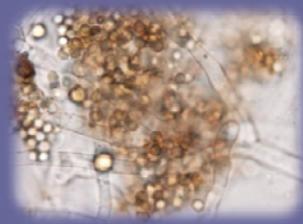


Micotoxinas

Peligros

Descontaminación y reducción de sus efectos tóxicos





M. Gorrachategui García
Madrid 7 de noviembre de 2013

Tesereus CI
En Alimentación Animal

GRAVEDAD DE LAS MICOTOXICOSIS

Depende de:

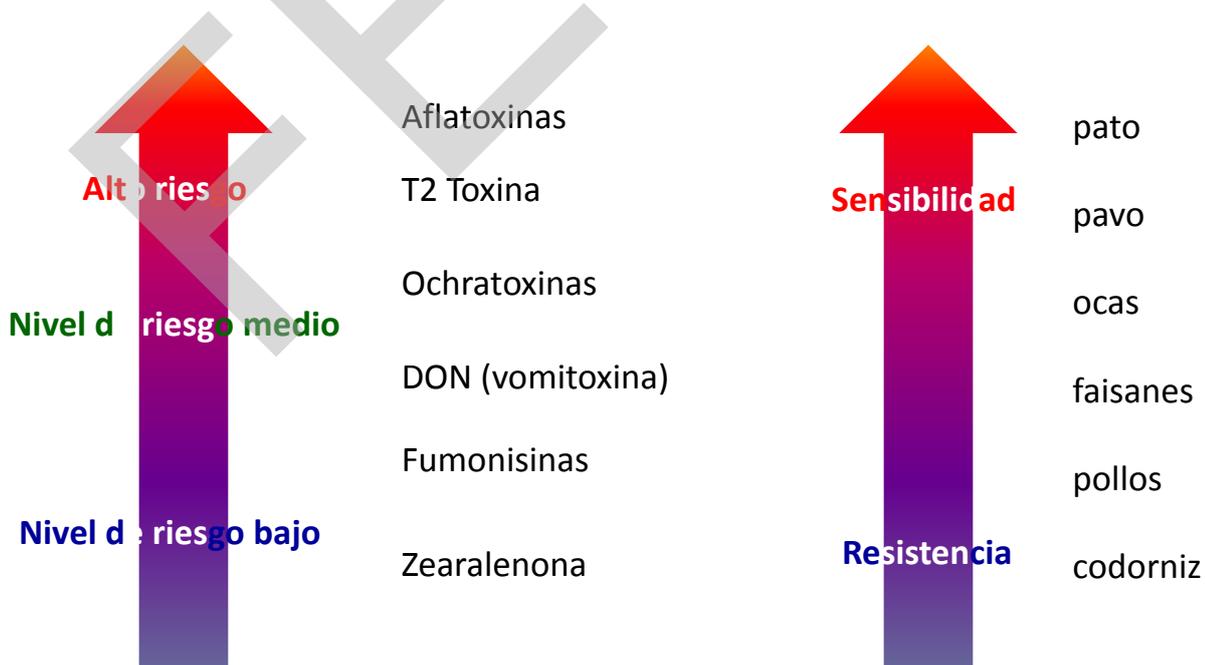
- Biodisponibilidad y toxicidad de la micotoxina. Mecanismo de acción. Metabolitos.
- Efectos combinados con otras micotoxinas: aditividad, sinergismo o antagonismo.
- Cantidad ingerida y continuidad en la ingestión.
- Vida media (pocos días excepto OTA en cerdos).
- Tipo de animal, condición (edad, peso) y estado nutricional y sanitario.

Generalmente las micotoxinas no se acumulan en músculo. Su metabolismo hace que se excreten en orina y heces pero también en huevos y leche, aunque en el caso de los huevos la transferencia está entre el 0.6 y 0.001%.
(Galvano y col., 2001; Bennet y Klich, 2003; EFSA, 2009)

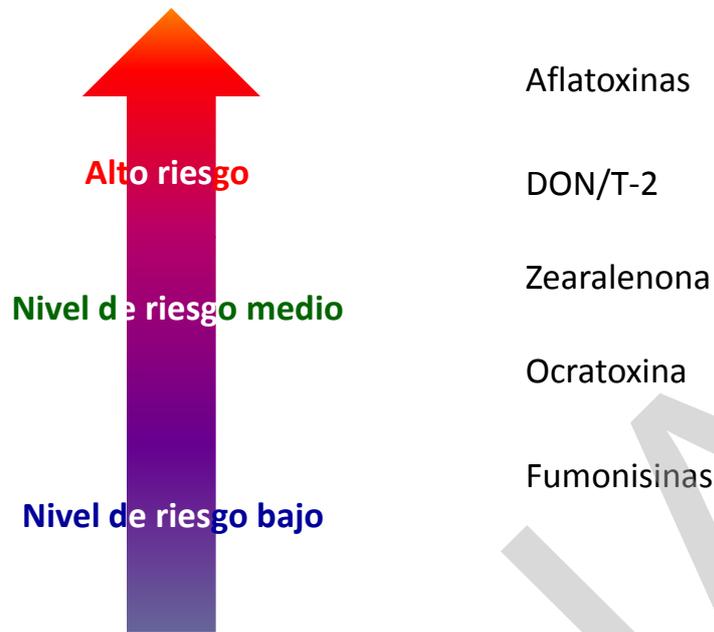
Tesereus CI
En Alimentación Animal

Micotoxina	Problema
Aflatoxinas y Sterigmatocistina	Hepatotóxicos y teratógenos. Immunomodulación. Genotóxica.
Ocratoxinas y citrinina	Nefrotóxicos . Immunomodulación. Genotóxica.
Tricotecenos (DON, T-2, NIV...)	Gastroentéricos . Hematotoxicidad. Problemas de piel . Immunomodulación.
Fumonisina B1	Daños en sistema nervioso central . Hepatotoxicidad. Genotoxicidad. Immunomodulación. Edema pulmonar
Zearalenona	Estrogénicos (fertilidad y reproducción)
Alcaloides ergot y Alternaria	Neurotóxicos, musculares. Síndrome hemorrágico

Toxicidad de las distintas micotoxinas en aves según la especie



Toxicidad de las principales micotoxinas en porcino



5

Efectos Clínicos de Fumonisin B1 en lechones.

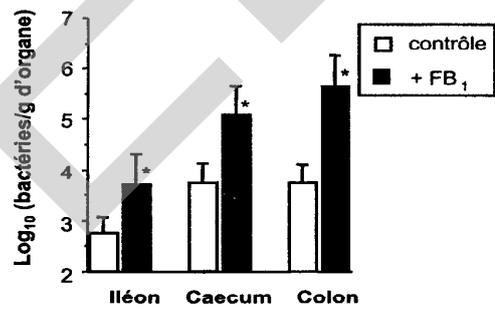


Figure 1. Effet de la fumonisine B₁ sur la sensibilité des porcelets à l'infection colibacillaire (Oswald et al 2003).

Efectos Clínicos de Zearalenona en porcino

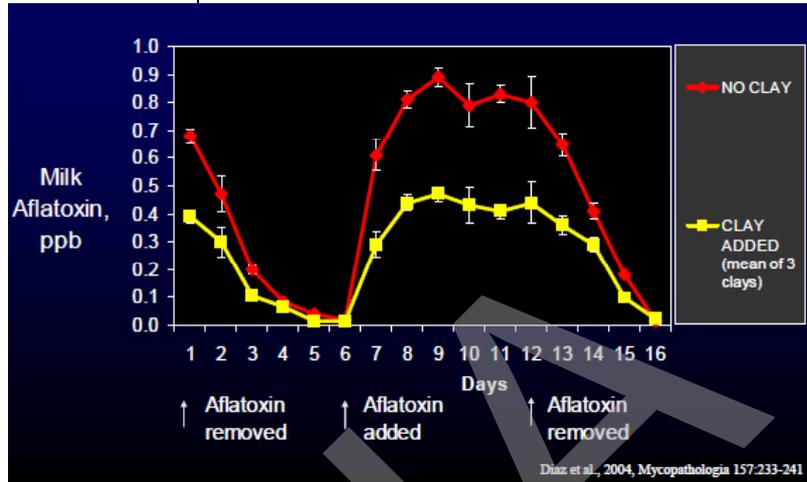


M.Gorrachategui 2013

AFLATOXINAS. Transferencia a leche

Los niveles máximos de Aflatoxinas en pienso garantizan concentraciones mínimas en leche. La concentración de aflatoxina que se encuentra en la leche es del 1.7 % (de 0.3 a 2.2 %) de la que hay en la ración (Veldman y Meijs, 1992), aunque depende de muchos factores.

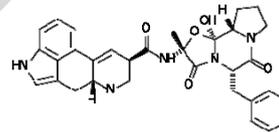
En la figura se puede ver la aparición de aflatoxina M1 en leche después de un periodo de 16 días con o sin incorporación de 1 % de arcillas como adsorbente (Diaz y col., 2004).



$$AFM1 \text{ (ng/kg leche)} = 10.95 + 0.787 \times \mu\text{g AFB1 ingerida /día (Pettersson, 1998)}$$

En ovejas Firmin y col. (2012) señalan una transferencia a leche como AFM1 entre el 0.12 y el 0.54%. Galtier y col. (2008) señalan una transferencia del 0.05 % de la dosis ingerida a la leche de ovejas en el caso de la OTA y su metabolito OT α. Para FB1 y T-2 es de 0.05% .

M.Gorrachategui 2013



Micotoxinas:

Prevención y Descontaminación



CÓDIGOS DE BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS



Control de materias primas, con especial atención a la humedad, hongos y micotoxinas. Si es posible en origen.



Almacenamiento con $A_w < 0.65$ y $T^a < 20^{\circ}\text{C}$



Limpieza de las instalaciones. Sistemas de aireamiento.

M.Gorrachategui 2011

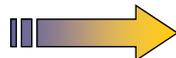
REDUCCIÓN DE LOS EFECTOS DE LAS MICOTOXINAS

Métodos de uso en campo o previos al almacenaje. Se estima un coste del 5- 20 % del valor de la mercancía (Coker, 1998).



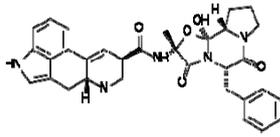
DEGRADACIÓN QUÍMICA

(Amoniaco y agentes oxidantes como O_3 en AFLA y OTA. Fenilalanina en OTA)



TRATAMIENTOS FÍSICOS

- Segregación
- Limpieza física del grano
- Descascarado
- Rayos gamma



Micotoxinas:

Reducción de sus efectos tóxicos



Tesereus CI
En Alimentación Animal

REDUCCIÓN DE LOS EFECTOS DE LAS MICOTOXINAS. ADITIVOS

Definición de un nuevo grupo funcional de aditivos (Reglamento 386/2009):

“sustancias para la reducción de la contaminación de los piensos por micotoxinas” : sustancias que pueden suprimir o reducir la absorción, promover la excreción o modificar el modo de acción de las micotoxinas.

“PRIMEROS ADITIVOS EN EL GRUPO EL 23/10/2013, Rgto 1016/2013 y 1060/2013”

Disminución de su biodisponibilidad:

- Adsorción
- Degradación

Tesereus CI
En Alimentación Animal

DESCONTAMINACIÓN DE MICOTOXINAS. ADSORCIÓN Y BIOTRANSFORMACIÓN

AGENTES ADSORBENTES: compuestos de alto peso molecular que captan las toxinas y pasan a través del tubo digestivo impidiendo su absorción y eliminándolas en las heces. Pueden ser compuestos inorgánicos u orgánicos e incluyen desde arcillas naturales hasta polímeros de síntesis.



ADSORCIÓN

- Arcillas.
- Carbón activo.
- Paredes de levaduras.
- Fibras (MWF, ...).
- Polímeros (colestiramina, etc).
- Bacterias.

AGENTES BIOTRANSFORMADORES: se unen a las micotoxinas, o las degradan en otros compuestos produciendo metabolitos menos tóxicos o no tóxicos.



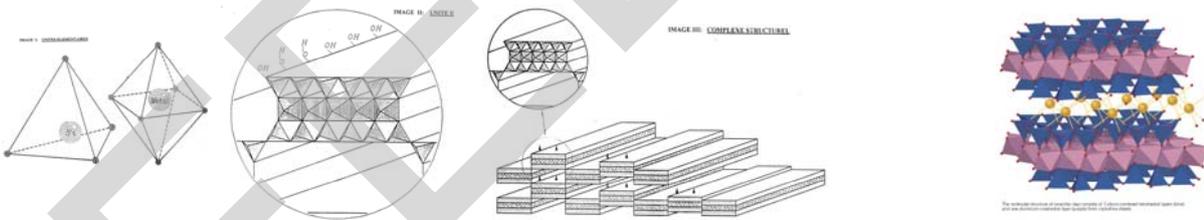
DEGRADACIÓN (Biotransformación)

- Bacterias.
- Hongos y Levaduras.
- Enzimas.

Teserens CI
En Alimentación Animal

M.Gorrachategui 2013

ADSORCIÓN: ADSORBENTES MINERALES

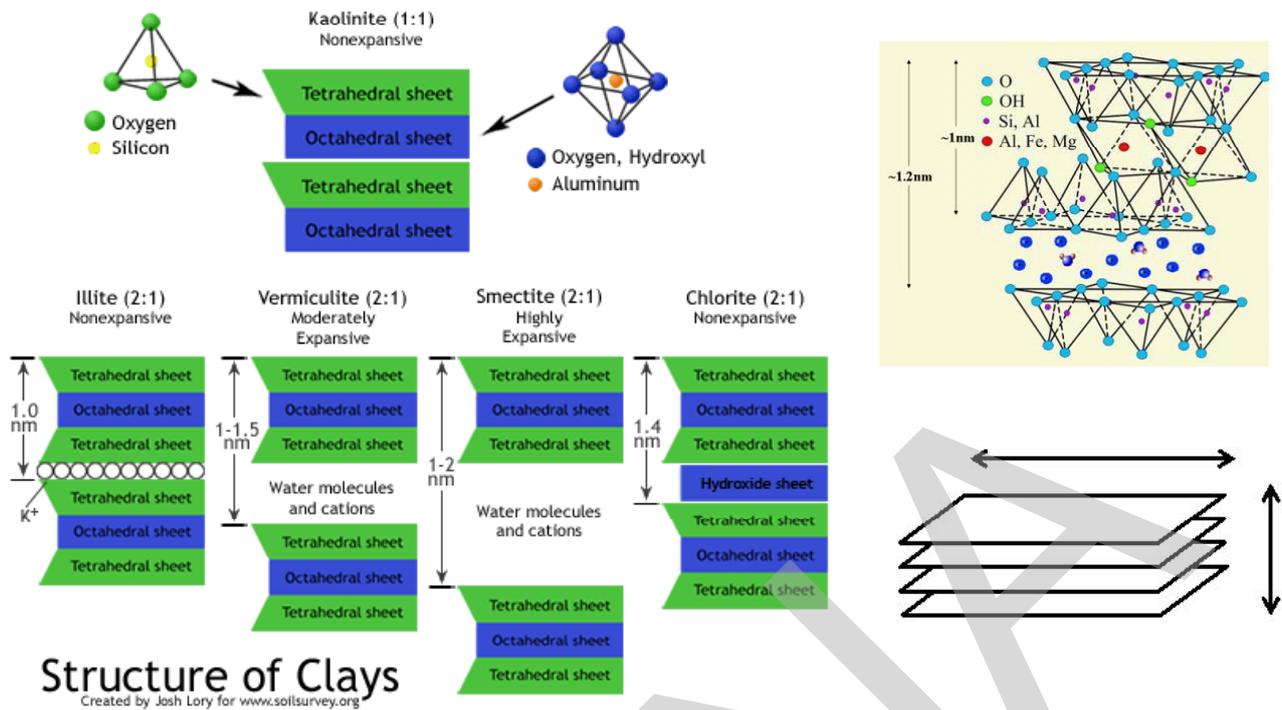


FILOSILICATOS	Arcillas	Laminares	Caolinita (1:1)	Si, Al	10
			Esmectitas (2:1), HSCAS	Si, Al	Ca ²⁺ 100, Na ⁺ 200
SILICATOS NO ARCILLOSOS		Pseudolaminares o Tubulares	Talco (2:1)	Si, Mg	5
			Sepiolita (2:1)	Si, Mg	15-20
TECTOSILICATOS	Zeolitas	Orgánicas	Atapulgita (2:1)	Si, Mg, Al	50
			Volcánicas	Diatomeas	Si
TECTOSILICATOS	Zeolitas	Sintéticas	Perlita/Vermiculita	Si, Al, ...	
			Naturales	Clinoptilolita	Si, Al, Ca, Na, K
Filipsita	Si, Al, Ca, K				
Zeolita A	Si, Al, Ca, Na.				

Clasificación práctica de cara al uso en alimentación animal Basada en Castaing (1998), Guerre (2000) y Whitlow (2006)

M.Gorrachategui 2013

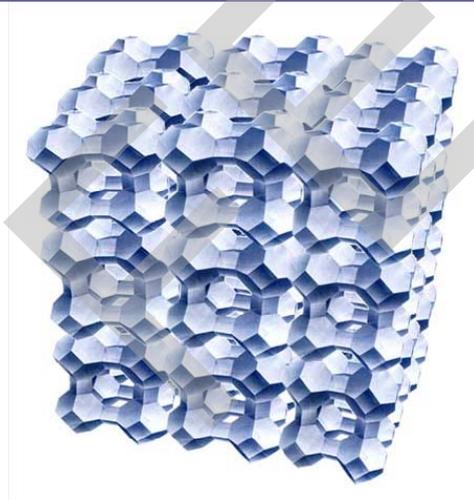
ADSORBENTES: Filosilicatos



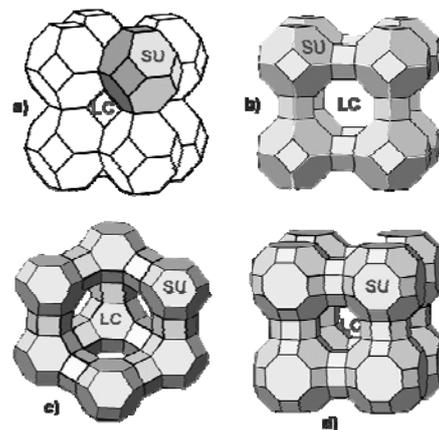
Teserens CI
 En Alimentación Animal

M.Gorrachategui 2013

ADSORBENTES: Zeolitas (tectosilicatos)



Estructura de una zeolita (Walrond, 2013)



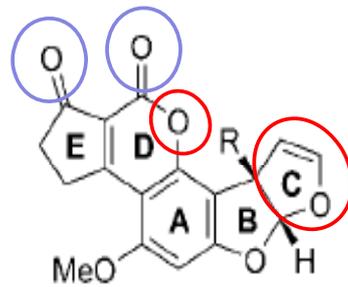
Estructuras de zeolitas construidas a partir de unidades de soldalitas (Langmi & McGrady, 2007)

La sección transversal de los anillos y los canales en las estructuras de las zeolitas puede ser alterada, cambiando el tamaño o la carga (y por lo tanto el número) de los cationes, y esto afecta de manera significativa al tamaño de las moléculas que pueden ser adsorbidas (Smart & Moore, 2005).

Teserens CI
 En Alimentación Animal

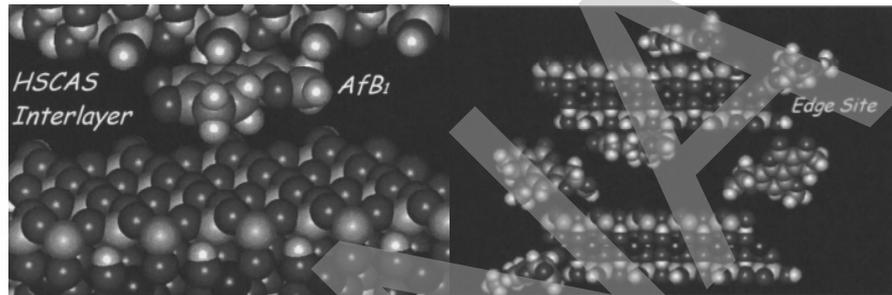
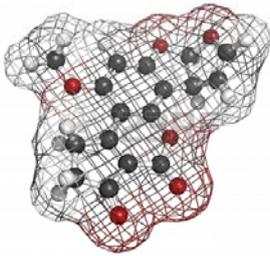


Aspergillus sp. growing on corn kernel (R. Friedrich)



Aflatoxin B₁ (1) R = H
 Aflatoxin M₁ (12) R = OH

Las partes de mayor reactividad y, en consecuencia, de mayor actividad biológica son la fracción dihidro furano con el doble enlace C2 C3, el oxígeno del puente de lactona y los sustituyentes.



Modelos moleculares mostrando la adsorción de AFB₁ en los extremos, superficie e intercapas de HSCAS (Phillips, 1998)

M.Gorrachategui 2013

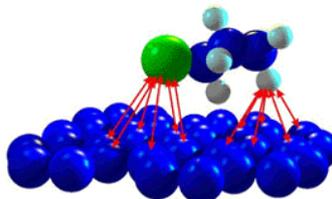
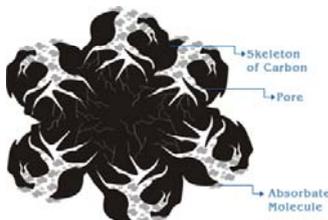
ADSORBENTES: CARBÓN ACTIVO (AC)

Polvo insoluble formado por pirólisis de compuestos orgánicos. **Tiene una superficie de adsorción de 500 a 3500 m²/g.** Bloquea las micotoxinas mediante la formación de enlaces de hidrógeno. Eficacia demostrada *in vitro*.

- ✓ Fuerte potencial de adsorción de otros nutrientes y sustancias que le hace poco específico.
- ✓ Resultados irregulares (Galvano y col., 1996; Diaz y col., 2004).
- ✓ **Poca correlación de resultados *in vivo* vs *in vitro*.**

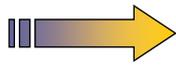
En general, la adsorbabilidad de un compuesto aumenta con:

- ✓ Mayor peso molecular.
- ✓ Mayor número de grupos funcionales, tales como enlaces dobles
- ✓ Mayor polarizabilidad de la molécula.

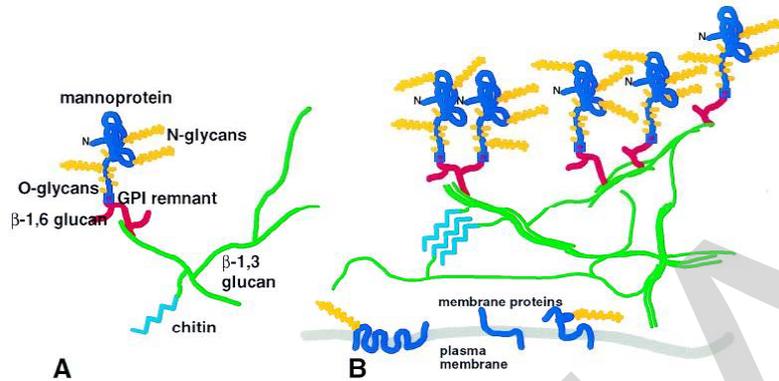


Fuente: Kan-Carbon y Grupo Carbotécnica

ADSORBENTES: PAREDES DE LEVADURAS



Paredes de levaduras, β - Glucanos y Glucomananos : procedentes de las paredes de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*)



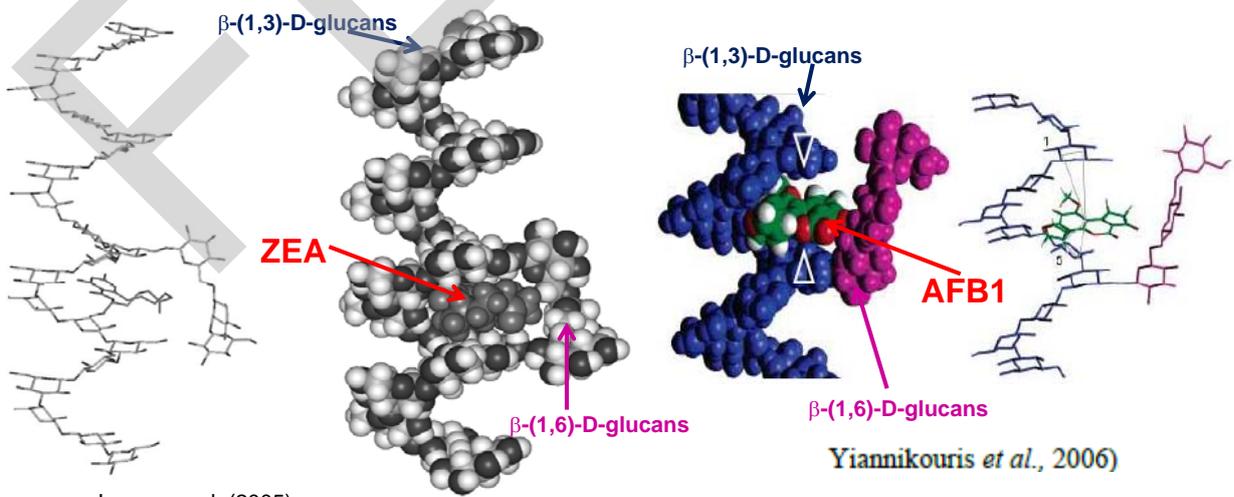
Lipke and Ovalle, (1998)

M.Gorrachategui 2013

ADSORBENTES: PAREDES DE LEVADURAS



β - Glucanos y Glucomananos : procedentes de las paredes de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*)



Jouany y col. (2005).

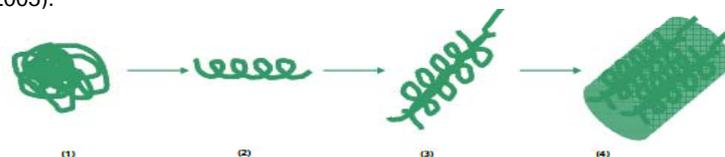
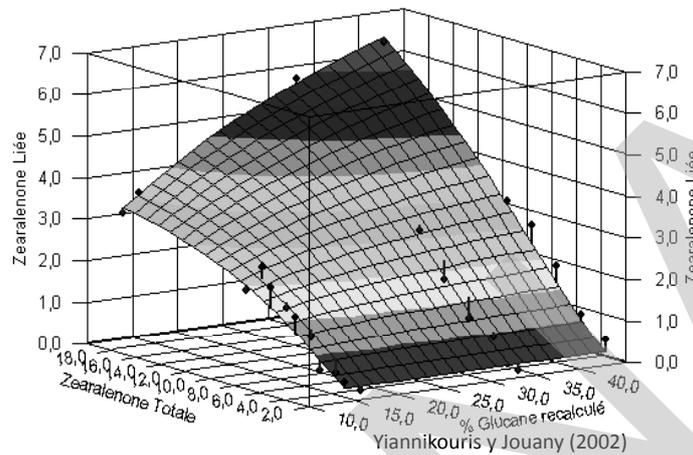


Figure 7. Les conformations des β -glucanes dans l'espace. Structure en pelote (1), simple hélice (2), triple hélices (3) et multimères de triple hélices (4). Firmin y col. (2011).

M.Gorrachategui 2013

Las cadenas de mananos y glucomananos están en la parte externa de la pared celular unidas a las proteínas de la pared (Evans y Dawson, 2000) y forman numerosas zonas de adsorción. La fracción de β -glucanos y el grado de ramificación son de gran importancia en la adsorción de toxinas y no depende del pH (Yiannikouris y Jacques, 2009).



Teserens CI
En Alimentación Animal

M.Gorrachategui 2013



AGENTES BIOTRANSFORMADORES: MICROORGANISMOS

Algunos microorganismos degradan las micotoxinas. Esta estrategia se puede usar para reducir los efectos tóxicos.

BACTERIAS

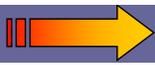
- ✓ **Bacterias Gram + anaerobias:** *Eubacterium* (BBSH 797).
- ✓ **Bacterias Gram + aerobias:** *Nocardia asteroides*, *Corynebacterium* (DSM 11798; 1m01), *Mycobacteria* (DSM 44556T), *Rhodococcus erythropolis*, *Curtobacterium* SP. 114-2.
- ✓ **Bacterias Gram – aerobias:** *Flavobacterium aurantiacum* (NRRL B-184), *Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes*.

HONGOS

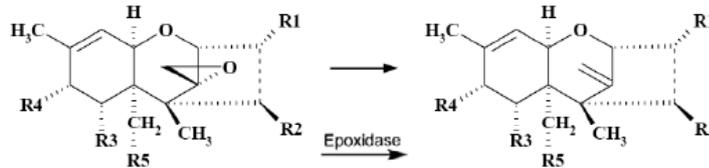
Aspergillus, *Eutium herbariorum*, *Rhizopus*, *Penicillium raistricki*, *Rhinocladiella atrovirens*.

LEVADURAS

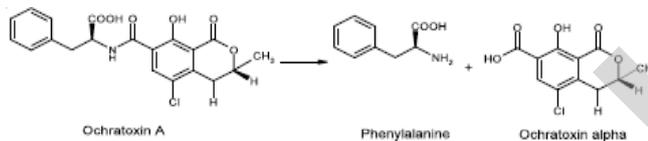
- ✓ *Trichosporon mycotoxinivorans* (microorganismo capaz de degradar la OTA), *Phaffia rhozozyma* y *Xanthophyllomyces dendrorhous*.



➤ Detoxificación de tricotecenos por reducción del anillo epoxi con microorganismo DSM 11798 de la familia *Coriobacteriaceae (1m01)*



➤ Levaduras del género *Trichosporon*, *Rhodotorula* y *Cryptococcus* detoxifican la OTA y ZEA.



Deben ser seguros, estables y sus productos de degradación no tóxicos o menos que las micotoxinas que degradan.

Teserius CI
En Alimentación Animal

M.Gorrachategui 2013



AGENTES BIOTRANSFORMADORES DE MICOTOXINAS: ENZIMAS.

Proteasa A

✓ Obtenida de *Aspergillus niger* (Abrunhosa y col., 2006). Degradan la OTA (Abrunhosa y col., 2006).

Pancreatina

✓ Mezcla de tripsina, amilasa, lipasa y proteasa (Abrunhosa y col., 2006).

Carboxypeptidasa A

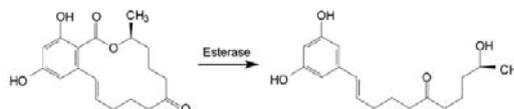
✓ Exopeptidasa pancreática (CPAI enzyme) (Schatzmayr y col., 2006). Pueden degradar OTA (Pitout, 1969).

Epoxidasa

✓ Transforman grupos epóxido en grupos dieno (Schatzmayr y col., 2006).

Esterasas

✓ Rompen el enlace éster de las fumonisinas, p.ej, liberando aminopentol. También ZEA (fig)



Lactonohidrolasa

✓ Catalizan la hidrólisis de los anillos lactona para producir grupos OH y CO. Rompen la ZEA (Takahashi-Ando y col., 2002).

Aflatoxin-detoxifzyme (ADTZ)

✓ Actúa abriendo el anillo difurano

Teserius CI
En Alimentación Animal

ELECCIÓN DE LOS AGENTES DETOXIFICANTES DE MICOTOXINAS

Se deben tener en cuenta aspectos cualitativos y cuantitativos, entre ellos:

- Afinidad
- Capacidad
- Selectividad
- Eficacia

En general se considerará el tipo dominante de interacción.

Además se deben tener en cuenta los estudios experimentales realizados.



TEST IN VITRO

Un producto que no es eficaz *in vitro* tiene escasas o nulas posibilidades de serlo *in vivo*. Pero siendo eficaz *in vitro*, no tiene por qué serlo *in vivo*



TEST IN VIVO

Elegir el modelo más adecuado que debe validarse con un testigo negativo y otro positivo. Pocos estudios de correlación entre los test *in vivo* e *in vitro*. Los Test de toxicocinética son decisivos.

Terrams CI
En Alimentación Animal

RESUMEN DE ESTUDIOS *IN VIVO* (ADSORCIÓN)

	AFLA	OTA	TRICOT	ZEA	FUM	Toxinas ERGOT
Esmectitas	+++	-	-	-	+/-	++
Zeolita	++		-	++		
Diatomeas	+	++				
Carbón activo	+/-	+/-	+/-		+/-	
Fibras		++		++		
Deriv. De paredes levaduras <i>S.cerevisae</i>	++	-	+/-	++		
<i>POSIBILIDADES ADSORCIÓN</i>						

Además están las opciones de BIOTRANSFORMACIÓN

- ✓ Las micotoxinas pueden suponer un problema grave para las producciones y para la Seguridad Alimentaria.
- ✓ Las medidas más eficaces son las que se toman antes de llegar a fábrica.
- ✓ El fabricante de piensos debe tener aplicado un programa de análisis de riesgo en su plan APPCC.
- ✓ La aplicación de sustancias para reducir el riesgo implica conocer lo mejor posible la matriz origen de la contaminación, las micotoxinas presentes y su nivel/niveles.
- ✓ El adsorbente o agente de biotransformación debe elegirse en función de las posibilidades de eficacia y gravedad de la situación. Requiere un estudio previo y un plan de acción pormenorizado.
- ✓ Los estudios *in vivo* son preferibles a la hora de decidir y entre ellos los estudios toxicocinéticos son decisivos.
- ✓ La eliminación de los riesgos exige un seguimiento continuo.