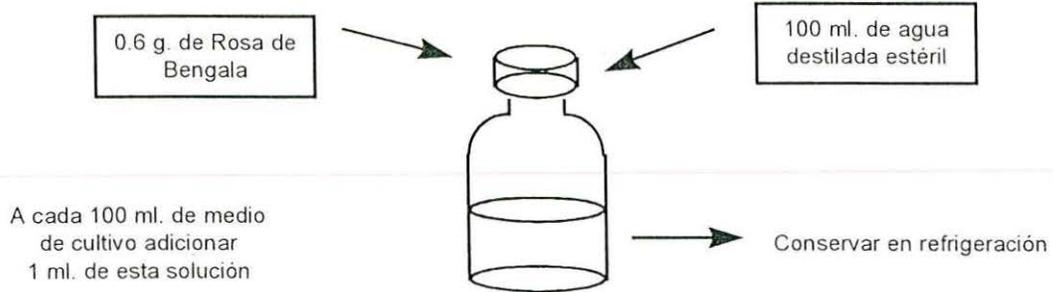
DIAGRAMA No. 2

CUANTIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS POR LA TÉCNICA DE VACIADO EN PLACA.

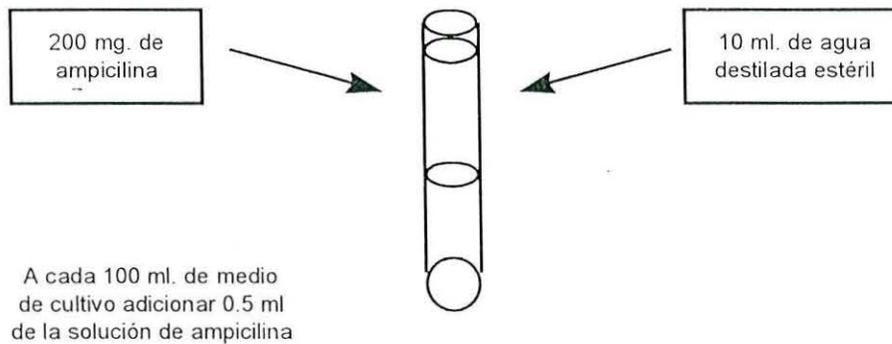
PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO



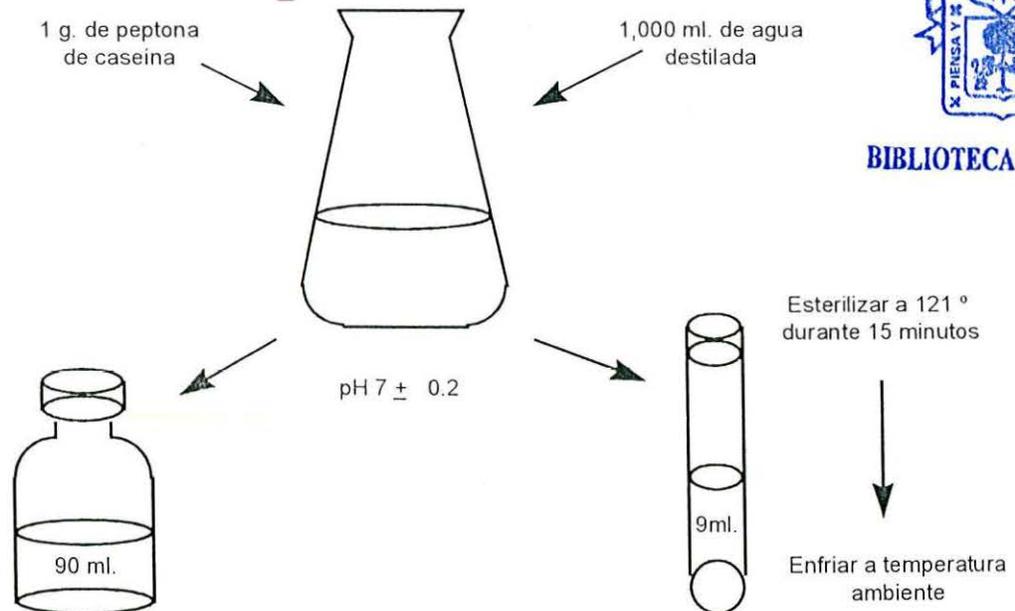
PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE ROSA DE BENGALA



PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE AMPICILINA



PREPARACIÓN DEL DILUYENTE DE PEPTONA

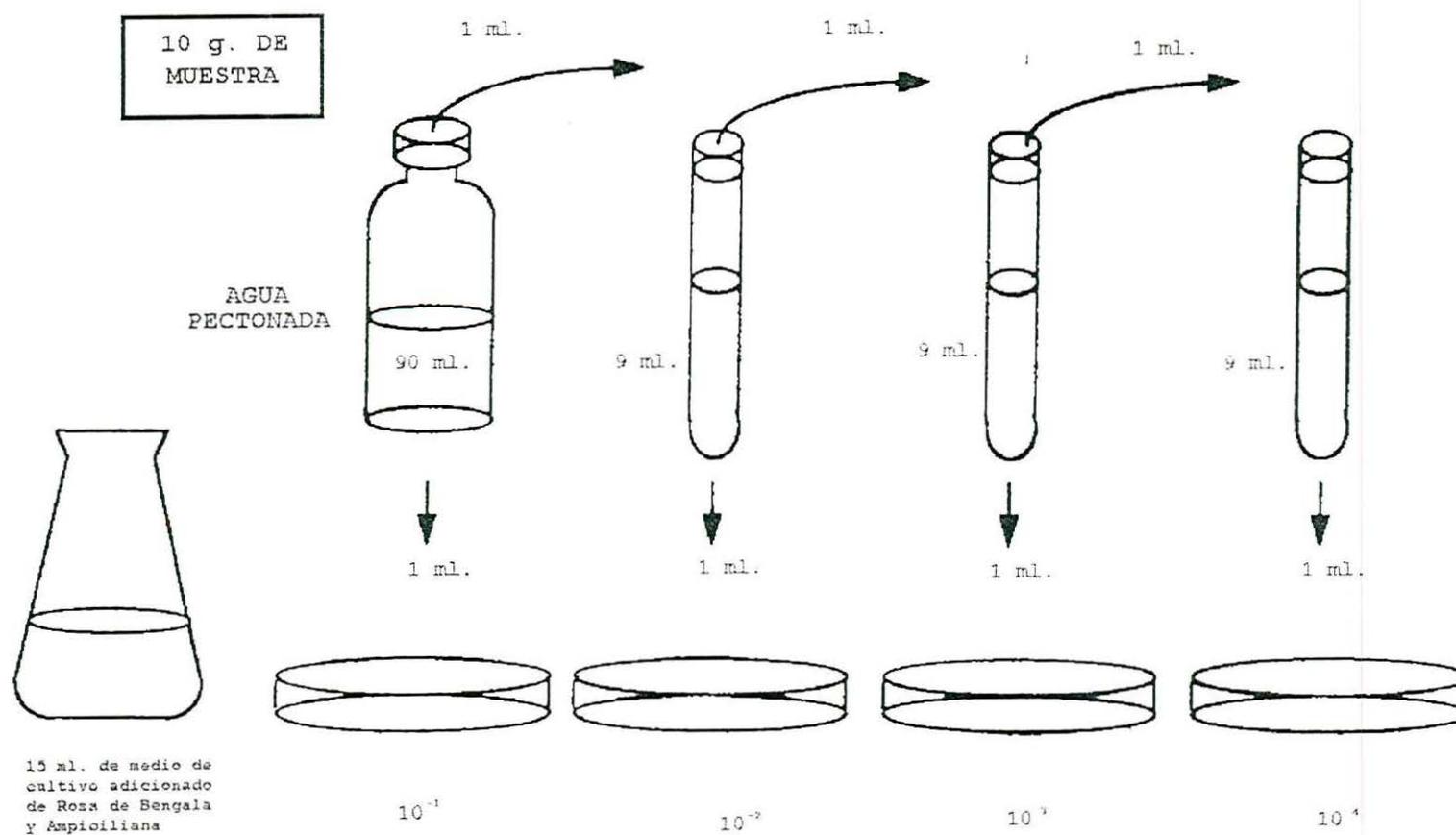


CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

RECUENTO DE HONGOS POR LA TÉCNICA DE VACIADO EN PLACA



Incubar de 3 a 5 días a 20°C

BIBLIOTECA CENTRAL

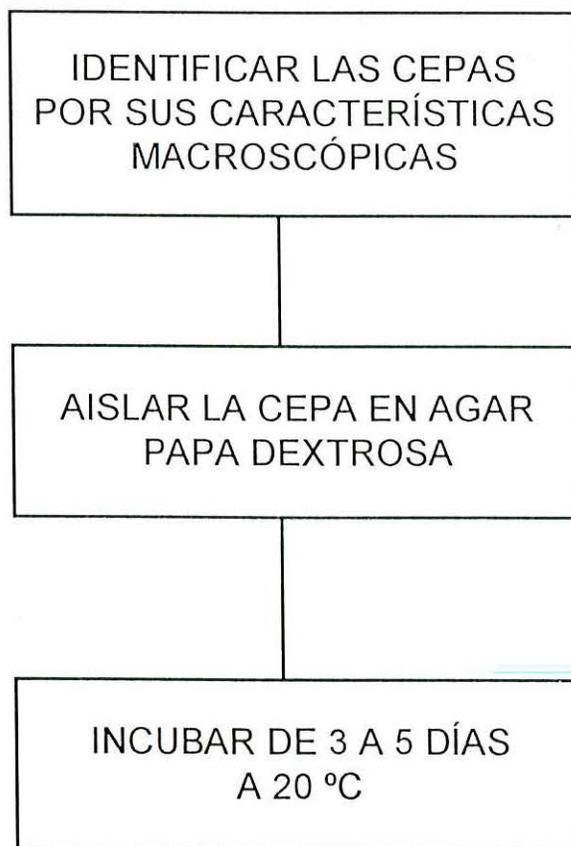


CUICBA

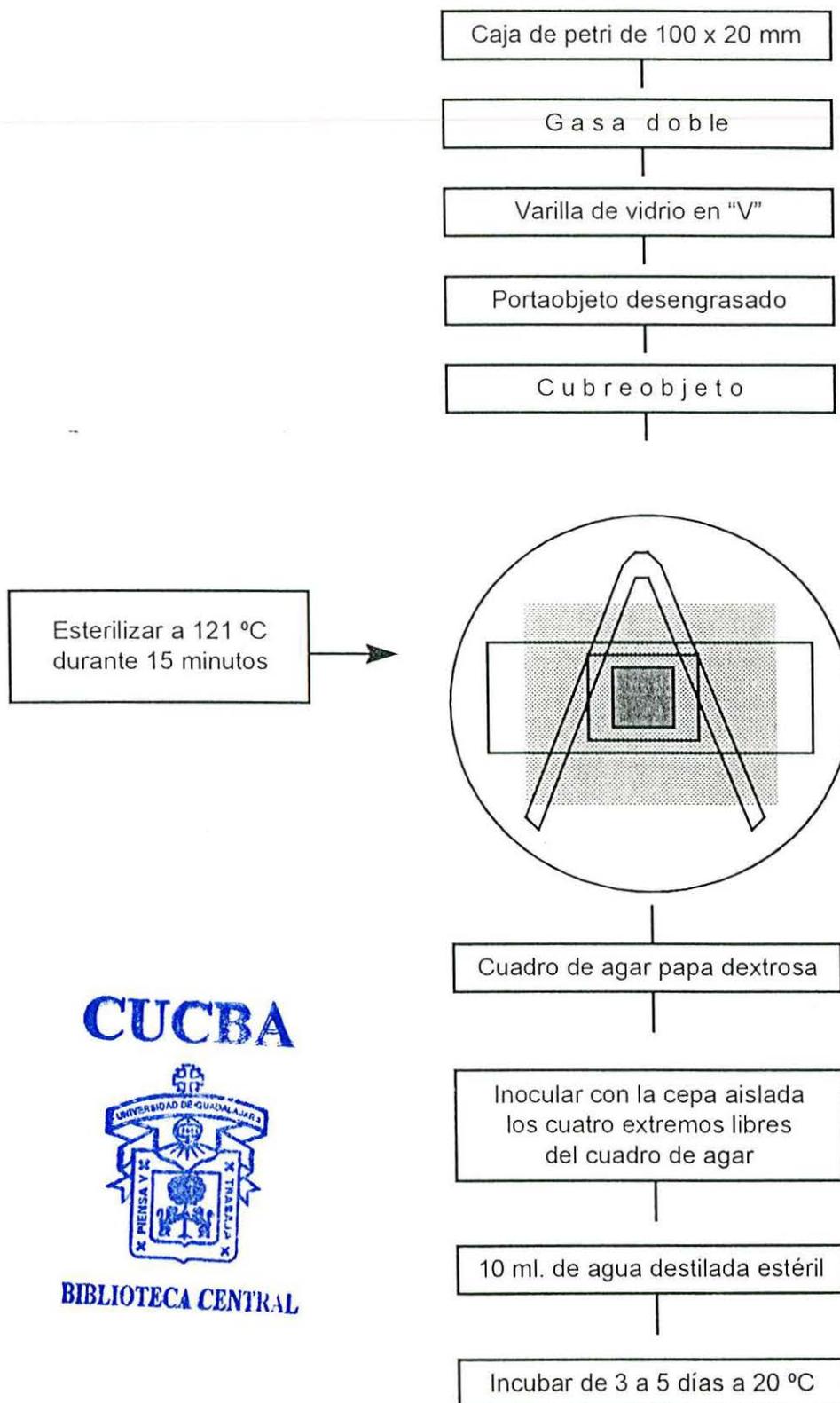
INTERPRETACIÓN DE RECUENTOS DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

$10^2 - 10^3$	→	RECUENTOS BAJOS
$10^4 - 10^5$	→	RECUENTOS MODERADOS
$10^6 - 10^7$	→	RECUENTOS ALTOS

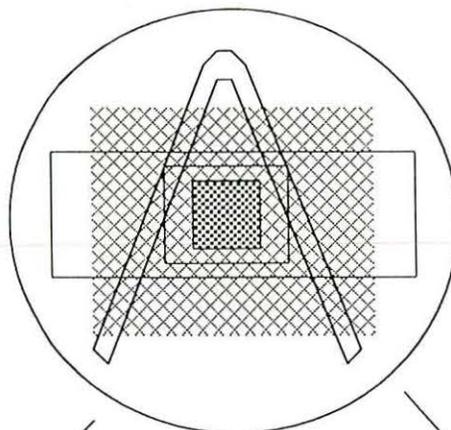
AISLAMIENTO



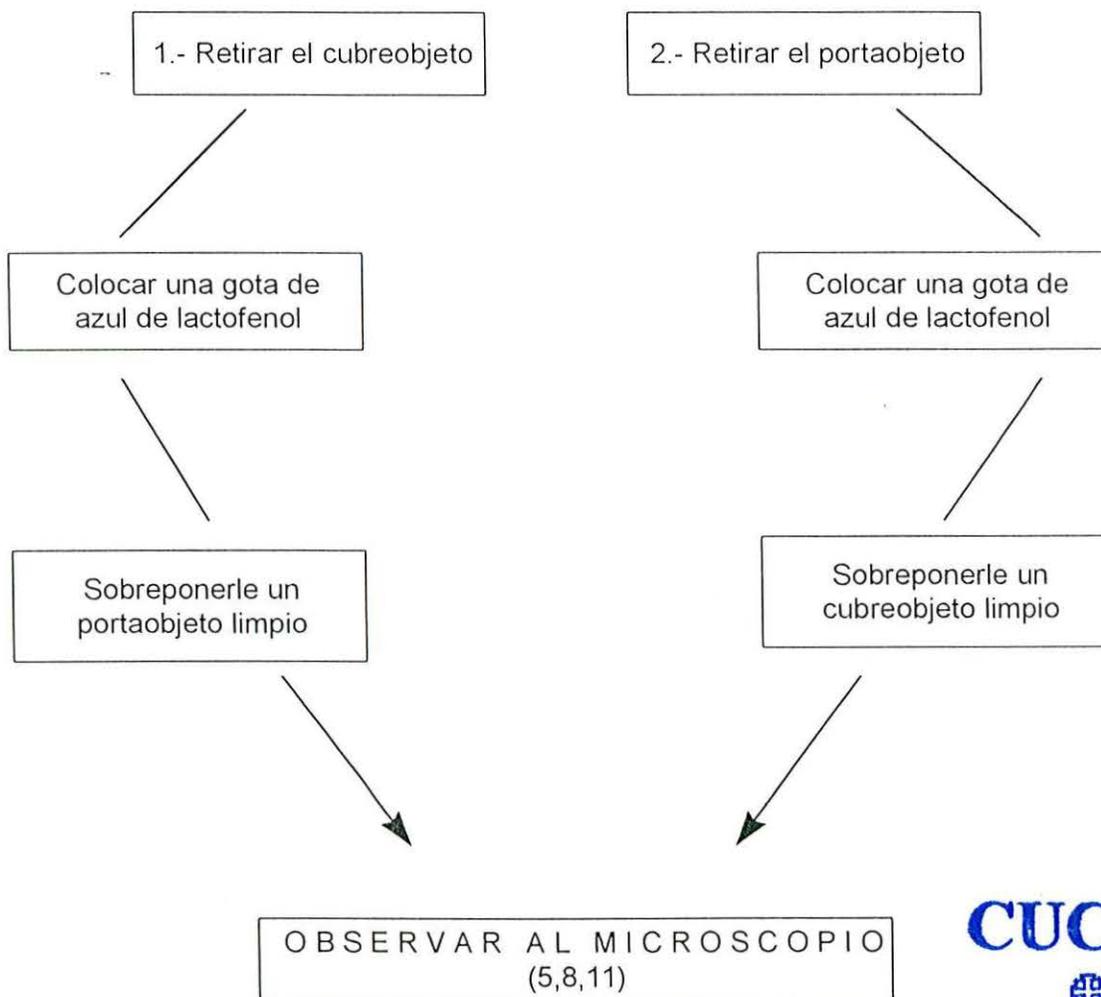
MICROCULTIVO



TINCIÓN



Desechar el agar



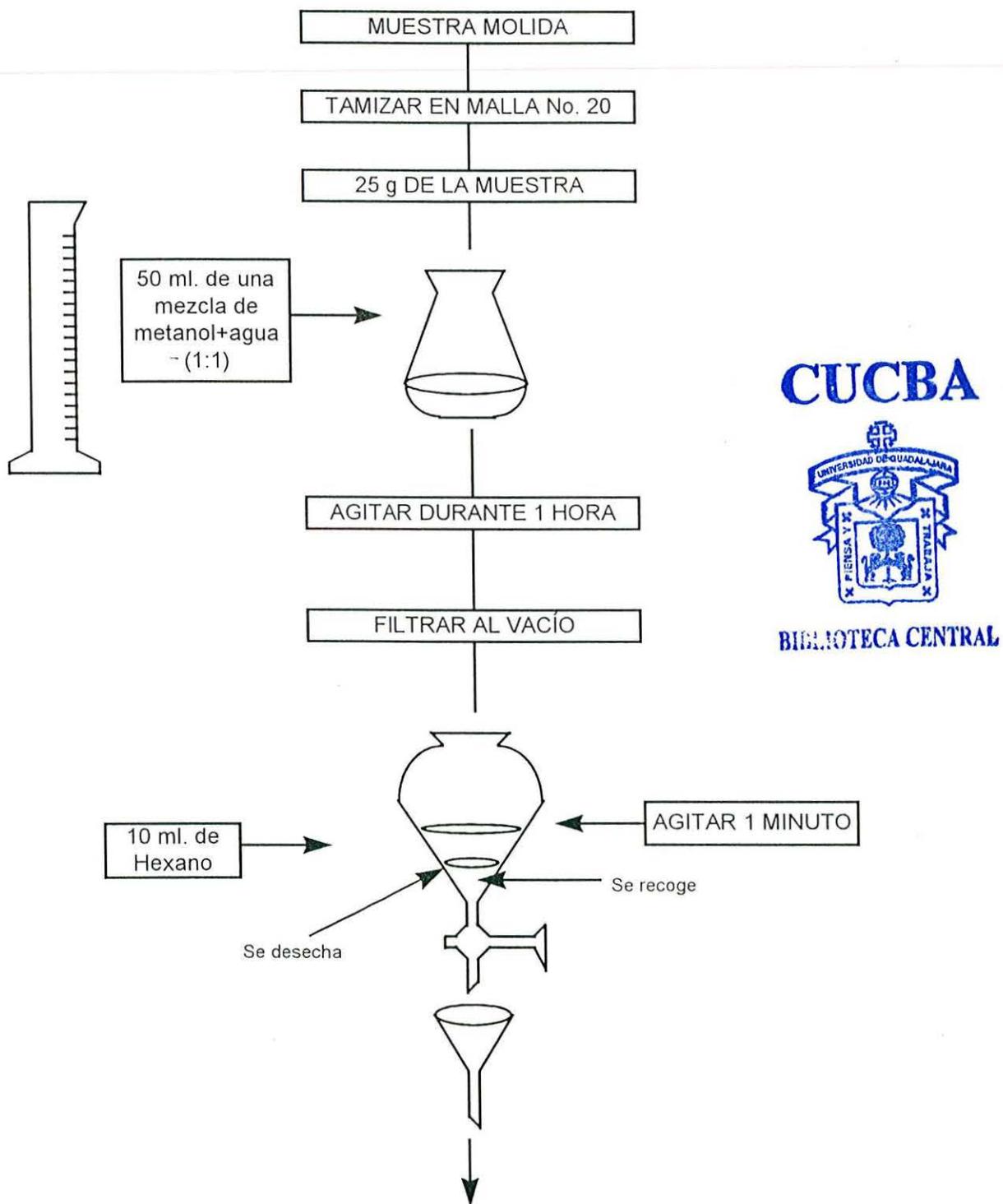
CUCBA

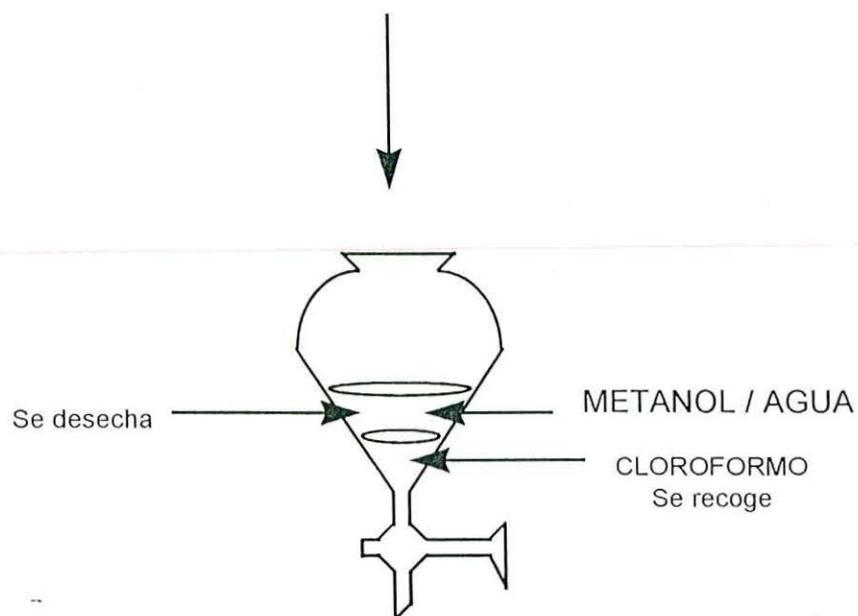


BIBLIOTECA CENTRAL

DIAGRAMA No. 3

DETERMINACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE OCHRATOXINA "A"





FILTRAR POR SULFATO DE SODIO ANHIDRO

EVAPORAR A SEQUEDAD

REDISOLVER EN 2 ml. DE CH-Cl_3

CONSERVAR A $-20\text{ }^\circ\text{C}$
HASTA SU ANÁLISIS

CUCBA



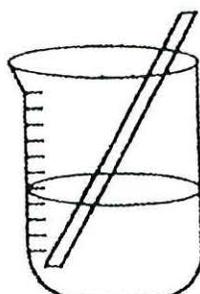
BIBLIOTECA CENTRAL

DETERMINACIÓN

PREPARACIÓN DE CROMATOPLACAS

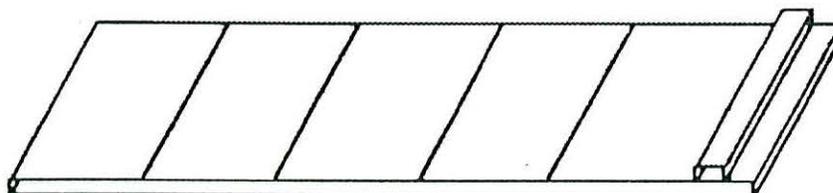
30 g. de Sílica gel

66 ml. de Agua Destilada



agitar

aplicación en placas de cristal 20 x 20 x 0.3 mm.



dejar a temperatura ambiente durante 30 minutos

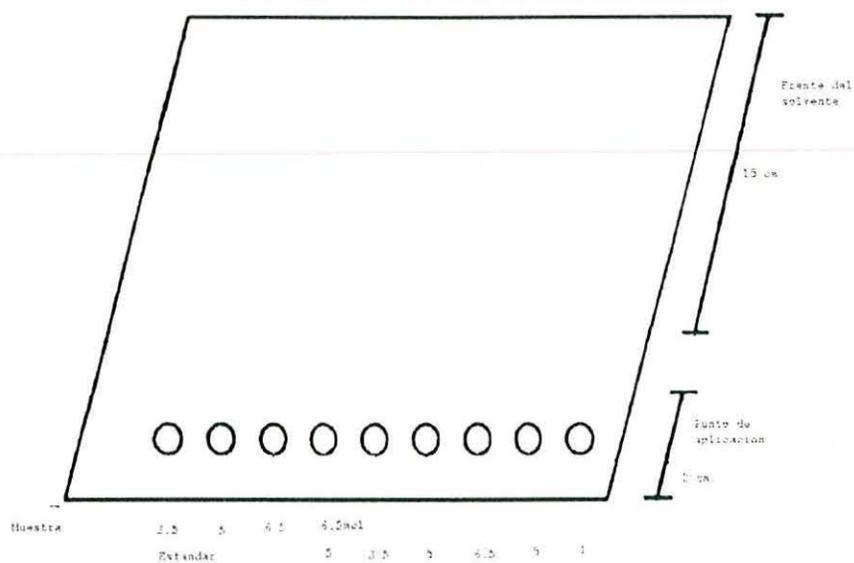
activar en horno a 110 °C durante 60 minutos

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

APLICACIÓN DEL EXTRACTO Y ESTANDAR A LA CROMATOPLACA

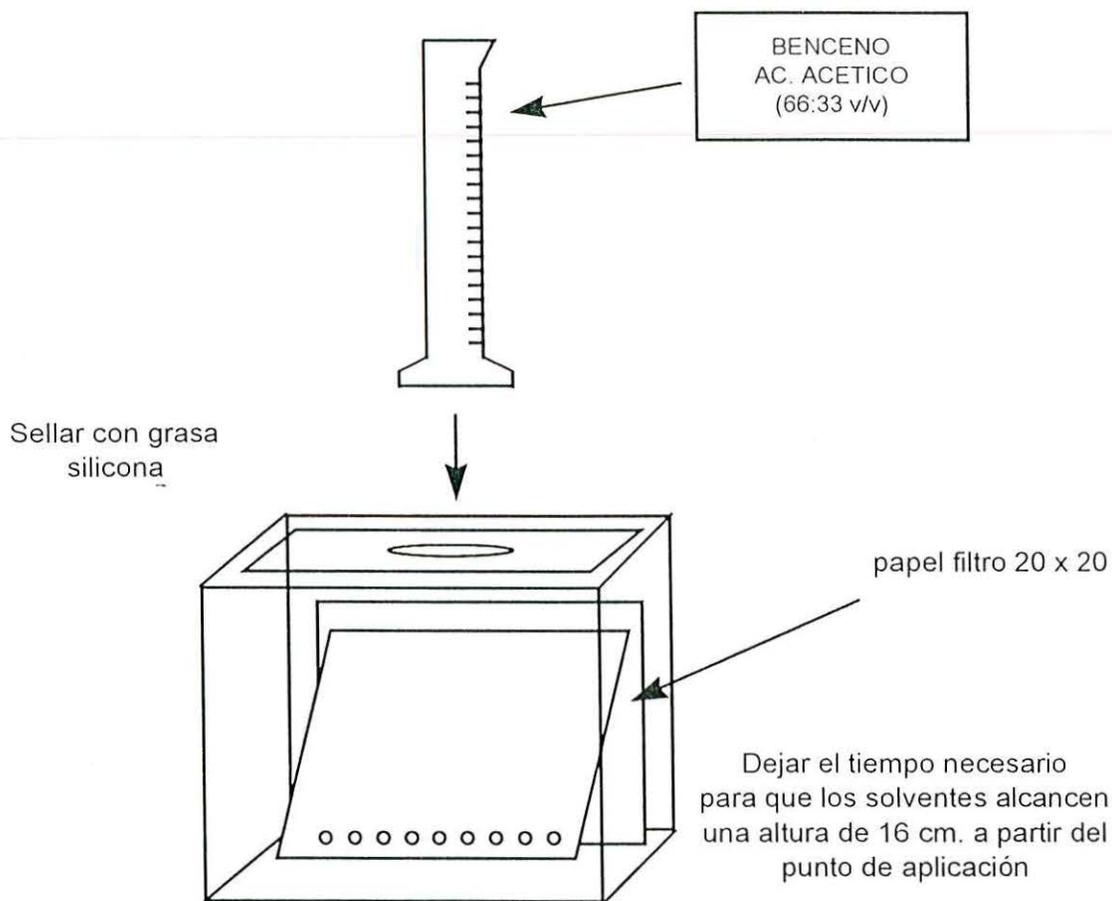


CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

DESARROLLO DE LA CROMATOPLACA



Retirar la cromatoplaqa y dejar
secar a temperatura ambiente

Observar a la luz ultravioleta
para comprobar fluorescencia de
la muestra contra el estándar

Determinar R_f de la muestra contra
el R_f del estándar
mediante la fórmula

$$R_f = \frac{\text{Frente del soluto}}{\text{Frente del estándar}} \quad (7,9,30 \text{ y } 31)$$

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

RESULTADOS

El porcentaje de humedad en el alimento balanceado para pollo de engorda mostró un rango de 8 al 13.4% y se observó que la humedad en la cual se presentaron mayor número de géneros de hongos fue el de 13.4% (cuadro 1).

En el 100% de las muestras procesadas se obtuvieron recuentos de unidades formadoras de colonias de la siguiente manera; Altos (10^6 - 10^7 UFC/g) 3.3%, Moderados (10^4 - 10^5 UFC/g) 41.1%, y Bajos (10^2 - 10^3 UFC/g) 55.6% (Gráfica 1).

Se aislaron 423 cepas correspondiendo a las siguientes géneros; *Aspergillus spp* 13.95%, *Penicillium spp* 8.99%, *Fusarium spp* 10.89%, *Epicoccum spp* 5.43%. *Vorticillium spp* 5.67%, *Absidia spp* 8.05%, *Diplodia spp* 5.43%, *Rhizopus spp* 5.67%, *Phoma spp* 6.14%, *Alternaria spp* 8.05%, *Mucor spp* 8.98%, *Trichoderma spp* 6.14%, *Cladosporium spp* 5.91%, y *Paecilomyces spp* .71% (Gráfica 2).

De las 90 muestras del alimento balanceado para pollo de engorda el 17% presentaron ochratoxina "A" (Gráfica 3). La concentración de ochratoxina "A" que se presentaron de esta micotoxina fue de 16 ppb a 125 ppb (Gráfica 4).

CUCBA



TECNOLOGÍA CENTRAL

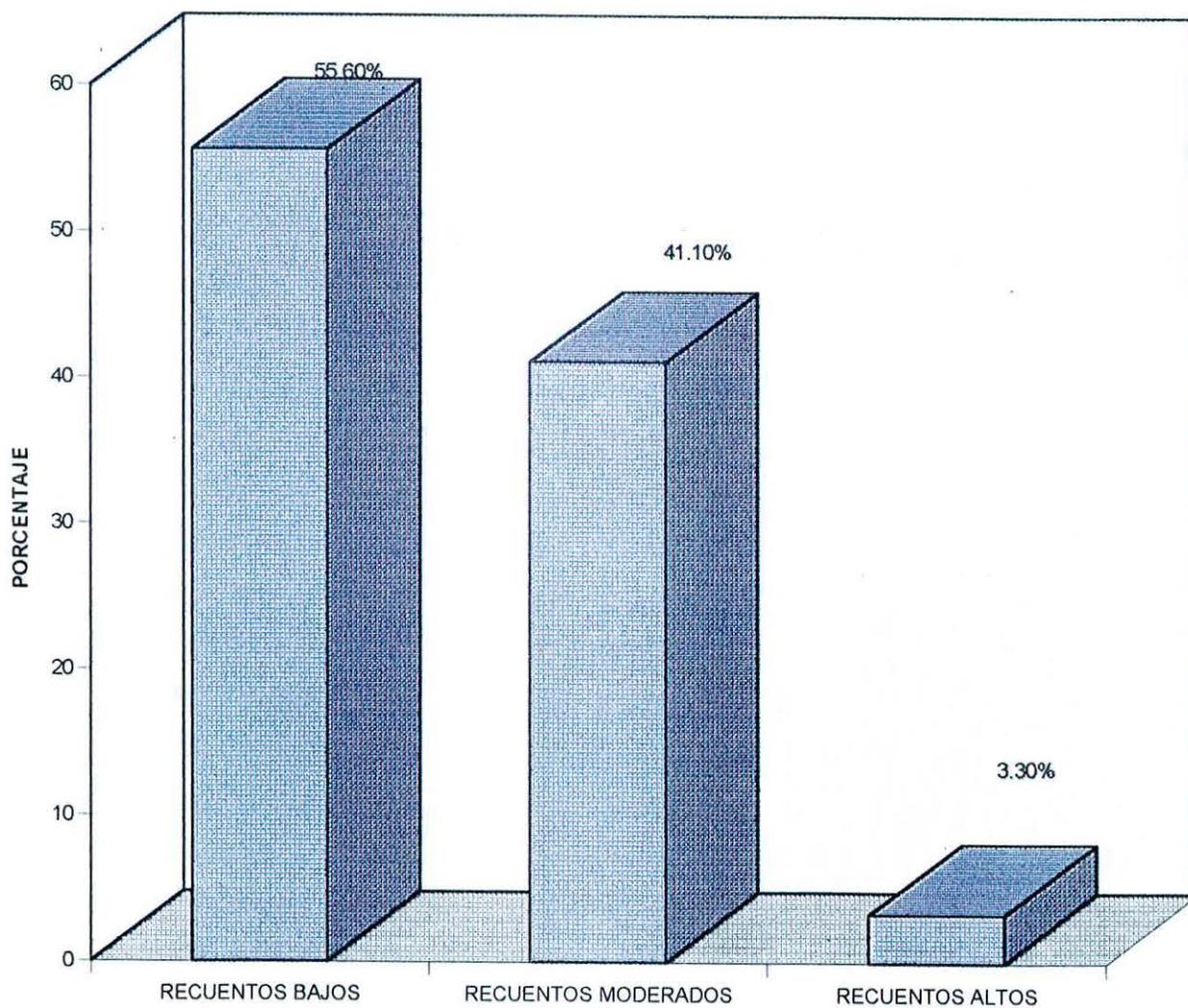
CUADRO 1. Humedad Relacionada con Géneros de Hongos Encontrados en el Alimento para Pollo de Engorda

Humedad (%)

GENEROS	8	8.9	9	9.3	9.6	9.8	10	10.1	10.2	10.3	10.5	11	11.1	11.2	11.3	12	12.5	13.4
<i>Penicillium spp</i>	3	5	3	2	1	1	2		2		2	2	4	1	2	1	3	4
<i>Fusarium spp</i>	2	3	2	3	1	2	6	1	1	1	1	2	4	2	4	2	6	3
<i>Epicoccum spp</i>		1		2	2			1				3	1	2	2	1	3	5
<i>Viridicatum spp</i>		2	2		2			1	1	1		3		3	3	2	2	1
<i>Absidia spp</i>	1		2	1	1	2	1	1	2		2	3	3	3	1	2	3	6
<i>Diplodia spp</i>	2	2	1		1	1	1		2	1	1	2	1	1	1			7
<i>Rhizopus spp</i>	1	1		2	1			1		2	1	2	2		3	1	3	4
<i>Phoma spp</i>	1				1			1	1	2	3	1	2	1	4	1	2	6
<i>Alternaria spp</i>	1	1	1	2					1	1	2	2	5	2	6	1	2	5
<i>Mucor spp</i>	1	2	1	2	3		2		1	2	4	2	3	3	2	2	2	6
<i>Trichoderma spp</i>		2	1	1	3	1	1		1		2	1	1	3	2	2	3	2
<i>Cladosporum spp</i>	1		2	2	1		1	2	3	1	1	1	3	1	2	2	1	3
<i>Paecilomyces spp</i>							1	1			1				1	1	1	
<i>Aspergillus spp</i>	2	3	3	2	5	2	3	1	2	2	6	3	7	1	4	1	6	6
TOTAL																		
	15	22	18	19	22	9	18	11	17	13	25	27	36	23	36	17	37	58

GRAFICA 1

Recuento de Unidades Formadoras de Colonias por Gramo en Alimento Balanceado para Pollo de Engorda



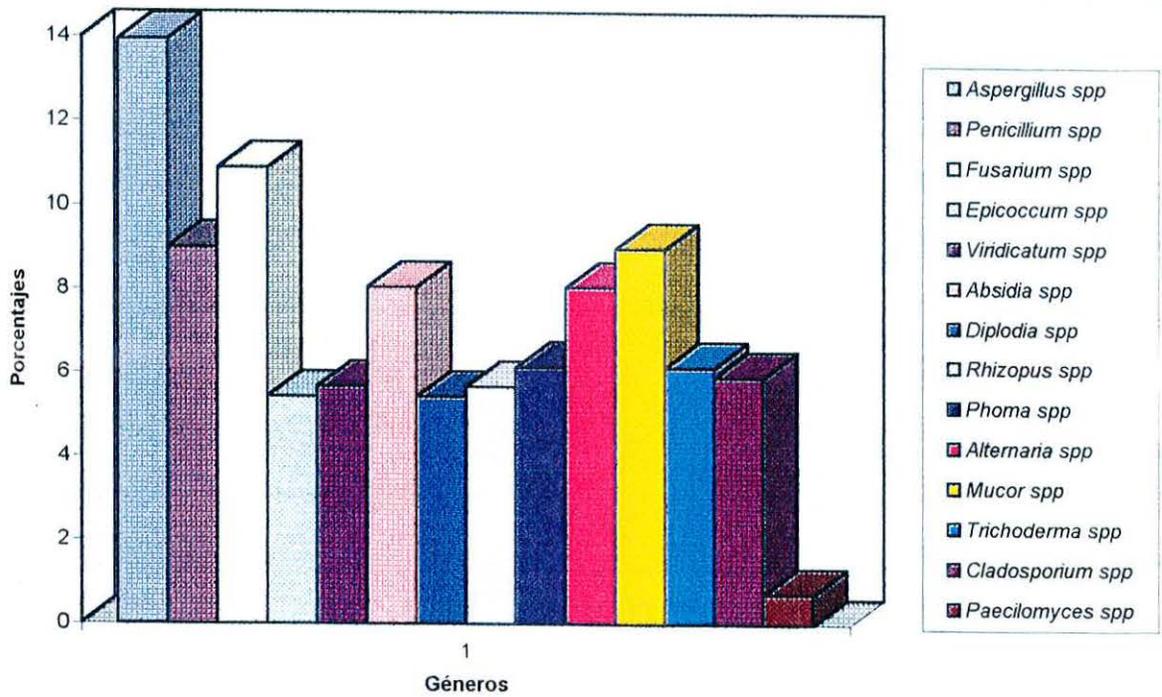
CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

GRAFICA 2

Porcentaje de Géneros de Hongos Identificados en Alimento para Pollo de Engorda



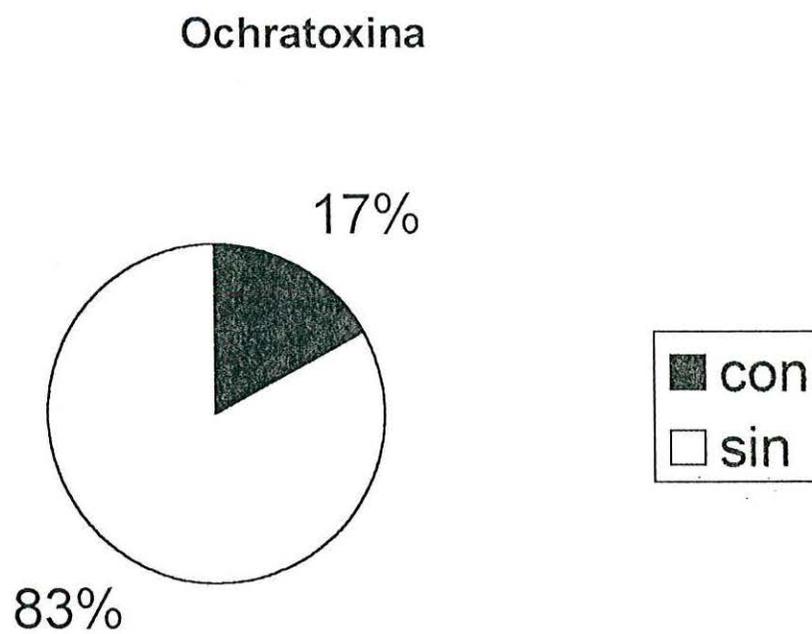
CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

GRAFICA 3

Presencia de Ochratoxina "A" en Alimento para Pollo de Engorda



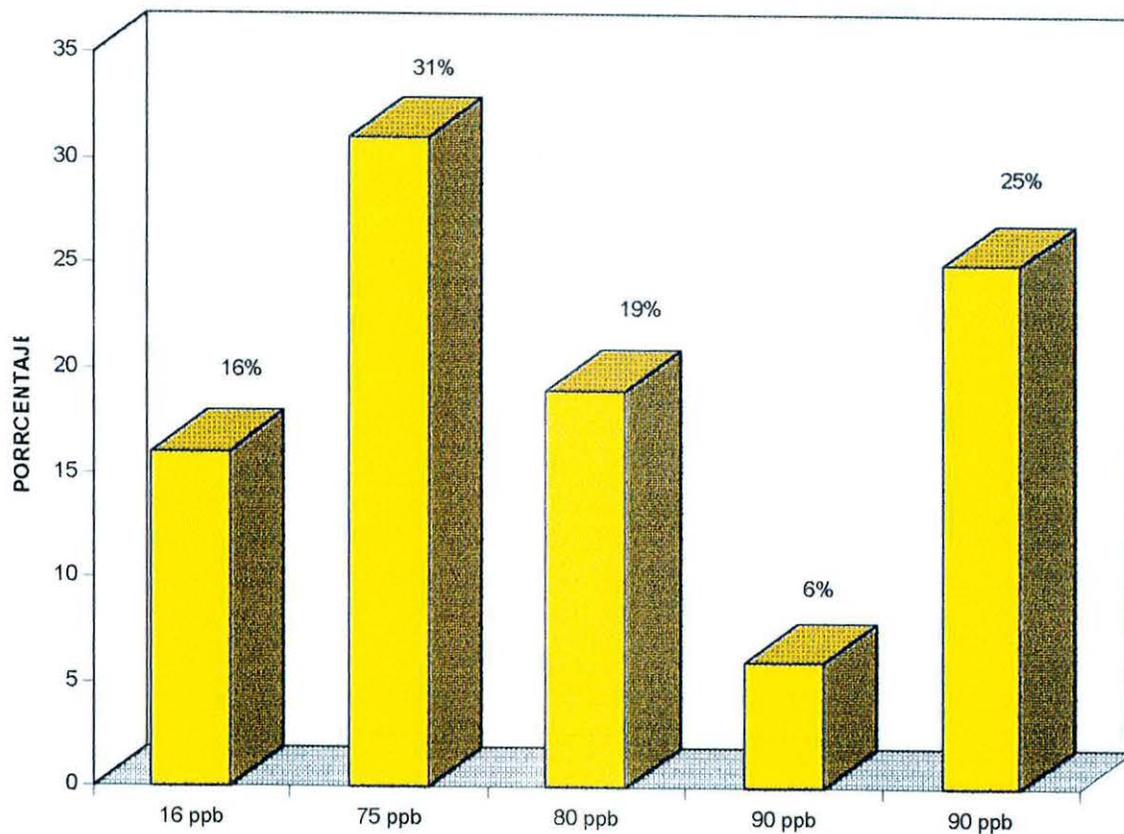
CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

GRAFICA 4

Concentración de Ochratoxina "A" en Alimento para Pollo de Engorda



ppb= partes por billon

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

DISCUSIÓN



BIBLIOTECA CENTRAL

El presente trabajo enfocó su atención a la ochratoxina "A" por ser considerada como la micotoxina de mayor importancia en la producción avícola. Con este enfoque interés prioritariamente determinar la frecuencia con que los alimentos para aves se encuentran contaminados con hongos de los géneros productores de ochratoxina "A".

Los hongos de almacén son principalmente especies del género *Aspergillus* y algunos de *Penicillium*. Las características de estos hongos es su habilidad para crecer bajo condiciones de poca humedad, ya que son capaces de desarrollarse en granos y semillas que tienen bajos contenidos de humedad en equilibrio con la humedad relativa. Esto explica los resultados obtenidos, al encontrar crecimientos de *Aspergillus* y *Penicillium* en humedades de 8, a 10% que se consideran bajas (5,10,25).

Debido a su habilidad para crecer en humedades relativas de 70-90%, de su capacidad de crecer prácticamente en cualquier sustrato y del número de esporas que obtienen en su reproducción asexual, estos hongos tienen una amplia distribución aérea, afectando en diversas formas al hombre, entre ellas deteriorando a los alimentos (1,10,12,23,26,39,43).

Los grupos de especies de *Aspergillus* que son más comunes en granos y semillas almacenadas son: *A. restrictus*, *A. glaucus*, *A. candidus*, *A. versicolor*, *A. ochraceus* y *A. flavus*.

Todos estos grupos están formados por especies que guardan entre sí, una relación en cuanto a su morfología y ecología.

El grupo que con más frecuencia se encuentran relacionados con el deterioro de granos y semillas al igual que el alimento balanceado es el *Aspergillus glaucus*, debido a que las especies que lo forman pueden iniciar su crecimiento a contenidos de humedad, frecuentemente encontrados en los granos almacenados, de 6 a 14%. El género *Penicillium*, se ha registrado más de 60 especies aisladas en granos y sus derivados. Este género presenta grandes dificultades para su determinación, por lo que generalmente se registra como *Penicillium spp.* Esto concuerda con los resultados obtenidos al encontrar con mayor porcentaje a los géneros de *Aspergillus* y *Penicillium* (14, 35).

Entre las cepas aisladas con potencial de producción de micotoxinas se encontraron; *Penicillium Cladosporium*, *Fusarium* y *Alternaria*, en frecuencias elevadas. La frecuencia del género *Aspergillus*, en que se encuentra en alimentos es considerable, en trabajos anteriores se ha reportado que en granos almacenados se aislaron cepas fúngicas correspondientes a; *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. (23,39).

Por razón de la distribución ubicuitaria de los hongos y esporas existe en cualquier momento la posibilidad de una recontaminación de alimento balanceado para pollo de engorda (1,10).

Como se menciono la ochratoxina es un metabolito producido por los hongos *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium viridicatum*. En México se carece de información de los niveles de ochratoxina “A” en grano forrajero y productos de origen animal, de aquí el interés por realizar este trabajo.

Existe un interés por conocer cada día más los efectos y métodos y de control de las micotoxinas en el campo avícola. Por tal motivo se ha considerado importante presentar las interacciones de las micotoxinas que pueden encontrarse simultáneamente como contaminantes de las materias primas y alimentos terminados. (1,13,31,39,40).

La aflatoxina y ochratoxina tienen en común el ser producidas por hongos toxigénicos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, ambas tienen efectos anticoagulantes sobre las aves, ambas inhiben la síntesis de proteína al igual que disminuyen la resistencia a las enfermedades, cuando los animales están expuestos a ellas. Sin embargo tienen estructuras químicas diferentes siendo consideradas las aflatoxinas primordialmente hepatotóxicas y la ochratoxina “A” nefrotóxica. Las aflatoxinas son difuranocumarina producidas principalmente por tres hongos toxigénicos ; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Penicillium puberulum*. La ochratoxinas son derivados isocumaricas ligados a la fenilalanina producida por lo menos por siete especies de *Aspergillus* y seis especies de *Penicillium* siendo los hongos toxigénicos más importantes *Aspergillus ochraceus* y el *Penicillium viridicatum*. De las cuatro ochratoxinas la ochratoxina “A” es considerada la más importante por su toxicidad y frecuencia de presentación , en la naturaleza. (16,18,19,20,22,34).

Casos naturales de ochratoxicosis "A" han sido descritos en pollos, pavos y porcinos. Esta micotoxina se ha clasificado primordialmente como nefrotóxica en pollos de engorda y puede causar lesiones a los riñones y al hígado, además de alterar la coagulación sanguínea, impedir la fagocitosis de los heterófilos e inducir una severa leucocitopenia, y también aumentar la fragilidad intestinal y aumentar el depósito de glucógeno hepático. (5,20,27,33,34,37).

Se han encontrado reportes en Bulgaria, Finlandia, India, Inglaterra, Australia, Hungría, Alemania y Canadá de cereales contaminados con ochratoxina "A" (11,12,13,18,19,22,24,26,36,38,39,42,43,44).

En México el INIFAP (1996) realizó un estudio para la determinación de ochratoxina "A" en sorgo, avena y cebada provenientes de algunas regiones productoras del país (Tamaulipas, Michoacán, Jalisco, Puebla y Tlaxcala). Se recolectaron 40 muestras, obteniendo resultados de 100 mg/kg de ochratoxina "A" en los granos forrajeros. Esto coincide con los resultados obtenidos en el alimento para pollo de engorda. Es importante señalar que aunque en México no se ha informado de casos de nefropatías en pollo de engorda es necesario cuantificar el contenido de ochratoxinas, tanto de producto agrícola como pecuarios, para un mejor control de calidad y disminuir el riesgo potencial que implica el consumo de productos contaminados con estas micotoxinas (28).

CONCLUSIONES



BIBLIOTECA CENTRAL

1. La muestra que presento mayor número de géneros de hongos fue la que presento el 13.4% de humedad.
2. El 100% de las muestras de alimento para pollo de engorda presentaron recuentos de unidades formadoras de colonias.
3. Los géneros de hongos que se presentaron con mayor frecuencia fueron ; *Aspergillus spp* 13.95%, *Penicillium spp* 8.99%, y *Fusarium spp* 10.88%.
4. El alimento balanceado de pollo de engorda se encontró contaminado con ochratoxina "A" en concentraciones que varían de 16 a 125 ppb. Considerándolo como un alimento no apto para el consumo animal.



BIBLIOGRAFÍA

1. **ABRAMSON, D. MILLS, JT. MARQUARDT, RR. FROHLICH,AA.** 1997. Mycotoxins in fungal contaminated samples of animal feed from western Canada. Canadian Journal of Veterinary Research-Revue Canadienne de Recherche Veterinaire. Vol 61 pp 49-52.
2. **BANWART, L.G.,** 1989. Basic food microbiology. Second Edition. pp 299-308, 310-320.
3. **BEUCHAT, R.L.,** 1978. Food and beverage mycology. Avi. Publishing Company. Inc. West Port, Connecticut. Chapter 7-14-15.
4. **CAMPABADAL, M.C.,** 1993. Las Micotoxinas, un serio problema Avicultura Centroamericana. Asociación Americana de la Soya. N° 122. pág. 1-11.
5. **CHOUDHURY, H.;CARLOSON, C.,** 1971. A study of Ochatoxin toxicity in hens. Poul Science Vol. 1 N° 6. pp 1855.
6. **COTTAL, G.S.,** 1978. Manual de métodos estandarizados en microbiología veterinaria. Ediciones Científicas., La Prensa Médica Mexicana. S.A. pág. 584-587.
7. **CLYDE, M.C.** 1989. Contaminación por hongos en granos almacenados. Editorial Pax-México. pág 19-23.
8. **FAO,** 1991. Alimentación y Nutrición, Capacitación en Análisis de Micotoxinas. pág. 5-6.

9. **FERNANDEZ, E.F., 1981.** Microbiología sanitaria agua y alimentos. Vol. 1 Editado por la Universidad de Guadalajara. pág. 109-140.
10. **GARCIA, A.G., 1989.** Manual de métodos para análisis de micotoxinas en granos. Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México. pág. 13-64.
11. **GIBSON,AM. HOCKING,AD. 1997.** Advances in the predictive modelling of fungal growth in food trends in Food Science & Tecnology. Vol8 pp 353-358.
12. **GUO,BZ. CHEN,ZY. BROWN,RL. LAX,AR. CLEVELAND,TE. RUSSIN,JS. MEHTA,AD. SELITRENNIKOFF,CP.WIDSTROM,NW. 1997.** Germination induces accumulation of specific proteins and antifungal activities in corn kernels. Phytopatology. Vol87 pp 1174-1178.
13. **KUBENA, LF.EDRINGTON,TS.HARVEY, RB. PHILLIPS, TD. SARR,AB.and ROTTINGHAUS, GE. 1997** Individual and combined effects of fumonisin B-1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and diacetoxyscirpenol or ochratoxin A in turkey poult. Poultry Science, Vol 76 pp 256-264
14. **HAGGBLOM, P.E., GTOSH, J. 1991.** Postharvest production of Ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium viridicatum* in barley with different protein level. Applied and Environmental Microbiology. Vol 49 N°4 pp 787-788.
15. **HANCOCK, D. ; BLODGETT, D. 1992.** Colección de muestras para laboratorio. Porcicultura Mexicana. Vol 122 pág. 30-1.
16. **HAUBECK, H.D., Y LORKOWSK. 1990.** Immunosuppression by Ochratoxin A and its prevention by Phenylalanine. Applied and environmental microbiology. Vol 41 N°4 pp 1040-1042.

17. **HERRERA, P.F., 1989.** Micotoxicosis, el punto de vista del productor Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México. pág. 2-8.
18. **HOEHLER, D. MARQUARDT, RR, and FROHLICH, AA. 1997** Lipid peroxidation as one mode of action in ochratoxin A toxicity in rats and chicks. Canadian Journal of Animal Science. Vol 77 N°2 pp 287-292
19. **HUFF, W.E., DOERR, J.A. y P. B HAMILTON,., 1993.** Decreased glycogen mobilization during Ochratoxicosis in broiler chickens Applied and environmental microbiology. Vol.37 N°1 pp 12-125.
20. **HAFF, W.E., CHANG, C.F. y M.F WARREN,., 1994.** Ochratoxin A-onduced iron deficiency anemia. Applied and environmental microbiology. Vol.37 N°3 pp 601-603.
21. **JURADO, C.R., 1989.** Toxicología veterinaria. Editorial Salvat. pág. 461-462.
22. **LALITHAKUNJAMMA, CR. and NAIR, MK. 1997.** Pathomorphology of the combined effect of ochratoxin A and citrinin in chicken embryos. Indian Veterinary Journal. Vol 74 pp 22-25.
23. **LAI, M.G., SMENIUK, G., and C. W HESSELTINE, 1970.** Conditions for production of Ochratoxin A by Aspergillus species in a synthetic medium. Applied and environmental microbiology. Vol.19 N°3 pp 542-544.
24. **LAPPALAINEN, S. PASANEN, AL. PASANEN, P and KALLIOKOSKI, P. 1997.** Production of fungal volatile organic compounds in bedding materials. Agricultural and Food Science in Finland. Vol 6 pp 219-227.
25. **LINDER, E., 1989.** Toxicología de los Alimentos. Editorial Acribia. pág. 89-90.
26. **MAJERUS, P. and OTTENEDER, H. 1996.** Detection and occurrence of ochratoxin A in wine and prapejuice. Vol 92 pp 388-390.

27. **MARQUARD, R.R., 1993.** Ocratoxicosis. Porcicultura mexicana. Vol.1Nº12 pág. 33-35.
28. **MARQUEZ, M.R. MOCOCO y TEJADA, H.I., 1993.** Ocratoxina en granos forrajeros y carne industrializada de cerdo. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Jalisco. pág. 116-118.
29. **MORENO, M.E., 1988.** Manual para la identificación de hongos en granjas y sus derivados. Universidad Nacional Autónoma de México. pág. 14-39.
30. **MORENO M.E., 1989.** Hongos y micotoxinas en granos almacenados. Asociación Nacional de Especialistas Avícolas de México. pág. 23-62.
31. **OSUNA, S.O., 1989.** Micotoxinas de importancia en la avicultura. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México. pág. 69-99.
32. **OSUNA, S.O.; 1994.** Interacción de algunos tóxicos en el alimento con aminoácidos. Sexto ciclo de conferencias sobre aminoácidos sintéticos. Fermex. pág. 52-53-59-62.
33. **PEDERSON, E.H., 1993.** Guía para el control de enfermedades. Asociación Americana de la soya. Nº25. pág. 19-20.
34. **PETKOVA-BOCHAROVAT. And CASTEGNARO, M., 1991.**Ochratoxin A and other mycotoxins in cereals from an area of Balkan endemic nephropathy and urinary tract tumours in Bulgaria. IARC Sci Publ. (115): 83-7 pp 12.
35. **PITT, U.I., 1990.** Penicillium viridicatum, Penicillium verrucosum, and production of Ochratoxin "A". Applied and environmental microbiology. Vol.53 Nº2 pp 266-267.
36. **REDDY,VK. KUMARI,DR. And REDDY,SM. 1997.** Influence of volatile compounds on growth of mycotoxinic fungi and mycotoxin production. National academy Science Letters-India. Vol20pp 97-99.

37. **ROBB, J., 1993.** Micotoxinas, contaminación y descontaminación. Tecnología Avipecuaria. año 6, N°68. pág. 13-14.
38. **SCUDAMORE, KA. HETMANSKI, MT. NAWAZ, S. NAYLOR, J. And RAINBIRD. 1997.** Determination of mycotoxin in pet foods sold for domestic pets and wild birds using linked-column immunoassay clean-up and HPLC. Food Additives and Contaminants. Vol 14 pp 175-186.
39. **SCUDAME, KA. HETMANSKI, MT. CHAN, HK. and COLLINS, S. 1997.** Occurrence of mycotoxins in raw ingredients used animal feeding stuffs in the United Kingdom in 1992 Food Additives and Contaminants. Vol 14 pp 157-173.
40. **SHOTWELL, O.L., HESSLTINE, C.W. and M.L GOULDEN, 1994.** Ochratoxin A: occurrence as natural contaminant of a corn sample. Applied environmental microbiology. Vol.17 N°5 pp 765-766.
41. **TEJEDA I., 1985.** Manual de laboratorios para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. pág. 9-10-21.
42. **TEREN, J. PALAGY I,A. KEVEI, E. VARGA, J. 1997** Isolation of variants of *Petromyces albertensis* with altered ochratoxin production. Full source Cereal Research Communications. Vo 125 pp 305-306.
43. **THELLMAN, A. WEBER, W. 1997.** Determination of ochratoxin A in cereals, malt and beer after accumulation and separation on immunoaffinity columns and following high-pressure liquid chromatography with fluorescence detection. Vol 93 pp 1-3.
44. **TRUCKSESS, MW. 1997.** Mycotoxins. Journal of Aoac International. Vol 80 pp119-126.

45. **VANDERZANT, C. and F. SLITTSTOESSER, 1989.** Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Toxigenic fungi and fungal toxins. pp 811-816.
46. **WILLIAMS-SIDNEY., 1984.** Official methods of analysis of the Association of Official Analytical. Chapter 26.
47. **WYATT, D.R., 1990.** Micotoxicosis. Toxicología Aviar. Segundo curso de Actualización Avimex. México. D.F.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL