

INCIDENCIA DE AFLATOXINA M1 EN LECHE DE OVEJAS MANCHEGAS

R. Rubio Martínez*, M. I. Berruga Fernández y A. Molina Casanova. 2011. PV ALBEITAR 39-141.

*Becaria predoctoral de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, Departamento de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética ETSIA- IDR.

Campus Universitario de Albacete, UCLM.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Producción ovina de leche](#)

INTRODUCCIÓN

La presencia de aflatoxina M1 en la leche se debe a la metabolización de la aflatoxina B1 presente en los alimentos que ingieren los animales y que es producida por mohos del género *Aspergillus*.

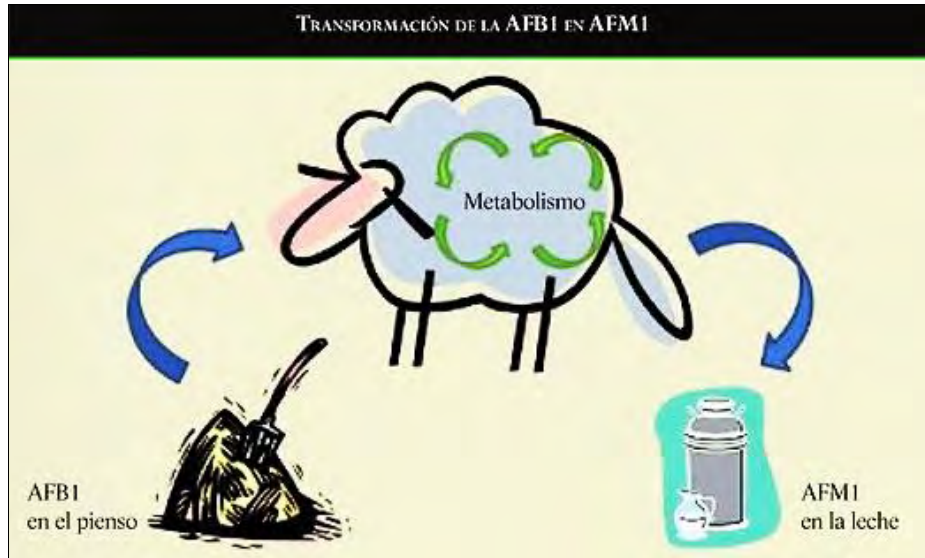


Maíz contaminado por *Aspergillus*.

La aflatoxina M1 (AFM1) es el metabolito secundario derivado de la biotransformación en el hígado de la AFB1, micotoxina producida por cepas toxicogénicas de mohos del género *Aspergillus* bajo determinadas condiciones de humedad y temperatura. La AFB1 puede contaminar alimentos típicos de la ración de los animales, como el maíz, la semilla de algodón o los ensilados (Pier, 1992; Garon et al., 2006), y está clasificada en el grupo 1: carcinogénicas para los humanos.

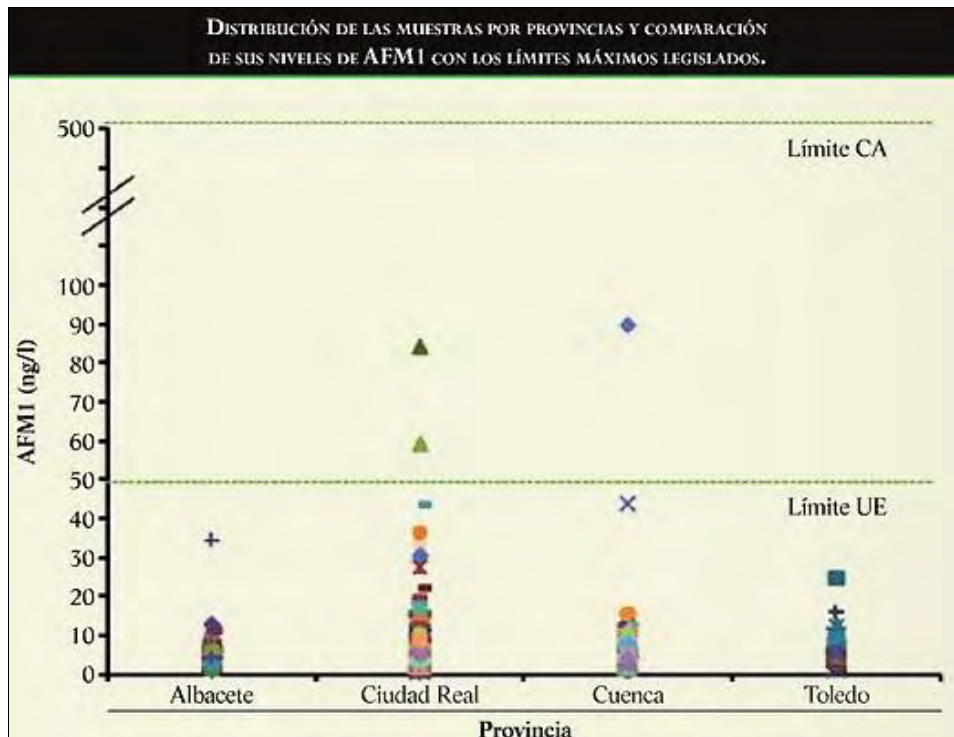
La AFM1 pertenece al grupo 2B: posible carcinógeno (IARC, 1993). Se puede encontrar en la leche y en los derivados lácteos procedentes de animales que hayan ingerido alimentos contaminados con AFB1 (Creppy, 2002), razón por la que la Unión Europea estableció límites tanto para la AFB1 en alimentos (5-20 $\mu\text{g}/\text{kg}$), como para la AFM1 (0,05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o 50 ng/kg) en leche cruda, leche para la fabricación de productos lácteos y leche tratada térmicamente (Directiva 2003/100; Reglamento 2174/2003). 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 0,025 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o 25 ng/kg (Reglamento 683/2004). Esta norma incluye también a los niños de corta edad. La legislación referente a la AFM1 no es tan estricta en Estados Unidos o algunos países de América Latina como Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, donde el límite establecido es de 500 ng/kg (Codex Alimentarius, 2001).

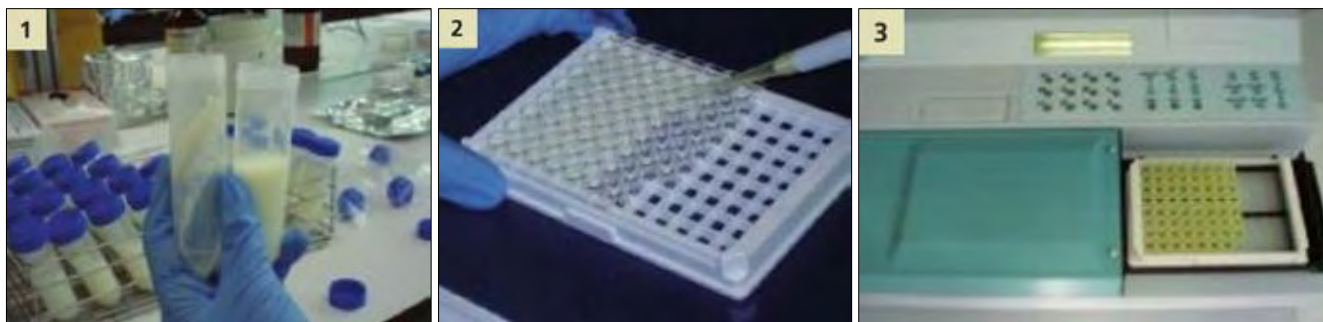
España es uno de los productores más importantes de leche de oveja en la Unión Europea, junto con Italia, Grecia y Francia, con una producción aproximada de 427.000 toneladas al año. De esta leche se obtienen en torno a 44.000 toneladas que se destinan a la producción de queso Manchego con Denominación de Origen Protegida (DOP). Esta marca de calidad representa, además, el 33,1% de las DOP e IGP (Indicaciones Geográficas Protegidas) de nuestro país (MARM, 2008).



En la actualidad, la legislación relativa a la higiene alimentaria se está extendiendo al ámbito de la producción de leche de los pequeños rumiantes, como se refleja en el borrador del Real Decreto sobre normativa básica de control que deben cumplir los agentes del sector ovino y caprino de leche cruda, que será publicado en breve. En este borrador se especifican todos los parámetros de calidad que se deben analizar en la leche, desde características físico-químicas y microbiológicas, hasta presencia de antibióticos, con lo que en un futuro también cabría la posibilidad de incorporar el análisis rutinario de aflatoxinas, teniendo en cuenta el hecho de que constituyen un riesgo para los seres humanos y la salud animal, y que además ya se regula su análisis con la Directiva 96/23 del Consejo. En el método oficial para el análisis de AFM1 (ISO, 2007) se utiliza high-performance liquid chromatography (HPLC). Sin embargo, los métodos inmunoenzimáticos como el enzymed-linked immunosorbent assay (ELISA) se pueden considerar como una alternativa más sencilla, menos costosa y altamente fiable, debido a su elevada sensibilidad y especificidad (Rubio et al., 2009).

La producción del queso Manchego supone unas exigencias muy elevadas en cuanto a calidad y seguridad alimentaria, tanto de la materia prima como del producto final, por lo que se consideró de gran interés el conocimiento de la situación actual en cuanto a la presencia de AFM1 en la leche utilizada para dicha producción en la Comunidad de Castilla-La Mancha.





1. Muestra de leche centrifugada;

2. Placa ELISA;

3. Lectura de la absorbancia

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el otoño e invierno de los años 2007 y 2008 se recogieron muestras de leche de tanque (n=391) de explotaciones de ovejas de la raza Manchega en las provincias de Albacete, Ciudad Real, Cuenca y Toledo. Se tomaron 50 ml de cada una, sin ningún conservante añadido, que se refrigeraron (4-8 °C) y analizaron antes de las 24 horas posteriores a su recepción en el laboratorio.

La composición (grasa, proteína, lactosa, sólidos totales) y el recuento de células somáticas (RCS) de las muestras de leche se analizaron en el laboratorio lácteo Cerysa (Valdepeñas), mediante un CombiFoss 500 (Foss, Dinamarca).

Las muestras se analizaron para determinar la concentración de AFM1 mediante dos métodos inmunoenzimáticos (ELISA) diferentes: Tscreen Afla M1 (Tecna S.R.L., Trieste, Italia) y Transia Plate Aflatoxin M1 (Raisio Diagnostics SAS, Lyon, Francia). En todos los casos se siguieron las instrucciones para cada método, según indican los fabricantes.

Los resultados se analizaron con el paquete estadístico SPSS 17.0 y se expresaron en forma de medianas con los intervalos intercuartílicos (Q3-Q1) para cada provincia. Este estadístico es una medida más robusta que la media cuando se tiene una distribución asimétrica de los datos con valores elevados aislados, como ocurre en este trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se pueden observar los valores medios de composición y células somáticas de las muestras de leche analizadas, además de los rangos en los que se encuentran todos los resultados. Estos valores se incluyen dentro de los rangos descritos para la raza Manchega (Arias, 2009), teniendo en cuenta que en el otoño-invierno, cuando se recogió la leche, éstos fueron ligeramente más elevados que el resto del año.

Composición	Media ± SD	Rango
Grasa (%)	8,08±0,98	5,08-10,69
Lactosa (%)	4,64±0,26	3,31-5,31
Proteínas (%)	6,14±0,48	4,82-9,03
Sólidos totales (%)	19,75±1,21	16,20-24,06
Log ₁₀ RCS (ml ⁻¹)	6,02±0,32	3,95-6,75

Los resultados del análisis de AFM1 se muestran en la tabla 2. Observando los valores de las medianas por provincias, se puede ver claramente que, tanto para el método 1 como para el 2, éstos son muy similares, al igual que ocurre con los intervalos intercuartílicos. Sin embargo, el nivel de AFM1 detectado por el método 2 siempre es superior al detectado por el método 1, hecho que ya fue descrito por Rubio et al. (2009) al comparar cinco métodos ELISA comerciales diferentes. En ese estudio se observó que los dos métodos seleccionados para el presente trabajo obtienen una buena sensibilidad en la detección de la AFM1 y, además, permitieron un análisis rápido de las muestras. La distribución de las mismas según si éstas superan o no el límite máximo de la UE (50 ng/kg), refleja la escasa presencia de leche contaminada por AFM1 en las cuatro provincias y se presenta de forma detallada en el gráfico. El 50% de estos resultados positivos (n=2) están próximos al límite legal europeo y, aunque el otro 50% presenta valores algo superiores, siempre quedan muy por debajo del establecido por el Codex Alimentarius (500 ng/kg) a nivel internacional, por lo que se garantiza así la seguridad alimentaria.

TABLA 2. MEDIANAS E INTERVALOS INTERCUARTÍlicos (Q3-Q1) DE LAS CONCENTRACIONES DE AFM1 EN LAS CUATRO PROVINCIAS ESTUDIADAS.

Provincia	Método 1 (ng/l)	Rango 1 (ng/l)	Método 2 (ng/l)	Rango 2 (ng/l)	Distribución 1 (n)		Distribución 2 (n)	
					<50 (ng/L)	>50 (ng/L)	<50 (ng/L)	>50 (ng/L)
Albacete	5,00 (6,56-3,54)	0,85-34,59	5,13 (7,14-4,14)	2,36-45,98	52	0	52	0
Ciudad Real	4,42 (7,03-3,15)	0,51-83,86	5,25 (8,27-4,00)	2,20-97,15	188	2	187	3
Cuenca	4,11 (5,89-2,70)	0,28-89,65	5,32 (7,99-4,15)	2,48-93,37	117	1	117	1
Toledo	5,18 (7,80-3,60)	1,02-24,64	6,08 (9,85-4,84)	2,31-19,35	31	0	31	0

Número total de muestras=391. Albacete (n=52), Ciudad Real (n=190), Cuenca (n=118) y Toledo (n=31)

En España, la información acerca de la presencia de AFM1 en leche de oveja o cabra es prácticamente nula, y sólo se han encontrado estudios en leche de vaca. Bascarán et al. (2006), recogieron 160 muestras en la zona de Asturias y todas ellas resultaron por debajo del límite legal. También se realizó un estudio similar por parte de los laboratorios Tecna s.r.l. (2005) en cuatro áreas distintas del país y, con el mismo número de muestras, hallaron que un 97% de las mismas estaban por debajo del límite. En el presente estudio nos encontraríamos ante una situación intermedia entre ambos trabajos, con un 99% de muestras negativas de un total de 391. Sin embargo, este valor se ha obtenido en las épocas de otoño e invierno, descritas como las de mayor incidencia, por lo que cabría esperar que en el resto del año el nivel de contaminación en la leche sería todavía menor.

CONCLUSIONES

La escasa presencia de muestras de leche con valores por encima del nivel máximo permitido para la AFM1 en la región de Castilla-La Mancha garantiza la calidad higiénico-sanitaria y la seguridad alimentaria de la leche de oveja con la que se elabora el queso Manchego.

Los métodos ELISA se pueden considerar como herramientas muy útiles para detectar la presencia de AFM1 en leche de oveja, ya que permiten analizar un gran número de muestras en un tiempo reducido, con una buena sensibilidad y a un coste económico más bajo que con la cromatografía.

INFLUENCIA DE LAS AFLATOXINAS EN LA PRODUCCIÓN DE LECHE

Los problemas de salud ocasionados por las micotoxinas como la carcinogénesis, mutagénesis, teratogénesis y hepatotoxicidad, se han estudiado tanto en humanos como en animales. En el caso concreto de las aflatoxinas, sus efectos biológicos pueden clasificarse en dos grupos atendiendo a la duración de sus efectos (largo y corto plazo). Cuando los animales domésticos consumen dosis elevadas de aflatoxinas, los principales daños que sufrirá el organismo tendrán lugar a nivel hepático. Sin embargo, existe una serie de factores que pueden influir en el grado de respuesta a estas toxinas. Entre ellos, cabe destacar la especie en primer lugar. Así, el vacuno lechero y el ovino son más resistentes que el porcino o las aves. Otros parámetros descritos que también influyen en el grado de respuesta a las aflatoxinas son la edad, la actividad hormonal y nutricional, y factores externos como el estrés medioambiental y la duración y la dosis de la ingesta. Los efectos a largo plazo se consideran como aflatoxicosis crónicas, cuyos primeros signos clínicos son la falta de apetito, la disminución del crecimiento e incluso la pérdida de peso; en definitiva, la improductividad en general.

Cuando una intoxicación de este tipo ocurre en un animal productor de leche, estos síntomas se traducen en una disminución de su producción, con disminución o no de la temperatura corporal, descamación de la piel del hocico, prolapso de recto y edema en la cavidad abdominal. Si la intoxicación es aguda, el animal podría morir o habría que sacrificarlo. Sin embargo, una intoxicación crónica va a suponer pérdidas económicas para el productor debido a que, a pesar de que los animales no muestran signos de enfermedad, la producción de leche sí se verá afectada.

BIBLIOGRAFÍA

- ARIAS, R. (2009). Tesis Doctoral: Recuento de células somáticas y calidad de la leche de oveja en Castilla-La Mancha. Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, 210 págs.
- Bascarán, V., Hernández de Rojas, A., Chouciño, P., Delgado, T. (2006). Incidencia de aflatoxina M1 en leches comerciales y en leche cruda procedente de granjas del Principado de Asturias. Alimentaria, Mayo 06, págs. 80-81.
- COMISIÓN EUROPEA (1996). Directiva 96/23/CE del Consejo de 29 de Abril de 1996, relativa a las medidas de control aplicables respecto de determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos y por la que se derogan las Directivas 85/358/CEE y 86/469/CEE y las Decisiones 89/187/CEE y 91/664/CEE. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L125, 10-32.

- COMISIÓN EUROPEA (2003). Directiva 2003/100/CE de la Comisión de 31 de octubre de 2003 por la que se modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre sustancias indeseables en la alimentación animal. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L140, 10-21.
- COMISIÓN EUROPEA (2003). Reglamento (CE) N° 2174/2003 de la Comisión de 12 de diciembre de 2003 que modifica el Reglamento (CE) N° 466/2001 por lo que respecta a las aflatoxinas. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L285, 33-37.
- COMISION EUROPEA (2004). Reglamento (CE) N° 683/2004 de la Comisión, de 13 de abril de 2004, que modifica el Reglamento (CE) N° 466/2001 por lo que respecta a las aflatoxinas y a la ocratoxina A en los alimentos destinados a lactantes y niños de corta edad. Diario Oficial de la Unión Europea, L106, 3-5.
- COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS (2001). Observaciones sobre el proyecto de nivel máximo para la aflatoxina M1 en la leche. Informe de la 33ª reunión del Comité del Codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos, La Haya, Países Bajos.
- CREPPY, E.E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Toxicology Letters, 127 (1-3): 19-28.
- GARON, D., RICHARD, E., SAGE, L., BOUCHART, V., POTTIER, D., LEBAILLY, P. (2006). Mycoflora and multimycotoxin detection in corn silage: experimental study. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 54: 3479-3484.
- INTERNATIONAL STANDARDS ORGANISATION (ISO) (2007). Milk and milk powder. Determination of aflatoxin M1 content. Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography. Standard 14501. Geneva, Switzerland.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993). Aflatoxins. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Human, 56, Lyon, págs. 245-395.
- MARM, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (2008). <http://www.mapa.es/es/alimentacion/pags/Denominacion/consulta.asp> (datos consultados en el 2010).
- PIER, A.C. (1992). Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. Journal of Animal Science, 70: 3964-3967.
- Rubio, R., Berruga, M.I., Román, M., Molina, A. (2009). Evaluation of immunoenzymatic methods for the detection of aflatoxin M1 in ewe's milk. Food Control, 20: 1049-1052.
- TECNA S.R.L. (2005). Estudio sobre la presencia de aflatoxina M1 en España. Industrias Lácteas Españolas (ILE) 319: 86-87.

Volver a: [Producción ovina de leche](#)