

AFLATOXINA M1 EN LECHE FLUIDA BOVINA DE FINCAS TRADICIONALES EN EL DEPARTAMENTO DE CHIQUIMULA, GUATEMALA

AFLATOXIN M1 IN BOVINE FLUID MILK FROM TRADITIONAL FARMS IN THE DEPARTMENT OF CHIQUIMULA, GUATEMALA

Jáuregui R.^{1*}, Celis-Vielman E.¹

¹Instituto de Investigación, Centro Universitario de Oriente, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. *rajauji57@gmail.com

Keywords: Ruminant; Raw milk; Mycotoxins; Food safety.

Palabras clave: Rumiante; Leche cruda; Micotoxinas; Inocuidad.

ABSTRACT

FAO defines aflatoxins B1 and M1 (AFM1) as potent carcinogens in humans, however, there is little data on contamination of animal feed and bovine milk consumed in Guatemala. The study determined the presence or absence and the minimum and maximum levels of AFM1/ppt in bovine milk in the dry and rainy season of three municipalities (Esquipulas, Concepción Las Minas and Chiquimula) of the department of Chiquimula. The research was cross-sectional and observational. 34 fluid milk producing farms were sampled discretionary in municipalities with more than 3,000 liters / day. AFM1 was detected using the direct ELISA technique and its concentration evaluated according to the time of year with an analysis of paired samples, above the maximum limit of residue 50 ppt (MRL). 12% of positive farms were found in the dry season and 65% for the rainy season. The minimum level 51.28 ppt/AFM1 and the maximum 978.06 ppt/AFM1 in the rains and the minimum level 70.24 ppt/AFM1 and the maximum 134.76 ppt/AFM1 in the dry season. There was a significant difference with respect to the season in the municipalities of Esquipulas ($p < 0.05$) and Concepción Las Minas ($p < 0.004$). The presence of rains affects the presence of AFM1 in milk because there was a significant difference according to the season ($p < 0.003$). AFM1 in milk shows that in certain regions of Guatemala where cattle are raised, there are adverse environmental conditions and inadequate food management.

RESUMEN

La FAO definen a las aflatoxinas B1 y M1 (AFM1) como potentes carcinógenos en humanos, sin embargo, existen pocos datos acerca de la contaminación de los alimentos para animales y la leche bovina consumida en Guatemala. El estudio determinó la presencia o ausencia y los niveles mínimos y máximos de AFM1/ppt en leche bovina en época seca y lluvias de tres municipios (Esquipulas, Concepción Las Minas y Chiquimula) del departamento de Chiquimula. La investigación fue transversal y observacional. Se muestrearon discrecionalmente en municipios con más de 3,000 litros/día, 34 fincas productoras de leche fluida, La AFM1 fue detectada mediante la técnica ELISA directa y su concentración evaluada según la época del año con un análisis de muestras pareadas, arriba del límite máximo de residuo 50 ppt (LMR). Se halló un 12% de fincas positivas en época seca y el 65% para la época de lluvias. El nivel mínimo 51.28 ppt/AFM1 y el máximo 978.06 ppt/AFM1 en las lluvias y el nivel mínimo 70.24 ppt/AFM1 y el máximo 134.76 ppt/AFM1 en la época seca. Existió diferencia significativa respecto a la época en los municipios de Esquipulas ($p < 0.05$) y Concepción Las Minas ($p < 0.004$). La presencia de lluvias incide en la presencia de AFM1 en la leche porque existió diferencia significativa de acuerdo a la época ($p < 0.003$). La AFM1 en la leche evidencia que ciertas regiones de Guatemala donde se crían bovinos existen condiciones ambientales adversas y un manejo de los alimentos inadecuado.

INTRODUCCIÓN

En el ámbito mundial son múltiples los reportes sobre la presencia de aflatoxina M1 (AFM1) en leche y productos lácteos desde hace más de tres décadas, debido a que la inocuidad alimentaria constituye hoy la prioridad principal de muchos países y de organismos internacionales se siguen realizando más investigaciones sobre la temática (Pérez *et al.*, 2008). Cuando los rumiantes consumen alimentos contaminados con micotoxinas 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 AFM1 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 y, 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 contaminantes, como por ejemplo las aflatoxinas que son un grupo de micotoxinas sintetizadas principalmente por los mohos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* cuando se exponen a ciertas condiciones ambientales. Es conocido que las micotoxinas presentes en los alimentos para animales pueden transferirse a la leche en forma de aflatoxina M1 (Shundo *et al.*, 2016). Dentro de las micotoxinas más importantes se señalan las aflatoxinas, tricotecenos, ocratoxina A, zearalenona y fumonisinas. Algunas de las más comunes en los forrajes son el deoxinivalenol (DON), y la zearalenona frecuente en los alimentos ensilados, además, la fumonisin y aflatoxina también son contaminantes de importancia (Alpízar-Solís, 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 del animal, 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, 2014). En el caso de los rumiantes, la especie es un factor muy importante en los efectos de las micotoxinas sobre su organismo y 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 *et al.*, 2010). Pero algunas micotoxinas 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 *Aspergillus parasiticus*, es considerada casi inevitable, dichos mohos pueden producirse en el alimento del ganado bovino, y al consumirlo puede infectarse e iniciar la producción de AFM1, que llegarán a la leche fluida, por esta razón las aflatoxinas son un problema para la población, debido a que 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). Los residuos de AFM1 en la leche están regulados en muchas partes del mundo e implican pérdidas en las ventas de lácteos a los productores (Masoero *et al.*, 2007). Debido a que existe información limitada sobre la contaminación de leche fluida con AFM1 en Guatemala, en la presente investigación se plantea como objetivo establecer la presencia o ausencia de AFM1 en leche fluida de bovino, de acuerdo con la época de verano y lluvias en el departamento de Chiquimula de Guatemala

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se efectuó en los siguientes municipios: Concepción Las Minas, Esquipulas y Chiquimula que conforman la región lechera del departamento de Chiquimula. Cuentan con una red de carreteras que permiten

la intercomunicación de municipios y un laboratorio de diagnóstico. La investigación se realizó de febrero a noviembre del 2019, de la manera siguiente: ubicación de las fincas a muestrear, entrevista a los ganaderos productores, toma de las muestras de leche y análisis de laboratorio. Se determinó la muestra de las fincas en el departamento de Chiquimula para lo cual 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 diarios de leche fluida como es el caso de Chiquimula, Esquipulas y Concepción Las Minas y existen 952 fincas productoras registradas, de las cuales se eligió 34 como una muestra no probabilística por juicio, siete en Chiquimula, 13 en Esquipulas y 14 en Concepción las Minas. De cada finca se colectó una muestra de leche en la época de verano y lluvias totalizando 68 muestras de leche. Las características de inclusión que tuvieron dichas fincas fueron producir más de 50 L/día, comercializar la leche y elaborar subproductos y estar localizados en diversos ecosistemas y trabajar en diferentes sistemas mixtos de producción con lecherías de doble propósito. A través de una entrevista semiestructurada, guiada mediante una boleta que recabo los datos del ganadero, como producción para determinar la posible relación de contaminación con AFM1 en la época de verano y de lluvia. La toma de la muestra consistió en 200 mL de leche de los recipientes colectores de la finca la cual se dispuso en un recipiente estéril y hermético. Las muestras fueron trasladadas en refrigeración a 4 °C hasta el laboratorio de diagnóstico, con su respectiva boleta de datos e identificación de esta. Posteriormente se determinó las AFM1 con el método ELISA directa estableciendo los rangos estándar para hacer las conversiones de ng/L a partes por trillón (ppt), con un límite máximo de residuo (LMR) de 0.5 µg/L (50 ppt) en un lector de microplacas con una calibración de 450 nm con un filtro de aire diferencial de 630 nm. Para evaluar estadísticamente las variables en estudio en función de los niveles AFM1(ppt) en leche se realizó un análisis estadístico no paramétrico, utilizando para ello la prueba de muestreo pareado, la cual se aplicó para los resultados de AFM1 de las muestras de verano y de lluvias con el paquete estadístico Infostat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar las 68 muestras de leche fluida, respecto a la presencia o ausencia de AFM1 en leche fluida de bovino en, época de verano y de lluvias (tabla I) se observa que de las muestras de leche recogidas en la época de verano 4 (12%) fueron positivas y 30 (88%) de ellas fueron negativas, es decir ausencia de AFM1 o trazas detectables la cantidad fue menor a 50 ppt que es el LMR. En la época de lluvias la situación cambio considerablemente pues de las fincas muestreadas solo 12 (35%) fueron negativas y 22 (65%) positivas con presencia de AFM1 arriba del LMR (50 ppt). En un estudio similar que realizado en un centro de acopio de leche ubicado en una la región de la Costa Sur de Guatemala, se encontró que el 100% de las muestras de leche cruda presentaron AFM (Vela-Morales, 2016). En otra investigación realizada en Medianeira y Serranópolis de Iguaçú Paraná, Brasil, se observó que el 70% (14) de las muestras de leche analizadas presentaban contaminación por AFM, sin embargo, solo 3 (15%) presentaron resultados por encima del límite de detección estipulado por el método (0.10 ppb). (Becker *et al.*, 2010). Por otra parte, en la ciudad de Cuenca Ecuador Malla-Bravo & Saula-López (2015) se efectuaron un análisis de 84 muestras en total se encontraron 16 muestras positivas que estaban entre el límite de detección y cuantificación (0.09 – 0.18 ppb), obteniéndose una prevalencia del 19%.

Tabla I. Presencia o ausencia de AFM1 en leche fluida de bovino en época de verano y lluvias en tres municipios del departamento de Chiquimula, Guatemala (*Presence or absence of AFM1 in fluid bovine milk, according to the summer and rainy season in three municipalities of the department of Chiquimula, Guatemala*).

Fincas (n=34) Municipio	Verano				Lluvias			
	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

Tabla II. Niveles mínimos y máximos de AFM1 en la leche fluida de bovino arriba de 50 ppt (LMR) en 34 fincas muestreadas de tres municipios del departamento de Chiquimula, Guatemala en época de verano y lluvias (*Minimum and maximum levels of AFM1 in fluid bovine milk above 50 ppt (MRL) in 34 farms sampled from three municipalities in the department of Chiquimula, Guatemala in the summer and rainy season*).

N°	Esquipulas		N°	Chiquimula		N°	Concepción Las Minas	
	Verano (ppt)	Lluvias (ppt)		Verano (ppt)	Lluvias (ppt)		Verano (ppt)	Lluvias (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
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)

Muestras de leche procedentes del Altiplano Mexicano (9 cruda, 20 ultrapasteurizada y 15 orgánica) fueron analizadas para determinar la presencia de AFM1. Los resultados mostraron que el 59% de las muestras presentaron AFM1 (Pérez *et al.*, 2008). En otro estudio en la comunidad Mene Mauroa del occidente de Venezuela, el 100% de la leche cruda y pasteurizada analizada presentaron AFM1 dentro de los límites establecidos por la FDA y la UE. (Medina *et al.*, 2016). Con respecto a los niveles mínimos y máximos de AFM1 en la leche fluida de bovino arriba de 50 ppt (tabla II) se presentan los niveles de AFM1 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) que oscilaron entre 70.24 a 134.76 ppt/AFM1 y con una media de 11.72 (33.6) ppt/AFM1 ($P < 0.001$). En la época de lluvias fueron 22 fincas que se encontraron con niveles arriba del LMR en la leche y que fluctuaron entre 51.28 a 691.22 ppt/AFM1 y con una media de 133.75 (226.97) ppt/AFM1 ($p < .001$). Hubo solo cuatro fincas que presentaron tanto en la época de verano como de lluvias presencia de AFM1. 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 AFM1 en el 92.5%, con niveles entre 4.82 a 24.89 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$. (Reyes-Velásquez *et al.*, 2009). En la ciudad de Ribeirao Preto en el estado de São Paulo, Brasil 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 las 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 *et al.*, 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 0.008 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 0.080 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para leche fluida y 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, 0.120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y una muestra con 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente (Shundo *et al.*, 2016). La figura 1

muestra la dispersión de los niveles de AFM1 en las 34 fincas estudiadas en la época de verano y de lluvias en donde existió diferencia significativa en el municipio de Esquipulas de acuerdo con la época ($P < 0.05$) y en Concepción Las Minas ($P < 0.004$). Ahora al analizar los niveles de AFM1 en los tres municipios, se determinó que existe diferencia significativa de acuerdo con la época principalmente en la de lluvias que incide en la presencia de AFM1 en la leche ($P < 0.003$).

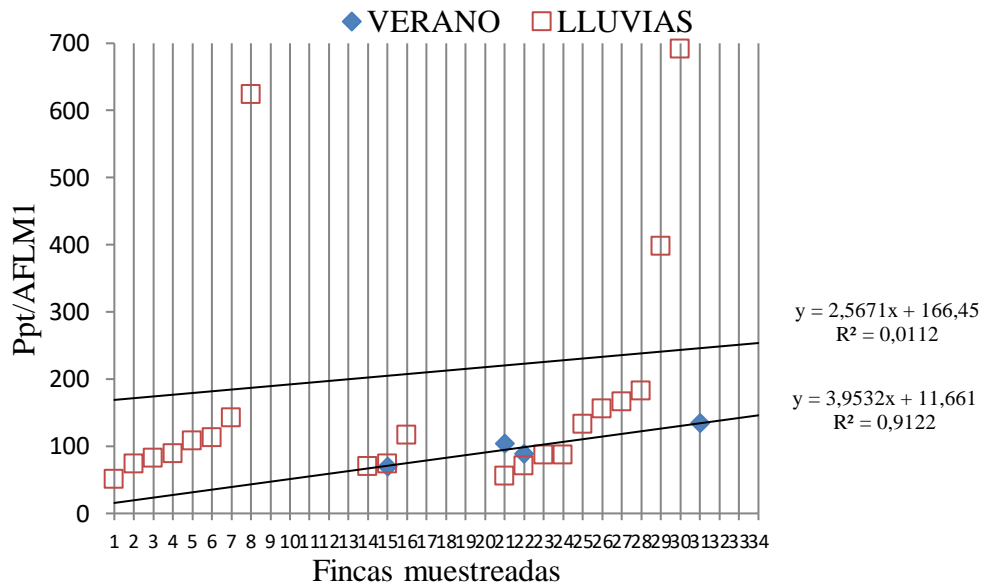


Figura 1. Diagrama de dispersión de AFM1 arriba de LMR (50 ppt) en 34 fincas muestreadas con presencia de AFM1 que corresponden al municipio de Esquipulas (1 a13), Chiquimula (14 a 20) y Concepción Las Minas (21 a 34) (AFM1 dispersion diagram above the MRL (50 ppt) in 34 sampled farms with the presence of AFM1 corresponding to the municipality of Esquipulas (1 to 13), Chiquimula (14 to 20) and Concepción Las Minas (21 to 34)).

CONCLUSIONES

La presencia de AFM1 en la leche fluida se dio en la época de lluvias lo que significa que la contaminación con micotoxinas en los alimentos proporcionados a estos bovinos es alta y que evidencia que ciertas regiones de Guatemala donde se crían bovinos existen condiciones ambientales adversas y un manejo de los alimentos inadecuado.

AGRADECIMIENTOS

La ejecución y redacción del presente estudio no hubiera sido posible sin el cofinanciamiento de la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala, programa de alimentación y nutrición. La participación del Licenciado Zootecnista Luis Vásquez Chegüen, estadístico del proyecto y en particular a la carrera de Zootecnia del Centro Universitario de Oriente de la Universidad de San Carlos de Guatemala por el apoyo administrativo brindado, así también, un especial agradecimiento a los ganaderos de la región que aportaron su conocimiento y apoyo incondicional para llevar a la culminar este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- 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 Iguacu – Paraná *Semina Ciências Agrárias*, 31(3), 707-716.

- 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 & Conaminants*. 28 (12): 1705–11. doi: 10.1080/19440049.2011.605771
- 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*, 20(1), 70-73.
- Instituto Nacional de Estadística. (2004). IV Censo nacional agropecuario. Guatemala: Autor.
- 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 & Saula López 2015. *Determinación del metabolito tóxico Aflatoxina M1 en leches cruda, pasteurizada y ultrapasteurizada consumidas en la ciudad de Cuenca mediante la técnica de cromatografía de alta resolución (HPLC)*. (Tesis de licenciatura). Facultad de ciencias Químicas, Universidad 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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-Austria Journal Animal Science*. 23 (9): 1250-1260. doi: 10.5713/ajas.2010. r.06.
- 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.