

PRESENCIA DE AFLATOXINAS EN ALIMENTO BALANCEADO PARA PERROS (*Canis familiaris*) COMERCIALIZADO A GRANEL EN MERCADOS DEL DISTRITO DE BARRANCO, PERÚ

AFLATOXINS IN FOOD BALANCED DOG (CANIS FAMILIARIS) SOLD IN BULK IN MARKETS BARRANCO DISTRICT, PERÚ

Mónica Vizcarra Perales¹, Rosa Perales Camacho², Siever Morales Cauti^{1,3}

RESUMEN

Se conoce a las aflatoxinas como contaminantes de alimentos que causan serios problemas de salud en animales y humanos. La venta de alimento balanceado para perros a granel en los mercados de la ciudad de Lima, sumada a las malas prácticas de manejo y almacenamiento, generan contaminación por hongos y micotoxinas, lo que representa un riesgo para los perros que ingieren este alimento diariamente. El presente estudio se realizó en los cuatro mercados del distrito de Barranco con el objetivo de demostrar la presencia de aflatoxinas en el alimento. Las muestras fueron procesadas con el Kit Veratox para Aflatoxin (NEOGEN). Los resultados muestran la presencia de aflatoxinas en el 100% de muestras analizadas, con valores entre 0,2 y 8 ppb. Estos resultados permitirán tomar en consideración las aflatoxinas como posibles causantes de diversas patologías, como inmunosupresión, inapetencia, anorexia, diarreas, neoplasias

o hasta muerte súbita, por lo tanto es una importante contribución para la prevención de un correcto estado de salud en esta especie.

Palabras clave: aflatoxina, alimento balanceado, perros, salud animal.

ABSTRACT

The importance of aflatoxins as food contaminants causing serious problems in animal and human health is unknown. The sale of pet food for dogs loose in the markets of the city of Lima, combined with poor handling and storage practices, allowing contamination by fungi and mycotoxins, representing a risk to dogs who eat this food daily. This study was conducted in 4 markets Barranco district in order to demonstrate the presence of aflatoxins in food. Samples were processed with the Veratox Kit for Aflatoxin (NEOGEN). The results

¹ LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR. LIMA, PERÚ.

² LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA VETERINARIA, UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. LIMA, PERÚ.

³ MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA VETERINARIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA, UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. LIMA, PERÚ.

show the presence of aflatoxins in 100% of samples tested, finding values between 0.2 and 8 ppb. These results allow to consider aflatoxins as possible causes of various diseases, such as immunosuppression, loss of appetite, anorexia, diarrhea, malignancy or even sudden death, so it is an important contribution to preventing proper health status in this species.

Keywords: aflatoxin, pet food, dog, animal health.

I. INTRODUCCIÓN

El consumo de alimentos contaminados con micotoxinas resulta ser una amenaza para la salud y productividad de los animales, al producir una micotoxicosis. Este es el nombre con el que se conoce al grupo de enfermedades y trastornos producidos, tanto en animales como en humanos, por metabolitos secundarios tóxicos de los hongos llamados micotoxinas, provenientes de cepas toxicogénicas de diferentes especies de hongos (1). Los signos producidos en los animales son muy variados y pueden presentarse como vómitos, diarreas e incluso la muerte; esto dependerá de diversos factores como el tipo de micotoxinas a la que estuvieron expuestos, su sistema inmunológico, entre otros (2).

Las micotoxinas son metabolitos fúngicos secundarios tóxicos, producidos por cepas toxicogénicas de algunos géneros de hongos, influenciados por condiciones ambientales y nutrientes del medio (3, 4, 5). Durante el crecimiento del hongo se sintetizan los metabolitos primarios y secundarios; los metabolitos primarios son todas las moléculas sintetizadas durante el crecimiento del hongo y los metabolitos secundarios son las micotoxinas que se producen al finalizar la fase de crecimiento o cuando

hay deficiencias en nutrientes esenciales (6).

Existen diferentes condiciones que afectan el crecimiento de los hongos toxigénicos, las cuales se clasifican en intrínsecas y extrínsecas. Las condiciones intrínsecas hacen referencia a las del sustrato sobre el cual crece el hongo e incluyen la composición de carbohidratos, lípidos, proteínas, macro y microelementos, entre otros. Las condiciones extrínsecas están relacionadas con la atmósfera en la cual se encuentra almacenado el grano, como la humedad (óptima >70%) y la temperatura, la cual varía de acuerdo al hongo y el adecuado suministro de oxígeno, lo que no constituye un factor limitante en condiciones normales de almacenamiento (6).

Los principales hongos productores de micotoxinas son los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Strachyobotris* y *Cephalosporium*. Actualmente, 400 micotoxinas han sido identificadas en el mundo y la mayoría de ellas pueden ser incluidas dentro de los tres primeros géneros (7).

Las aflatoxinas son las micotoxinas más estudiadas, por ser las causantes de las afecciones denominadas aflatoxicosis. Se trata de metabolitos heterocíclicos producidos por hongos de la especie *Aspergillus*, siendo los más importantes el *A. flavus* y el *A. parasiticus*. Tienen actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica, además de producir lesiones hepáticas y tener acción inmunosupresora, ya que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica, lo que interrumpe la síntesis de ADN, ARN y proteína a nivel del ribosoma (6, 5).

Los perros son una de las especies más susceptibles a las aflatoxinas. La mayoría de signos están relacionados con un mal

funcionamiento del hígado. Newman *et al.* (2007) y Barth *et al.* (2010) reportaron casos de aflatoxicosis en perros que consumieron alimento comercial y con productos de maíz incluidos en la dieta diaria, respectivamente. Estos presentaron signos como vómitos, diarreas, anorexia, melena, ictericia, dolor abdominal y depresión. En la mayoría de los casos, antes de que los perros murieran presentaron una corta presentación clínica (10). La intoxicación aguda causa severos problemas entéricos, ascitis, hemorragias en la luz intestinal y hemorragias subserosas. La exposición crónica causa insuficiencia hepática (11).

En nuestra realidad es común la venta del alimento balanceado a granel, lo que significa una exposición y un potencial riesgo de contaminación por diversos patógenos, entre ellos los hongos y, como consecuencia, las micotoxinas, que ponen en riesgo la salud animal, por lo que existen normas con parámetros que aseguran al consumidor la inocuidad para las mascotas.

Esta práctica es común, sobre todo en los mercados de abasto de diferentes distritos. El distrito de Barranco cuenta con una temperatura media anual de 18 grados centígrados; la temperatura máxima en los meses de verano puede llegar a los 30 grados y en invierno puede bajar a 12 grados centígrados. La humedad varía entre un 80 y un 90%, debido principalmente a su ubicación geográfica. Estas características, junto con las inadecuadas prácticas de almacenamiento en los mercados, hacen que sea un lugar óptimo para la producción y contaminación con micotoxinas.

Teniendo en cuenta que la micotoxicosis es un cuadro difícil de diagnosticar *in vivo* debido a que presenta diversos signos generales, el diagnóstico se

realiza principalmente *post mortem*. Por este motivo, investigar los niveles de micotoxinas en el alimento balanceado de venta en mercados resulta de interés para la salud animal y aportará datos importantes para el diagnóstico y la prevención de la presentación de daños por micotoxinas. Por tanto, el presente trabajo tiene como objetivo determinar la presencia y niveles de aflatoxinas en el alimento balanceado para perros comercializado a granel en los mercados del distrito de Barranco, con el fin de demostrar que estas son uno de los principales contaminantes de alimentos balanceados vendidos a granel, las cuales resultan muy perjudiciales para los animales al momento de ingerirlos, pues causan diferentes patologías que van desde cuadros agudos hasta cancerosos (2, 3, 12).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

LUGAR DE ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en el distrito de Barranco, provincia y departamento de Lima. El análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur y en el Laboratorio de Patología Aviar de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se tomaron las muestras de cuatro mercados del distrito: 1) mercado San Martín de Porres, cuyas coordenadas son latitud -12.137537 y longitud -77.020781, el cual cuenta con dos puestos de expendio de alimento para perros; 2) mercado Óvalo Balta, cuyas coordenadas son latitud -12.142052 y longitud -77.015765, el cual cuenta con 10 puestos de expendio de alimento para perros; 3) mercado Santísima Cruz, cuyas coordenadas son latitud -12.149541, y longitud 77.017793, el cual cuenta con 3 puestos de expendio de alimento para perros; y 4) mercado Corporativa

Pazos, cuyas coordenadas son latitud -12.149966 y longitud 77.016972, el cual cuenta con 3 puestos de expendio de alimento para perros.

TAMAÑO DE MUESTRA

Para el análisis se recogieron 32 muestras, cuya distribución se realizó por estratificación, de acuerdo al número de puestos de expendio de alimento para perros en cada uno de los cuatro mercados en estudio.

MÉTODO DE CAMPO

Se tomó una muestra como mínimo de 100 g de cada alimento balanceado en expendio, el cual fue conservado en bolsas ziploc, separadas según su procedencia y el grupo etario destinado en *coolers*, hasta su almacenamiento en refrigeración y posterior procesamiento.

TÉCNICA DE LABORATORIO

Las muestras fueron trituradas hasta obtener partículas pequeñas. De esta

molienda, 5 gramos fueron mezclados en un *beaker* con 25 ml de metanol al 70%, y se homogenizó la muestra durante un minuto. Posteriormente, se filtró la muestra en papel Whatman n.º 1.

La técnica que se utilizó fue ELISA competitivo (Veratox para Aflatoxin, NEOGEN), que cuenta con la aprobación del Research Institute of Association of Analytical Communities (AOAC). Veratox para Aflatoxin es un ensayo inmunoenzimático por adsorción (ELISA) directo competitivo. El análisis de las reacciones se da a través del filtro 650 nm para obtener densidades ópticas. Las densidades ópticas fueron interpretadas en el *software* Veratox, en el cual se expresaron los resultados en partes por mil millones (ppb).

III. RESULTADOS

De las 32 muestras analizadas, en el 100% se encontró la presencia de aflatoxinas. En la figura 1 se detallan los resultados, observando valores que van desde 0,2 hasta 8 ppb.

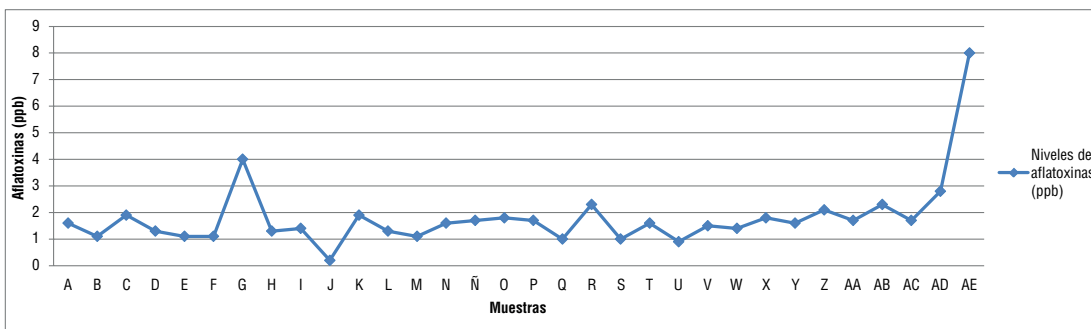


FIGURA 1. NIVELES DE AFLATOXINAS (PPB) SEGÚN CADA MUESTRA ANALIZADA (N = 32).

En la figura 2 se muestran los niveles de aflatoxina de acuerdo al tipo de alimento según la edad. Se observa que las muestras de cachorro tienen un mayor nivel de aflatoxinas.

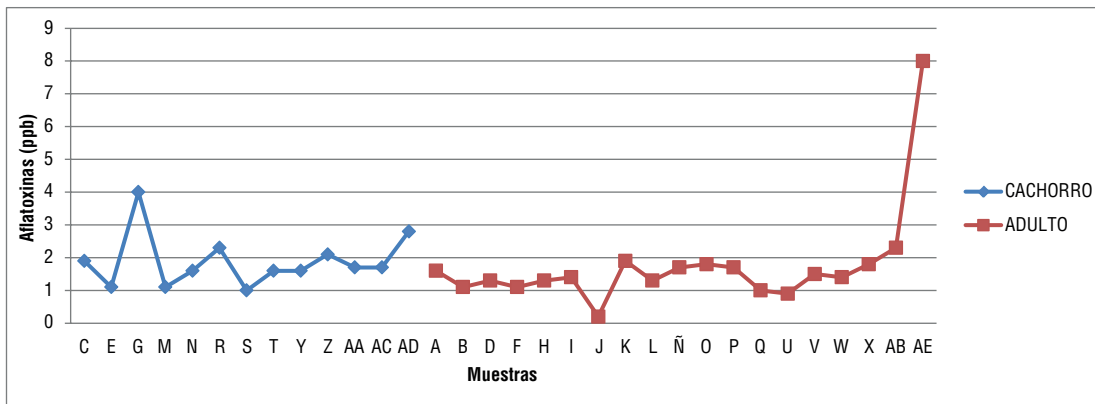


FIGURA 2. NIVELES DE AFLATOXINAS DE ACUERDO CON SU TIPO (PPB).

La figura 3 nos muestra los niveles de aflatoxinas clasificados de acuerdo con su origen. Se observa que el mercado 4 es el que presenta, en promedio, un nivel más elevado de aflatoxinas (3,3

ppb). Esto se puede deber a factores como conservación sanitaria, tiempo de exposición, clima (temperatura y humedad).

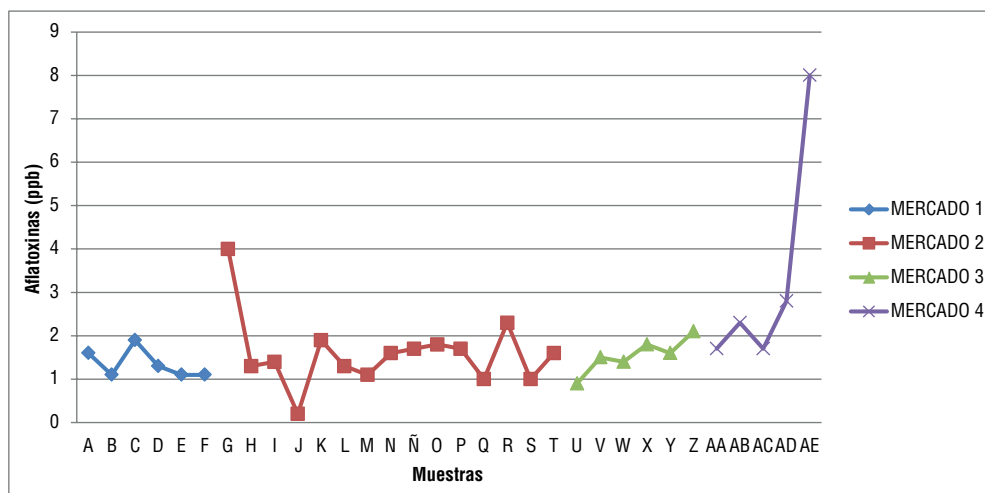


FIGURA 3. NIVELES DE AFLATOXINAS DE ACUERDO CON SU ORIGEN (PPB).

IV. DISCUSIÓN

La presencia de aflatoxinas en el 100% de las muestras se puede deber a las condiciones tanto de almacenaje como ambientales; al tener el alimento expuesto se permite el ingreso de diferentes patógenos como los hongos del género *Aspergillus*, uno de los más importantes

entre los hongos de almacenamiento (13). Este encuentra en las condiciones ambientales, como la humedad entre el 80 y el 90% propia del distrito de Barranco, un factor que favorece su crecimiento y la posterior producción de micotoxinas (aflatoxinas), las cuales solo necesitan una humedad de entre el 25% y el 35%.

Las aflatoxinas son las micotoxinas identificadas con mayor frecuencia en los alimentos para mascotas (10). El que las muestras de cachorro presenten mayores niveles de aflatoxinas en promedio (figura 2) se puede deber a que estos contienen formulaciones con un mayor porcentaje de proteínas y grasas (14).

El crecimiento de los hongos puede ser afectado por diferentes condiciones, entre ellas las intrínsecas, que hacen referencia a la composición del sustrato, como carbohidratos, macroelementos, microelementos, grasas y proteínas (Murcia, 2010; Díaz, 1996a). Como se mencionó anteriormente, en los cachorros las grasas y proteínas son de gran importancia para el desarrollo y mantenimiento en esta edad. De acuerdo con la Asociación Americana de Funcionarios de Control de Alimentación (AAFCO, por sus siglas en inglés) (2014) el porcentaje de proteínas en la etapa de crecimiento y reproducción es del 22,5% y para mantener al animal es necesario el 18%. La diferencia también se observa en cuanto a grasas, con un 8,5% en crecimiento y reproducción, mientras un 5,5% es requerido para mantenimiento.

Solo la muestra identificada como "AE", correspondiente a alimento para adultos, presentó un nivel elevado de aflatoxinas (8 ppb). Esto se puede deber a diversos factores, entre ellos los extrínsecos, relacionados con las condiciones de la atmósfera de almacenamiento: humedad y temperatura, teniendo en cuenta que las exigencias pueden variar de acuerdo con el hongo y el suministro de oxígeno, que no es un factor limitante (13).

La exposición de perros a alimento balanceado contaminado por aflatoxinas con los niveles obtenidos en el presente trabajo (0,2 a 8 ppb), a largo plazo, podría causar efectos secundarios. Newberne *et al.* (1966) suministró alimento con 0,5 ppm y 1,75 ppm (500 ppb y 1750 ppb)

de aflatoxina por un tiempo promedio de administración máximo, en algunos casos de 30 días. Newberne y Butler (1969) concluyeron que la dosis letal (LD50) es de 0,5-1 mg/kg (500-1000 ppb). Teniendo en cuenta los valores expuestos anteriormente, se puede decir que un perro, al consumir diariamente alimento con valores por debajo de los 10 ppb, por un tiempo de 2 a 3 años, podría mostrar signos clínicos o predisposición a la formación de lesiones hepáticas. Sin embargo, en Texas se produjo la muerte de 55 perros por consumir alimento contaminado con aflatoxinas, y se determinó que este contenía entre 150 y 300 ppb (17).

Brigham *et al.* (2004) suministraron una dosis subclínica de aflatoxina B1 (100 ppb) a perros, con lo que, después de 6 horas, observaron la presencia de aflatoxina M1 (71,5%) en orina, la cual se incrementó cuando se evaluó después de 12 horas (90,4%). En el presente estudio se hallaron de 0,2 a 8 ppb de aflatoxina en el alimento expendido en los mercados de Barranco, un valor menor a la dosis subclínica administrada por Brigham *et al.* (2004); sin embargo, no podemos olvidar que estas cantidades pueden tener significancia acumulativa en órganos, principalmente el hígado (3).

No existen estudios de alimentos expendidos a granel, pero se cuenta con información de evaluaciones en muestras selladas, como en Mallmann *et al.* (2009), quienes analizaron 118 691 entre los años 1986 y 2009, de las cuales resultaron positivas solo un 37,8%. En el estudio de Saavedra y Cruz (2008), de 15 muestras, se obtuvo un 87% de resultados positivos.

Cabe resaltar que en la actualidad no existen tablas en las cuales se expongan los límites máximos de aflatoxinas presentes en alimentos balanceado tolerados por perros, por lo que se pueden

emplear tablas generales como la elaborada por la Food and Drug Administration (FDA por sus siglas en inglés) (2002), donde se menciona que el valor máximo tolerado para animales son 20 ppb; sin embargo, la referencia es para animales de producción, los cuales al estar destinados para el consumo humano no tienen una expectativa de vida muy amplia. Es por esta razón que dichas tablas no podrían ser tomadas para los perros u otros animales domésticos. De acuerdo con este criterio y el brindar un alimento de buena calidad que pueda cubrir las necesidades del animal para un correcto desarrollo, se podrían emplear las tablas realizadas para aves (21), en las que el máximo valor tolerado es de 10 ppb, valor cercano al rango obtenido en el presente trabajo. Por otro lado, la legislación europea (D. G. Comercio Internacional de Inversiones, 2014) nos habla de valores máximos de 2 ppb, en caso de hu-

manos. En este caso se podría emplear teniendo en cuenta el tiempo de vida y el brindar una adecuada alimentación a la mascota para que en un futuro su salud no se vea afectada por los efectos de las aflatoxinas.

V. CONCLUSIONES

1. En los mercados del distrito de Barranco se ha comprobado la presencia de aflatoxinas en el alimento balanceado para perros comercializado a granel.
2. Los niveles de aflatoxinas detectados se encuentran entre 0,2 y 8 ppb.
3. En promedio, los niveles de aflatoxinas en el alimento para cachorros (1,9 ppb) fueron mayores a los hallados en el alimento para adultos (1,8 ppb).

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gimeo A, Martins M. Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos. 3.^a ed. Miami: Special Nutrients; 2011.
2. Muzolon P. Micotoxicoses em cães [Tesis de maestría]. Curitiba, Brasil: Universidad Federal de Paraná; 2008.
3. Bogantes Ledezma P, Bogantes Ledezma D, Bogantes Ledezma S. Aflatoxinas. Acta Médica Costarricense 2004; 46 (4): p. 174-8.
4. Soriano J. Micotoxinas en alimentos. España: Ed. Díaz Santos; 2007.
5. Gimeno A. El impacto negativo de algunas micotoxinas en el ganado vacuno lechero. [Base de datos en Internet]. Ergomix: Special Nutrients; 2011. [20 de agosto de 2014] Disponible en <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/micotoxinas-en-el-ganado-vacuno-lechero-t3029/165-p0.htm>

6. Murcia H. Micotoxinas y aflatoxinas b1 un problema en salud animal. Teoría y Praxis Investigativa 2010; 5 (2): 71-8.
7. Gómez M. Determinación de micotoxinas en huevo utilizando un método de extracción basado en el procedimiento QuEChERS y análisis mediante cromatografía de líquidos de ultra presión acoplada a espectrometría de masas en tándem [Tesis de maestría]. España: Universidad de Almería; 2011.
8. Newman S, Smith J, Stenske K, Newman L, Dunlap J, Imerman P, Kirk C. Aflatoxicosis in nine dogs after exposure to contaminated commercial dog food. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 2007; 19 (2): 168-75.
9. Barth A, Assis R, Wouters F, Negrão T, Marques F, Farias C, Driemeier D. An outbreak of aflatoxin b1 contaminated maize products. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 2013; 20 (10): 1-6.
10. Aquino S, Corrêa B. Aflatoxins in pet foods: A risk to special consumers. En: Torres Pacheco I, editor. Aflatoxins-detection, measure and control. Manhattan: Intech; 2011. 53-74.
11. Díaz G. Micotoxinas y micotoxicosis en salud humana y animal. Primera parte. Veterinaria al día 1996; 2 (1): 28-34.
12. De Peña D. La exposición a la Aflatoxina b1 en animales de laboratorio y su significado en la salud pública. Salud Pública de México 2007; 49 (3): 227-35.
13. Díaz G. Micotoxinas y micotoxicosis en salud humana y animal. Segunda parte. Veterinaria al día 1996; 2 (3): 3-8.
14. [AAFCO] Association of American Feed Control Officials. Dog and Cat Food Nutrient Profiles. USA. 2014.
15. Newberne P, Russo R, Wogan G. Acute toxicity of aflatoxin b1 in the dog. Veterinary Pathology 1966; 3: 331-40.
16. Newberne P, Butler W. Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals: A review. Cancer Research 1969; 29: 236-50.
17. Brigham A, Huebner H, Phillips T, Bawer J. Identification and reduction of urinary aflatoxin metabolites in dogs. Food and Chemical Toxicology 2004; 42: 1851-958.
18. Mallmann C, Dilkin P, Mallmann A, Tyska D, Driemeier D. Efeitos das micotoxinas em pets. En: International Pet Meeting. Sao Paulo: 2009. 17-19
19. Saavedra S, Cruz P. Aflatoxinas en alimento balanceado para canes (Santa Cruz-Bolivia) [Tesis de grado]. Bolivia: Universidad Autónoma Gabriel René Moreno; 2008.

20. [FDA] U.S. Food and Drugs Administration Industry Activities Staff Booklet. Action levels for poisonous or deleterious substances in human food and animal feed [Base de datos en internet]. Washington D. C. [Agosto 2002; 17 de enero 2006]. Disponible en: www.cfsan.fda.gov/~lrd/fdaact.html
21. Laboratório de Análises Micotoxológicas. Legislação Brasil. [Base de datos en internet]. Brasil. [2011; enero 2013]. Disponible en: www.lamic.ufsm.br/web/?q=legislacao_brasil

RECIBIDO: 06/11/2014
ACEPTADO: 08/12/2014

COAUTOR: SIEVER MORALES CAUTI
CORRESPONDENCIA: sieverm@hotmail.com