

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS**



**“ESTIMACIÓN DEL GRADO DE EXPOSICIÓN
A FUMONISINAS EN HUMANOS Y POLLOS,
MEDIANTE BIOMARCADORES EN SUERO Y ORINA”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

PATRICIA LANDEROS RAMÍREZ

COMITÉ TUTORAL

DRA. WALDINA PATRICIA REYES VELÁZQUEZ - DIRECTOR

DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN - ASESOR

DR. AGUSTÍN RAMÍREZ ÁLVAREZ - ASESOR

DRA. ROCÍO FLORES BELLO

DR. EFRAÍN PÉREZ TORRES

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL. JULIO DE 2005



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS



COORDINACIÓN DE POSGRADO

COORDINACIÓN DEL POSGRADO INTERINSTITUCIONAL
EN CIENCIAS PECUARIAS
SEDE UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PRESENTE.

Por este conducto nos permitimos enviar la VERSION FINAL DE LA TESIS que desarrolló la pasante del Doctorado en Ciencias Pecuarias de la Universidad de Guadalajara, M. en C. Patricia Landeros Ramírez, cuyo título es:

Estimación del grado de exposición a fumonisinas en humanos y pollos, mediante biomarcadores en suero y orina

Trabajo dirigido por: **Dra. Waldina Patricia Reyes Velázquez**

Los que suscriben la presente avalan esta versión, la cual fue revisada y reúne los requisitos teóricos y metodológicos necesarios.

ATENTAMENTE

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. a 05 Julio del 2005

Dr. Teódilo Quezada Tristán

Dr. Agustín Ramírez Álvarez

Dr. Efraín Pérez Torres

Dra. Roció Flores Bello

Dra. Waldina Patricia Reyes Velázquez

c.c.p. Archivo

*A mis hijos, Andrea y Edgardo
y a Gilberto,
con mucho cariño*

CONTENIDO

	Página
Agradecimientos	i
Abreviaturas	ii
Lista de tablas	iv
Lista de figuras	vi
Resumen	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1. Importancia del maíz en México	3
2.2. Contaminación por micotoxinas	4
2.3. Fumonisinias	7
2.4. Mecanismo de acción de las fumonisinias	9
2.5. Biomarcadores de exposición a fumonisinias	12
2.6. Efectos toxicológicos de las fumonisinias	14
2.6.1. Leucoencefalomalacia en caballos	14
2.6.2. Edema pulmonar en cerdos	15
2.6.3. Efectos tóxicos en aves de corral	15
2.6.4. Asociación con cáncer esofágico en humanos	16
2.6.5. Defectos en tubo neural en recién nacidos	17
2.6.6. Hepatotoxicidad y hepatocarcinogénesis en ratas	17
2.6.7. Promoción en iniciación de cáncer en hígado de ratas	18
2.6.8. Actividad citotóxica en cultivos celulares	18
2.6.9. Fitotoxicidad	19
2.7. Incidencia natural de fumonisinias en el mundo	19
2.8. Estrategias potenciales de descontaminación	25
2.8.1. Métodos de eliminación de micotoxinas en productos agrícolas	28
2.8.2. Uso de sustancias adsorbentes	29

	Página
2.8.2.1. Aluminosilicatos	30
2.8.2.2. Bentonitas sódicas	31
2.8.2.3. Zeolitas	31
2.8.2.3.1. Clinoptilolita	32
2.8.2.4. Manano oligosacáridos	33
2.9. Importancia de la producción avícola en México	35
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37
IV. JUSTIFICACIÓN	39
V. HIPÓTESIS	40
VI. OBJETIVOS	41
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	42
7.1. Estimación de la exposición a fumonisinas por el consumo de tortilla mediante la determinación de los niveles de esfinganina y esfingosina en orina de humanos.	42
7.1.1. Determinación de los niveles de fumonisinas en productos derivados del maíz (tortilla, tostadas, tamales, elote y hojuelas de maíz) en la ZMG.	42
7.1.1.1. Muestreo	42
7.1.1.2. Extracción y cuantificación de fumonisinas	43
7.1.2. Determinación de los niveles de SA y SO, presentes en orina de alumnos del CUCBA, clasificados como grupos de bajo, mediano y alto consumo de tortilla	43
7.1.2.1. Determinación de los niveles de SA/SO en orina	45
7.1.3. Incidencia de cáncer en Jalisco, México (1994-2002)	46
7.2. Evaluación del efecto de adsorbentes incorporados al alimento contaminado con fumonisinas en pollos de engorda	47

	Página
7.2.1.Determinación de los parámetros productivos en pollos de engorda alimentados con dietas experimentales con dos niveles de FBs (75 y 100 mg/Kg) con y sin adsorbentes	48
7.2.1.1. Muestreo	48
7.2.1.2. Parámetros productivos	50
7.2.2.Determinación de la actividad enzimática de AST, ALT, concentración de proteínas y niveles de SA y SO en suero . . .	51
7.2.3. Determinación de proteínas totales y GSH en tejidos	52
7.2.4. Estudio histopatológico	53
7.3. Análisis estadístico	53
VIII. RESULTADOS	54
8.1. Estimación de la exposición a fumonisinas por el consumo de tortilla mediante la determinación de los niveles de SA y SO en orina de humanos	54
8.1.1. Concentración de fumonisinas en productos derivados del maíz (tortilla, tostadas, tamales, elote y hojuelas de maíz) en la ZMG	54
8.1.2. Niveles de SA y SO, presentes en orina de alumnos del CUCBA, clasificados como grupos de bajo, mediano y alto consumo de tortilla	56
8.1.2.1.Determinación de los niveles de SA/SO en orina de alumnos del CUCBA	56
8.1.2.2.Estimación del consumo de fumonisinas en alumnos del CUCBA	57
8.1.3. Incidencia de cáncer en Jalisco, México (1994-2002)	58
8.2. Evaluación del efecto de adsorbentes incorporados al alimento contaminado con fumonisinas en pollo de engorda	62
8.2.1. Parámetros productivos	62
8.2.2. Actividad enzimática de AST, ALT, concentración de proteínas totales y niveles de SA y SO en suero	65

	Página
8.2.3. Proteínas y GSH en hígado y riñón	68
8.2.4. Estudio histopatológico	70
IX. DISCUSIÓN	78
9.1. Estimación del grado de exposición a fumonisinas por el consumo de tortilla mediante la determinación de los niveles de SA y SO en orina de humanos	78
9.1.1. Niveles de fumonisinas en productos de maíz de la ZMG.	78
9.1.2. Relación SA/SO en alumnos del CUCBA	79
9.1.3 Incidencia de cáncer en Jalisco, México	83
9.2. Evaluación del efecto de adsorbentes incorporados al alimento contaminado con fumonisinas en pollos de engorda	83
9.2.1. Efectos en parámetros productivos.	84
9.2.2. Actividad enzimática de AST, ALT, concentración de proteínas totales y niveles de SA y SO en suero	85
9.2.3. Proteínas y GSH en hígado y riñón	88
9.2.4. Estudio histopatológico	90
X. CONCLUSIONES	93
XI. BIBLIOGRAFÍA	95
ANEXO	117

AGRADEZCO

A la Universidad de Guadalajara por brindarme la oportunidad de superarme día con día.

Al Dr. Agustín Ramírez Álvarez, Jefe del Departamento de Salud Pública del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias por todo su apoyo.

A la Dra. Waldina Patricia Reyes Velázquez por la dirección, dedicación e invaluable ayuda en la realización del presente trabajo.

Al Dr. Teódulo Quezada Tristán, un especial agradecimiento por su colaboración y valiosas aportaciones que contribuyeron al enriquecimiento de este trabajo.

A la Dra. Rocío Flores Bello, Dr. Efraín Pérez Torres, miembros del Cuerpo Tutorial, por sus valiosas observaciones y aportaciones al presente trabajo.

A la Dra. Esther Albarrán Rodríguez, Coordinadora del Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias de la División de Ciencias Veterinarias, por su colaboración.

A la Dra. Sofía Chulze, Dra. Adriana Torres, Dra. María Martha Reynoso y M. C Federico Rojo miembros del Dpto. de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina, por su valiosa ayuda.

A la M. C. Yolanda López Illán y M. C. Cecilia Jiménez Plascencia por su gran amistad y su apoyo incondicional.

A mis hermanos, por su apoyo en todo momento.

A la Sra. Ana Luz Torres y MVZ José Gpe. Contreras por brindarme su apoyo.

ABREVIATURAS

AFB ₁	aflatoxina B ₁
AFs	aflatoxinas
ALT	alanino aminotrasferasa
AST	aspartato amino transferasa
CV	coeficiente de variación
CA	consumo de alimento
CE	cáncer esofágico
CUCBA	Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
DON	deoxinivalenol
DTNs	defectos en tubo neural
EA	eficiencia alimentaria
<i>F.</i>	<i>Fusarium</i>
FA ₁	fumonisina A ₁
FA ₂	fumonisina A ₂
FA ₃	fumonisina A ₃
FB ₁	fumonisina B ₁
FB ₂	fumonisina B ₂
FB ₃	fumonisina B ₃
FBs	fumonisinas
FC ₁	fumonisina C ₁
FC ₂	fumonisina C ₂
FC ₃	fumonisina C ₃
FC ₄	fumonisina C ₄
g	gramo
GC	cromatografía de gases
GC-SM	cromatografía de gases acoplada a masas
GDP	ganancia de peso diaria
GSH	glutación
HPLC	cromatografía de líquidos de alta resolución
IC	índice de conversión
IE	índice de eficiencia
IP	índice de productividad
Kg	kilogramo
μg	microgramos
μL	microlitros
μm	micras
mg	miligramos
mL	mililitro
ng	nanogramos
nm	nanómetros
OA	ocratoxina
°C	grados centígrados
p.v	peso vivo

PBS	solución buffer fosfato
PCSC	pared celular de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
PD	punto de desenvolvimiento
ppb	partes por billón
ppm	partes por millón
rpm	revoluciones por minuto
SA	esfinganina
SO	esfingosina
TLC	cromatografía en capa delgada
TDI	consumo diario tolerable
ZEA	zearalenona
ZMG	zona metropolitana de Guadalajara

LISTA DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1	Niveles de fumonisinas ($\mu\text{g/g}$) en alimentos asociados con leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar porcino.	20
2	Niveles de fumonisinas en alimentos para animales	21
3	Niveles de fumonisinas en maíz en áreas rurales de Transkei y China.	22
4	Niveles de fumonisinas en muestras de alimentos a base de maíz para consumo humano	23
5	Niveles de fumonisinas en alimento para consumo humano y animal en Latinoamérica	24
6	Propiedades físico-químicas de la clinoptilolita	32
7	Diseño experimental para la evaluación del efecto del consumo de alimento contaminado con fumonisinas y el uso de adsorbentes. . .	49
8	Formulación de las dietas para los diferentes tratamientos (Kg/ton) de la prueba experimental en pollos de engorda	49
9	Niveles promedio de fumonisinas (mg/Kg) en tortillas de la zona metropolitana de Guadalajara (Febrero 2003 – Enero 2004)	54
10	Niveles promedio de fumonisinas (mg/Kg) en productos de maíz de la zona	56
11	Porcentaje de reducción en los niveles de fumonisinas en nixtamal, masa y tortilla respecto al maíz	57
12	Niveles promedio de SA y SO y Relación SA/SO de acuerdo al sexo, consumo de tortilla y etapas de estudio	58
13	Niveles de micotoxinas en las dietas experimentales para pollos de engorda	62
14	Niveles promedio de los parámetros productivos al término de la prueba experimental con los pollos de engorda	64

		Página
15	Actividades enzimáticas promedio de AST, ALT y proteínas totales en suero de pollos	66
16	Niveles de SA y SO y relación SA/SO determinados en suero sanguíneo de pollos	67
17	Valores de Proteínas (mg/100mg de tejido) en hígado y riñón de pollo a los 7 y 21 días post-exposición a fumonisinas en los diferentes tratamientos	68
18	Niveles de glutatión reducido ($\mu\text{g/g}$ de tejido) en hígado y riñón de pollos a día 7 y 21 post-exposición a fumonisinas	70
19	Histopatológicos de hígado y riñón al día 7 post-exposición a fumonisinas en los pollos de engorda	75
20	Histopatológicos a los 21 días post-exposición a fumonisinas en hígado y riñón de pollo de engorda	76

LISTA DE FIGURAS

Figura	Descripción	Pág.
1	Estructura química de las fumonisinas	7
2	Biosíntesis “ <i>de novo</i> ” de los esfingolípidos	11
3	Inhibición del metabolismo de los esfingolípidos por FB ₁	11
4	Niveles de fumonisinas (mg/Kg) en tortillas de la zona metropolitana de Guadalajara determinados de Febrero de 2003 a Enero de 2004	55
5	Número de casos de tumores malignos en Jalisco, México (1994-2002)	60
6	Número de casos de tumores malignos de los órganos del tubo digestivo en Jalisco, México (1994-2002)	61
7	Fotomicrografía de tejido hepático de pollo del grupo control	72
8	Fotomicrografía de tejido hepático de pollo del grupo que consumió FBs (100 mg/K)	72
9	Fotomicrografía de tejido renal de pollo del grupo control	73
10	Fotomicrografía de tejido renal de pollo del grupo que consumió FBs (100 mg/Kg)	74

RESUMEN

Las fumonisinas son micotoxinas que contaminan con frecuencia el maíz y productos derivados de éste, lo que se relaciona con trastornos en la salud en humanos y animales. De los métodos más recientes propuestos para la prevención de micotoxicosis en animales, se encuentra el uso de adsorbentes que se adicionan a los alimentos así como el uso de biomarcadores que detecten la exposición temprana a dichas toxinas. Los objetivos de este estudio fueron estimar el grado de exposición a fumonisinas por consumo de maíz mediante la determinación de esfinganina (SA) y esfingosina (SO) en orina (biomarcadores de daño primario) en alumnos del CUCBA, valorar la contaminación de fumonisinas en productos de maíz de la zona metropolitana de Guadalajara (ZMG) y evaluar la eficiencia de dos adsorbentes de micotoxinas en dietas de pollo de engorda contaminadas experimentalmente con fumonisinas (FBs). Para el estudio de los biomarcadores de exposición a fumonisinas se procedió a realizar una encuesta preliminar a alumnos del CUCBA, a partir de la cual se seleccionaron 38 voluntarios categorizados de bajo, mediano y alto consumo de tortillas y se analizaron muestras de orina mediante la técnica descrita por Solfrizzo y col., (1997a), determinándose los niveles de SA y SO al inicio de la prueba (Etapa A), después de la restricción del consumo de productos de maíz (Etapa B) y al retorno de la dieta normal (Etapa C). Para la prueba experimental en pollos, se seleccionaron 162 pollos de engorda Ross machos, de $44 \text{ g} \pm 1.2$ peso promedio, distribuidos aleatoriamente en 9 tratamientos que incluyeron dos niveles de FB_1 (75 y 100 mg/Kg) y dos adsorbentes (clinoptilolita y manano oligosacáridos). Se evaluaron los parámetros productivos y determinó la actividad enzimática de AST, ALT, proteínas totales, esfingosina (SA) y esfingosina (SO) en suero; proteínas totales, glutatión reducido y estudio histopatológico en tejido hepático y renal. Los resultados fueron sometidos a un ANOVA y a la prueba Tukey mediante el paquete estadístico SAS (1996). Los niveles promedio detectados de fumonisinas en los productos de maíz fueron en elote, tostadas, tamales, tortillas y hojuelas de maíz de 4.62, 2.3, 2.41, 1.9 y 1.7 mg/Kg, respectivamente. Las determinaciones de los niveles de SA y SO en suero no mostraron diferencia estadística ($p > 0.05$) entre sexos y por nivel de consumo de tortilla, sin embargo se observó aumento significativo ($p < 0.01$) en la relación SA/SO en las etapas donde hubo consumo de productos de maíz, siendo de 1.19 en la Etapa A, 0.98 en la Etapa B y 1.08 en la Etapa C. La estimación del consumo diario de fumonisinas fue de 2.75 a 7 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$, niveles que superan el consumo diario tolerable (TDI) de 2 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$ para humanos de acuerdo a lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (2001), confirmado por el Comité Europeo Científico en Alimentos (2003). De acuerdo a la contaminación por fumonisinas encontrada en los productos de maíz analizados, así como por la alteración de la relación SA/SO en orina, se concluye que existe riesgo de exposición a fumonisinas en los voluntarios. Respecto a la prueba experimental en pollos, los tratamientos no mostraron efecto sobre los parámetros productivos. Se observó aumento significativo de la actividad enzimática de AST y en la relación SA/SO en los grupos expuestos a FB_1 . El estudio histopatológico mostró daño tisular moderado. Se puede concluir que los niveles evaluados de fumonisinas inician el daño a nivel celular detectado por la alteración de la relación SA/SO, sin que se aprecien efectos toxicológicos severos en órganos, por lo que se consideró a la relación como un biomarcador sensible de exposición a FB_1 en pollos de engorda. El uso de clinoptilolita y de manano oligosacáridos como adsorbentes de micotoxinas en las dietas de pollo de engorda contaminadas con fumonisinas a 75 y 100 mg/Kg no mostraron beneficio relevante.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz en México representa la base de la alimentación para la población y además es utilizado en gran proporción en dietas balanceadas para animales. Durante el cultivo, el maíz está expuesto a diversos factores bióticos (insectos, bacterias, hongos) y abióticos (sequías, inundaciones) que afectan su calidad y rendimiento. Entre los factores bióticos, es de relevancia la infección por hongos fitopatógenos y potencialmente productores de micotoxinas (González, 1995).

Las fumonisinas, micotoxinas caracterizadas por Bezuidenhout y col. (1988) son detectadas en el maíz durante el cultivo y en el almacenamiento, reportándose contaminación en diversos subproductos a base de maíz. Son responsables de la leucoencefalomalacia equina y del edema pulmonar porcino, en aves pueden producir efectos adversos, tales como reducción de la ganancia de peso, inmunosupresión y anormalidades en el esqueleto además de estar estrechamente relacionadas con la alta incidencia de cáncer esofágico humano en algunas regiones de Sudáfrica, China y la India, donde el maíz representa la base de la alimentación (Riley y col., 1993b).

En México el consumo de maíz y productos como las tortillas es elevado, se reporta un consumo per cápita de 320 g/día, por lo que se considera que existe alto riesgo de exposición de la población a fumonisinas (Reyes y col., 1997), en tanto que en explotaciones pecuarias el maíz es la segunda fuente energética en las dietas de animales después del sorgo, por lo que la presencia de fumonisinas puede ocasionar pérdidas económicas por los efectos sobre parámetros productivos y por el daño a la salud en determinadas especies animales (Osweiler, 2000).

El uso de biomarcadores que detecten la exposición temprana a dichas toxinas, se fundamenta en el mecanismo de acción de las fumonisinas debido a que la alteración del metabolismo de los esfingolípidos puede ser detectada en suero, tejidos y orina, antes de que se observen signos clínicos característicos de micotoxicosis.

La disponibilidad de biomarcadores que revelen la exposición a fumonisinas previo a la manifestación de los efectos clínicos permitirá conducir estudios útiles para reducir el riesgo de exposición en humanos y animales, asociado con la ingestión de alimentos contaminados con la micotoxina.

Puesto que en México no se han realizado estudios que permitan valorar la relación esfinganina/esfingosina (SA/SO) de la población, la cual basa su alimentación en productos derivados de maíz, el presente trabajo pretende estimar el grado de exposición a dichas fumonisinas en un grupo de alumnos del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA).

De los métodos más recientes propuestos para la prevención de micotoxicosis se encuentra el uso de adsorbentes que se adicionan a los alimentos balanceados para animales durante el proceso de elaboración, estas sustancias actúan posteriormente secuestrando las toxinas en el tracto gastrointestinal y reduciendo la biodisponibilidad de las mismas.

En la actualidad el uso de biomarcadores moleculares del daño celular de las micotoxinas, como lo es la relación de SA/SO en suero, puede ser una herramienta útil para valorar la efectividad de la inclusión de adsorbentes, ya que es considerado un método sensible de la exposición a fumonisinas en animales.

II. ANTECEDENTES

2.1. Importancia del maíz en México

El cultivo del maíz se originó probablemente en América Central y en México, de ahí se dispersó hacia el norte hasta Canadá y al sur hasta Argentina. Algunas investigaciones arqueológicas registraron maíz de 7,000 años de antigüedad en Teotihuacan, México, pero es posible que hubiera otros centros secundarios de origen en América. El maíz fue esencial para las civilizaciones Maya y Azteca y tuvo un rol importante en sus creencias religiosas, festividades y nutrición. Para los indios americanos la palabra maíz significaba literalmente “causa de vida”.

Botánicamente, el maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia de las gramíneas. Es una planta anual con un sistema de raíces fibrosas e inflorescencias masculinas y femeninas separadas, aunque se forman sobre la misma planta. El fruto de la planta del maíz se llama comercialmente grano, botánicamente es un cariósipide y agrícolamente se le conoce como semilla (Reyes, 1990). Las semillas son blancas o amarillas, también pueden encontrarse algunas negras, rojas o mezclas de colores. La planta de maíz puede ser definida como un sistema metabólico cuyo producto final es principalmente el almidón depositado en órganos especializados, como semillas de maíz (Tanaka y Yamaguchi, 1972).

El maíz, es uno de los cereales más importantes del mundo, suministra elementos nutritivos a los seres humanos y a los animales, es el único cereal importante nativo del hemisferio occidental y originario de México, representa el 5.4 % del total de las fuentes alimenticias de la población humana (González, 1995).

Entre los países con mayor volumen de producción en maíz se encuentran: Estados Unidos, China, Brasil, México y Argentina. En México, el maíz representa el 43% de la superficie cultivada; por su volumen de producción, área cultivada y valor de producción, es el cultivo más importante. En 2002, la producción maicera en la República Mexicana se concentró en

Jalisco, Estado de México, Chiapas y Michoacán, que tradicionalmente aportan el 78% de la producción nacional cada año (SAGARPA, 2004).

Las siembras de maíz en México ocupan una superficie de casi 8 millones de hectáreas con una producción aproximada de 14 millones de toneladas, representa aproximadamente el 50% del volumen total del alimento de consumo en México y proporciona a la población la mitad de las calorías requeridas (SAGARPA, 2004). Del maíz total utilizado 59.5% se consume en tortillas, un 4.7% es procesado por la industria almidonera y el 35.8% se destina a otros usos como: alimento animal, semillas, etc (González, 1995).

Las prácticas productivas y comerciales en el mundo, ubican al maíz como principal grano destinado al consumo pecuario (SAGARPA, 2004). En México el 72% del total de producción de maíz se destina para consumo humano mientras que en Estados Unidos es aproximadamente el 10%. El consumo per cápita se calcula en 320 g/día que aportan el 56% de las calorías y el 47% de las proteínas en la alimentación del mexicano, en las áreas rurales estos porcentajes son del 76% y 56% respectivamente (González, 1995).

El maíz y sus derivados contienen casi todos los nutrientes en mayor o menor cantidad y su composición cambia según la variedad y otros factores ambientales. Los tipos de maíz que se producen en México reportan una composición promedio del 70% de hidratos de carbono, 8% de proteínas, 4% de grasa, 4 % de minerales y 3% de celulosa. Existen sin embargo, grandes variaciones en el contenido y calidad de la proteína entre los diferentes tipos de maíz (Pérez, 1996).

2.2. Contaminación por micotoxinas

Los hongos filamentosos han evolucionado para lograr una utilización más eficientes de los sustratos sólidos, por medio de un crecimiento en la superficie y penetración en la matriz sólida. Estos organismos son capaces de secretar enzimas que desdoblan macromoléculas complejas en compuestos menores los cuales son utilizados para su crecimiento y metabolismo, además pueden absorber nutrientes de bajo peso molecular y también secretar

metabolitos secundarios, los cuales son compuestos de bajo peso molecular que no están asociados al proceso de crecimiento (Moss, 1996).

Los tres géneros fúngicos que aparecen como los mayores productores de micotoxinas son: *Aspegillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. La mayoría de las especies productoras de micotoxinas son saprófitas, unas pocas son patógenos facultativos de plantas (Kale y Bennet, 1992).

Por definición podemos decir que las micotoxinas son compuestos orgánicos biológicamente activos que pueden causar problemas de intoxicaciones agudas, subagudas o crónicas. De acuerdo al órgano que atacan las micotoxinas o las manifestaciones patológicas que causan, pueden distinguirse en carcinogénicas, mutagénicas, hepatotóxicas, nefrotóxicas, neurotóxicas y toxicidad dérmica (Task, 1989).

Las intoxicaciones de los animales y el hombre asociadas con los alimentos han sido reconocidas o sospechadas durante siglos, sin embargo la implicación de los metabolitos producidos por hongos (micotoxinas) se reconoció en 1960 con el descubrimiento de las aflatoxinas (AFBs) (Asplin y Carnaghan, 1961), sin embargo establecer que una toxina específica es la causante de una micotoxicosis en una tarea bastante difícil (Prelusky y col., 1994).

Tanto la materia prima como los subproductos destinados a la alimentación humana o animal pueden estar expuestos a la contaminación fúngica. La naturaleza y el grado de contaminación con hongos toxicogénicos determinará la presencia o ausencia de micotoxinas en el producto. La identificación de los hongos contaminantes por sí sola, tiene un valor limitado en el diagnóstico de las micotoxicosis, ya que las conclusiones finales sólo pueden ser obtenidas una vez realizadas la extracción y la identificación de las toxinas debido a que: a) La presencia del hongo no asegura que haya producido la toxina, b) Una toxina determinada puede persistir en un producto aunque el hongo no esté presente, c) Un hongo puede ser capaz de producir más de un tipo de toxina, d) La producción de una micotoxina en particular, depende de factores biológicos, químicos y físicos y e) Una toxina dada puede ser producida por más de un género fúngico.

Es importante destacar que la presencia de un hongo toxicogénico en un alimento es, sin duda un llamado de atención de peligro de encontrar micotoxinas (Smith y Moss, 1985). Entre los sustratos más apropiados para la biosíntesis de micotoxinas figuran los productos de origen vegetal (cereales y oleaginosas), ricos en proteínas y calorías, que constituyen un valioso aporte a la dieta de gran parte de la población mundial. El crecimiento fúngico y la producción de las toxinas pueden ocurrir en los granos durante su desarrollo en la planta durante el almacenamiento o en cualquier otro punto de la cadena alimentaria.

El impacto de las micotoxinas en la salud humana y animal es actualmente reconocido y se estima que las mismas causan graves pérdidas económicas estimadas en millones de dólares en todo el mundo (van Egmond, 1995; Peraica y col., 1999). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación estima que, cada año, el 25% de la producción agrícola destinada a alimentos es afectada por las micotoxinas, ello se traduce para los productores de granos: en un aumento de los costos en menor rendimiento, menor valor nutritivo e incremento en los costos de transporte; para los ganaderos: menor rendimiento de los animales, problemas en la reproducción, aumento en la incidencia de enfermedades, gasto en personal veterinario, aumento en los costos de descontaminación y pérdida en los mercados; para los distribuidores: incremento en los costos de procesos tales como secado, destoxificación y capacidad de almacenamiento y para los industriales: pérdida de producto, costos de supervisión y análisis de micotoxinas en los productos (Postupolski y col., 1999; Osweiler, 2000; Hussein y Brasel, 2001).

En las explotaciones pecuarias las pérdidas económicas son importantes debido al efecto subclínico de las micotoxinas en los animales, los cuales se manifiestan especialmente sobre los parámetros productivos como son el consumo de alimento, la ganancia de peso y la conversión alimenticia, entre otros. Las principales micotoxinas involucradas en la alimentación de aves son AFs, ocratoxinas (OAs), deoxinivalenol (DON), toxina T-2 y las fumonisinas (FBs) (Weibking y col., 1993; Espada y col., 1994; Kubena y col., 1997).

2.3. Fumonisininas

Las FBs son una familia de toxinas descubiertas en 1988. El aislamiento y caracterización se inició debido a la muerte de numerosos caballos por leucoencefalomalacia principalmente en Nueva Caledonia (Francia) y por la elevada incidencia de cáncer esofágico en Sudáfrica. El alimento ingerido por los caballos estaba contaminado con *Fusarium verticillioides*. Dos grupos independientes, uno en Sudáfrica y otro en Nueva Caledonia, aislaron fumonisina B₁ (FB₁), la más abundante de las fumonisinas, a partir de dicho alimento. El grupo de Sudáfrica fue el primero en aplicar sus resultados en 1988, también describieron otras tres fumonisinas: fumonisina B₂ (FB₂), fumonisina A₁ (FA₁) y fumonisina A₂ (FA₂) (Bezuidenhout y col., 1988). Químicamente dichas toxinas son una serie de amino-polioles de cadena larga (20 carbonos) esterificados en los carbonos 14 y 15 con dos grupos de ácidos tricarbóxicos (figura 1). Se han identificado hasta la fecha diez fumonisinas: FB₁, FB₂, FB₃, FA₁, FA₂, FC₁, FC₂, FC₃ Y FC₄; de éstas sólo las de la serie B y C han sido confirmadas como contaminantes naturales. La serie A consiste en N-acil derivados, las cuales se forman durante el proceso de purificación (Plattner y col., 1992; Seo y Lee, 1999).

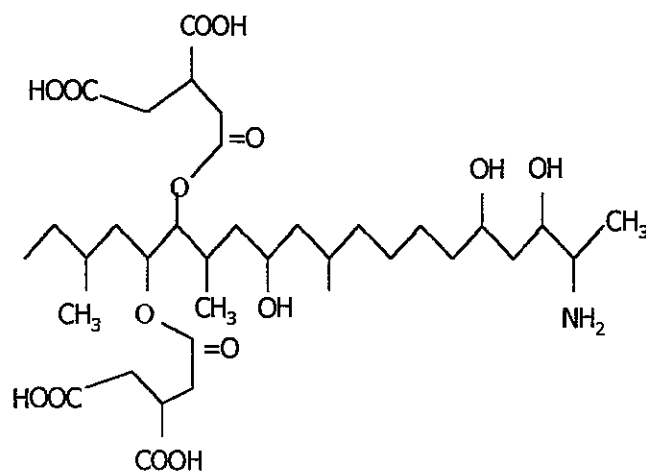


Figura 1. Estructura química de la Fumonisinina B₁ (Cawood y col., 1991)

Se han aislado muchas cepas de *F. verticillioides*, capaces de producir fumonisinas no sólo a partir de maíz y alimentos balanceados a base de maíz sino de otros sustratos como sorgo y milo (Gelderblom y col., 1988a; Ross y col., 1990; Visconti y Doko, 1994). Algunas especies de *Fusarium* Sección *Liseola* (*F. proliferatum*, *F. anthophilum* y *F. globosum*) son capaces también de producir fumonisinas (Chelkowsky y Lew, 1992; Nelson y col., 1992; Sydenham y col., 1997). Sin embargo, *F. subglutinans* es productor de bajos niveles o no productor de la toxina (Nelson y col., 1992). Especies relacionadas con la Sección *Liseola* recientemente descritas como *F. dlamini*, *F. napiforme* y *F. nygamai* son productoras de FBs (Thiel y col., 1991a; Nelson y col., 1992). Chen y col. (1992) observaron producción de FB₁ por *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*.

Las FBs son compuestos altamente polares, lipofóbicos, extremadamente solubles en agua y acetonitrilo:agua, solubles y no estables en metanol, insolubles en solventes no polares (Murphy y col., 1993). La FB₁ es estable al calor, por ejemplo, el calentamiento a temperatura de ebullición durante 30 minutos seguido de un secado a 60°C por 24 hrs no causa cambios en la concentración (Alberts y col., 1990), se recuperó cerca de un 40% de FB₁ y FB₂ cuando se calentó harina de maíz a 190°C pero a temperaturas superiores la pérdida fue total (Scott y Lawrence, 1992).

Las FBs no presentan fluorescencia, son fácilmente volatilizadas (Riley y col., 1993b), estas toxinas pueden ser purificadas a partir de material de cultivo (con bastante dificultad) como un polvo blanco, hasta la fecha no ha sido posible cristalizarlas (Cawood y col., 1991).

Al presente poco se conoce acerca de la estereometría de las FBs, sin embargo, su estructura química hace suponer un gran número de estereoisómeros posibles. Como a las bases esfingoides, a las cuales ellas se asemejan, algunos isómeros pueden ser biológicamente activos y algunos inactivos en varios sistemas (ApSimon y col., 1994).

Una gran variedad de métodos analíticos se han desarrollado para la detección y cuantificación de las FBs en diferentes sustratos que incluyen: cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) (Sydenham y col., 1990; Scott y Lawrence, 1992; Stack y Eppley, 1992),

cromatografía en capa delgada (TLC) (Rottinghaus y col., 1992), métodos inmunológicos como ELISA (Usleber y col., 1994), cromatografía gaseosa (GC) (Jackson y Bennet, 1990; Sydenham y col., 1990), cromatografía gaseosa acoplada a masas (GC-SM) (Voss y col., 1989; Jackson y Bennet, 1990; Wilson y col., 1990). Debido a que las FBs no poseen un grupo cromóforo, la mayoría de los métodos analíticos dependen de una derivatización previa con fluorocromos como oftadialdehído (OPA) (Shephard y col., 1990; Stack y Eppley, 1992), dicarboxaldehído naftaleno (NDA) (Bennet y Richard, 1994), fluorescamina (Sydenham y col., 1990; Rottinghaus y col., 1992), 4-fluoro-7-nitrobenzofurazan (Scott y Lawrence, 1992), isotiocianato de fluoresceína (Maragos, 1995).

2.4. Mecanismo de acción de las fumonisinas

Diferentes mecanismos de acción han sido propuestos para explicar todas o algunas de las enfermedades provocadas por las FBs en animales. Dos de ellos involucran la interrupción en el mecanismo lipídico como un evento molecular inicial. Existen también varios estudios basados en la hipótesis de que las FBs inducen cambios en las enzimas involucradas en el ciclo de regulación, diferenciación y/o apoptosis celular como ciclo de acción inicial o secundario (Lim y col., 1996).

Las FBs son similares en su estructura a SA y SO, bases esfingoides involucradas en la biosíntesis de los complejos ceramida y esfingolípidos. Wang y col. (1991) propusieron, a partir de esta observación, un posible mecanismo de acción de estas micotoxinas a través de la interrupción de la biosíntesis de esfingolípidos.

Las FBs mostraron "*in vitro*" una inhibición tipo competitiva con los sustratos de la enzima ceramida sintetasa (esfinganina y ácidos grasos-CoA). La enzima es responsable de la acilación de esfinganina como así de la reacilación de esfingosina (Merril y col., 1996). Durante la "biosíntesis *de novo*" de los esfingolípidos, el primer paso enzimático ocurre en el retículo endoplásmico (RE), donde la serina se condensa junto a palmitoil-CoA a través de la enzima serina palmitoiltransferasa para formar 3-cetoesfinganina (Ksa), para producir por reducción SA. Posteriormente la acilación de SA es realizada por la enzima N-aciltransferasa

de esfinganina (cerámida sintasa), que utiliza varios ácidos grasos unidos a CoA. La adición del grupo principal correspondiente (por ejemplo, fosforilcolina, glucosa galactosa, y cientos de polisacáridos más complejos) ocurre en el aparato de Golgi. Los eventos que conducen a la adición del doble enlace 4-5 trans presente en las esfingosinas no son claros, aunque se conoce que es posterior a la acilación del grupo amino. Por lo tanto, la SO libre no es un intermediario del camino biosintético. El proceso de degradación involucra la hidrólisis (ocurrida en lisosomas, endosomas y membrana plasmática) de los esfingolípidos complejos con la formación de SO, pudiendo ser reacilada o fosforilada (SO-P) y, posteriormente el SO-P es reducido en aldehído graso y fosfato etanolamina. Finalmente, éste es incorporado a fosfatidiletanolamina (PE) (Merril, 1991; Rother y col., 1992).

Un significativo aumento de SA (entre otras bases esfingoides de cadena larga) es producido poco después de la exposición de cultivos celulares o animales de experimentación a FBs. Parte es metabolizado por células y el resto es liberado desde tejidos a suero y orina. La reacilación de SO libre también podrá verse bloqueada en presencia de FBs, produciendo un incremento en la concentración de SO libre, aunque menor comparado con el de SA (Riley y col., 1994). A consecuencia de tal exposición, se observa una formación reducida de esfingolípidos complejos y un significativo incremento de la concentración intracelular de esfinganina y de la relación esfinganina/esfingosina ($SA/SO > 1$). La consiguiente acumulación de esfinganina resulta citotóxica e inhibitoria del crecimiento celular (figuras 2 y 3).

Puesto que la presentación de SO libre en células de mamíferos es siempre producto del catabolismo de esfingolípidos y la presencia de SA libre son intermediarios de la ruta biosintética *de novo* de esfingolípidos, ambos grupos esfingoides se encuentran siempre en concentraciones bajas en células sanas. Por lo que elevadas concentraciones pueden afectar el crecimiento de las células y dañar su integridad (Merril y col., 1993; Merrill, 1991), lo que ha sido asociado con defectos genéticos en la biosíntesis de esfingolípidos.

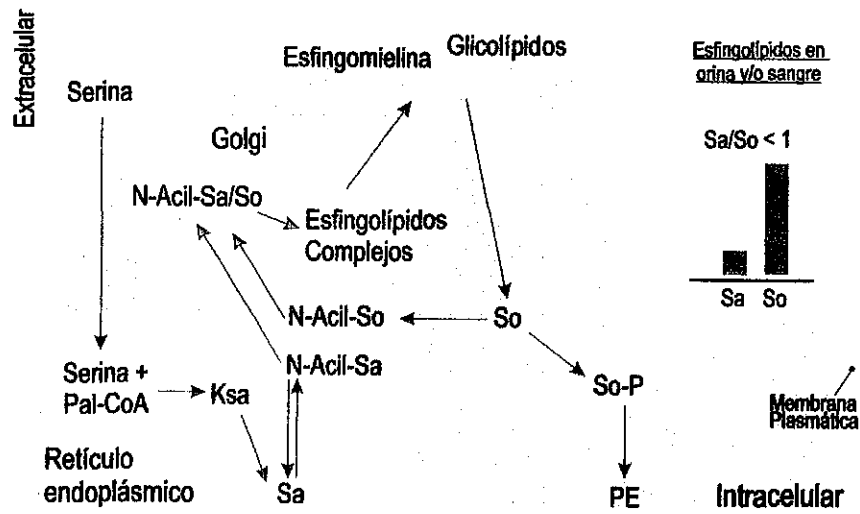


Figura 2. Biosíntesis "de novo" de los esfingolípidos

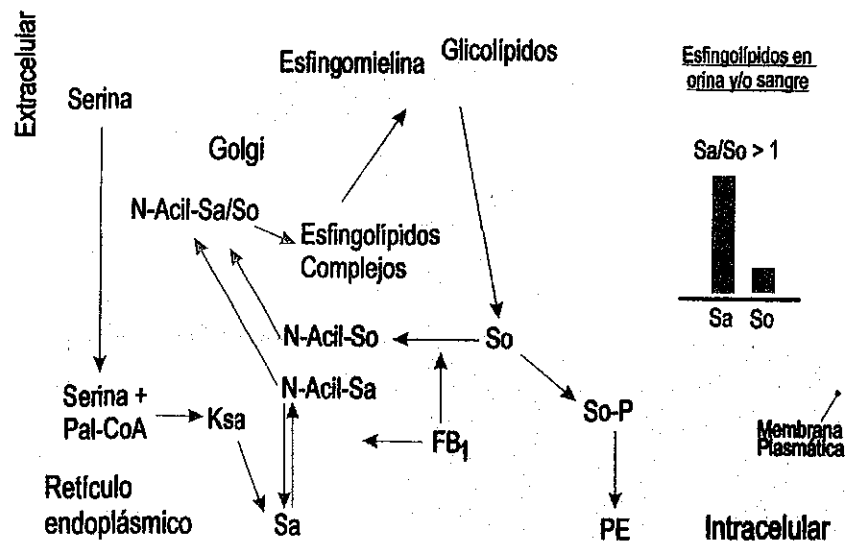


Figura 3. Inhibición del metabolismo de los esfingolípidos por FB₁

En resumen hasta ahora se ha demostrado que algunas de las consecuencias de la inhibición de la esfinganina (esfingosina) N-aciltransferasa por las fumonisinas en estos modelos celulares son: a) inhibición de la biosíntesis *de novo* de SO; b) acumulación de SA libre (Wang y col., 1991; Yoo y col., 1992); c) depleción del complejo esfingolípido (Merril y col., 1993; Wang y col., 1991); d) incremento de los productos de degradación por el catabolismo de las bases esfingoides (Merril, 1991; Merrill y col., 1993); e) incremento de productos lipídicos derivados del aumento de productos de degradación de las bases esfingoides (Smith y Merrill, 1993) y f) incremento de esfingosina libre (Yoo y col., 1992; Merrill y col., 1993) posiblemente por la inhibición de la reacilación de la esfingosina derivada tanto de la dieta o del catabolismo de esfingolípidos.

Debido que en cultivos celulares la relación de SO libre con SA libre demostró ser un marcador dimensional de la alteración del metabolismo de esfingolípidos por las FBs, se hipotetizó que la alteración en el metabolismo de esfingolípidos en hígado (u otros órganos) de animales que consumen FBs o alimentos contaminados con dicha micotoxina pudiera ser detectada por el incremento de la relación SA/SO libres en suero. Esta hipótesis fue probada en una serie de estudios utilizando suero y tejidos obtenidos de ponies, cerdos, pollos y ratas (Wang y col., 1992; Haschek y col., 1993; Weibking y col., 1993; Voss y col., 1995).

2.5. Biomarcadores de exposición a fumonisinas

El estudio de la toxicocinética de la FB₁ demostró que es eliminada rápidamente del suero en monos vervet, esta eliminación rápida así como la baja disponibilidad y la escasez de los principales metabolitos, implica que la medición directa de fumonisinas en suero no sería un biomarcador apropiado de la exposición de dichas micotoxinas (Shephard y col., 1994).

Basados en el mecanismo de toxicidad de las FBs descrito previamente, algunos investigadores han sugerido que el incremento en la relación SA/SO en tejidos, suero y orina sería un adecuado biomarcador de exposición crónica y aguda a las fumonisinas (Wang y col., 1992; Merrill y col., 1993, Qui y Liu, 2001).

Numerosos estudios desarrollados en varias especies animales que consumieron raciones contaminadas con FBs, establecieron que la relación SA/SO es un potencial biomarcador de la exposición a dichas micotoxinas. En estos estudios, SA y SO fueron determinados en plasma, orina y varios tejidos, observándose elevación de la relación SA/SO debido a la inhibición de la enzima clave de la biosíntesis de esfingolípidos, la ceramida sintetasa. Sin embargo, la mayoría de estos estudios, han utilizado niveles de exposición a FBs relativamente altos, con el propósito de investigar la respuesta patológica por la ingestión de FBs. Por ejemplo, Wang y col. (1992) describieron la elevación de la relación SA/SO en ponies con niveles de 22,000 y 44,000 μg de FB_1/Kg de alimento. Subsecuentemente, la alteración del metabolismo de esfingolípidos fue demostrada por la elevación de la relación detectada en suero de cerdos alimentados con 1,500 μg de FB_1/Kg de peso vivo por día (Haschek y col., 1993), en suero y orina de conejos alimentados con 1,000 μg de FB_1/Kg de peso vivo/día (Gumprecht y col., 1995) y en el suero de ratas alimentadas con 13,600 μg de FB_1/Kg de peso vivo/día (Voss y col., 1995).

Estudios recientes en primates no humanos (monos vervet) expuestos a altos y bajos niveles de material cultivado con *F. verticillioides* mostraron elevación significativa en suero de las relaciones promedio de SA/SO, que fueron de 0.43 en los controles, 1.72 en los animales con dosis bajas (300 μg de FBs/Kg de peso vivo/día) y de 2.57 en los que recibieron dosis altas (800 μg de FBs/Kg de peso vivo/día) (Shephard y col., 1996b). Determinaciones simultáneas de las bases esfingoides en orina, mostraron relaciones de 0.87 en controles y de 1.58 y 2.17 en los grupos experimentales de dosis bajas y altas de FBs respectivamente, sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas debido a la amplia variación dentro de cada grupo.

A diferencia de los biomarcadores de los aductos de AFs, los cuales sólo se presentan en animales o humanos expuestos a las toxinas, la relación SA/SO tiene un nivel normal en animales (control) no expuestos a FBs, así la sensibilidad de la relación SA/SO en suero y orina como biomarcador de la exposición a dicha toxina es diferente entre las diversas especies animales.

En humanos se han realizado pocos estudios, entre los que cabe destacar los realizados por Castegnaro y col. (1996), quienes reportan una relación SA/SO en orina de 0.4 a 0.6 en un grupo de 14 mujeres, mientras que en hombres los niveles detectados fueron bajos, lo que impidió determinar la relación. Por otra parte, Solfrizzo y col. (1997a) determinaron en Italia una relación promedio de SA/SO de 0.29 en un grupo de 6 mujeres. Posteriormente los estudios de Castegnaro y col. (1998), en dos poblaciones, una de 10 hombres y 8 mujeres de origen francés y la segunda de 13 mujeres de origen asiático, mostraron relaciones SA/SO de 0.09 a 0.78 respectivamente, sin mostrar diferencia estadística entre grupos. En investigaciones desarrolladas en poblaciones de Sudáfrica, la relación determinada en orina fue de 0.41 en Transkei y de 0.34 en Kenia, sin que se observaran diferencias estadísticas entre sexo o región (Westhuizen y col., 1999).

2.6. Efectos toxicológicos de las fumonisinas

La mayoría de los estudios de toxicidad en animales han sido realizados con FB₁, actualmente, se asocia dicha toxina con los siguientes efectos toxicológicos:

2.6.1. Leucoencefalomalacia en caballos

Kellerman y col. (1990) indujeron lesiones cerebrales de leucoencefalomalacia en caballos por medio de dos dosis orales de 8,417 y 8,925 mg de FB₁ por caballo. Otros investigadores han logrado reproducir la enfermedad en caballos y en ponis alimentados con maíz naturalmente contaminado que contenía niveles de FB₁ de 4.519 g y 50 g respectivamente (Wilson y col., 1992; Ross y col., 1993).

Se ha asociado el maíz y el alimento balanceado a base de maíz naturalmente contaminado con FB₁ (<1-160 µg/g), FB₂ (<1-49 µg/g) y FB₃ (<1-2.6 µg/g) con brotes de leucoencefalomalacia en campo (Plattner y col., 1990; Shephard y col., 1990; Ross y col., 1991b; Wilson y col., 1992). Ross y col. (1991b) concluyeron que “alimentos con concentraciones mayores de 10 µg/g de FB₁ no son seguros para caballos”, mientras que Wilson y col. (1992) determinaron que este límite es inferior (8 µg/g).

2.6.2. Edema pulmonar en cerdos

Este síndrome ha sido inducido en cerdos alimentados con maíz que contenía FB₁ (155 mg/Kg, 166 mg/Kg, 92 mg/Kg) y también por medio de una inyección intravenosa de FB₁ (11.3 mg, 72 mg) (Harrison y col., 1990; Colvin y Harrison, 1992; Osweiler y col., 1992). También se ha asociado el maíz y alimento balanceado a base de maíz naturalmente contaminado con FB₁ (< 1 – 330 µg/g) y FB₂ (< 1 – 48 µg/g) con brotes de edema pulmonar en cerdos en Estados Unidos durante 1989-1990 (Harrison y col., 1990; Ross y col., 1990; Haschek y col., 1992; Osweiler y col., 1992).

2.6.3. Efectos tóxicos en aves de corral

El consumo de dietas contaminadas con *F. verticillioides* en pollos de engorda, se asocia a la producción de cambios funcionales en las aves como: necrosis hepática multifocal, hiperplasia biliar, reducción en el peso corporal, de hígado y bazo, anormalidades esqueléticas (arqueo de patas), alteración en los parámetros bioquímicos y elevada mortalidad (Espada y col., 1994). En pavos se han observado alteraciones en el miocardio. Con el motivo de correlacionar el nivel de FBs presentes en las dietas con la toxicidad en pollos de engorda, algunos investigadores trabajaron con dietas fermentadas de maíz con *F. verticillioides* que contenían niveles de 75 a 525 mg FB₁/Kg de alimento, y observaron que con dosis superiores a 150 ppm se presentaban síntomas evidentes de toxicidad, mientras que con 75 ppm se observaban efectos más sutiles.

Li y col. (1999) informaron que FB₁ presenta efectos inmunosupresivos en pollos cuando se adiciona a la dieta a razón de 200 mg/kg. Por lo tanto, el Comité de Micotoxinas de la Asociación Americana, a través del Laboratorio de Diagnóstico recomienda no destinar para el consumo de aves de corral alimentos con un contenido de FB₁ superior a 50 mg/kg (Riley y col., 1993b).

2.6.4. Asociación con cáncer esofágico en humanos

En Transkei, región de Sudáfrica, se han observado áreas de alta incidencia de cáncer esofágico (CE) entre la población, con un promedio de 50 casos/100,000 habitantes, pero que puede llegar a 200 casos/100,000 habitantes (van Resumberg, 1985); cuando se compara con otras regiones del mundo, incluyendo otras regiones de la propia Transkei, tienen un promedio anual de 5 casos o menos de CE por cada 100,000 habitantes. En otras regiones del mundo también se ha detectado una alta incidencia de CE, entre ellas, Lisian, China (Yan, 1980), una región al Noreste de Irán (Kmet y Mahboubi, 1972), en Carolina del Norte, Estados Unidos (Fraumeni y Blot, 1977) y también al norte de Italia (Franceschi y col., 1990).

En Sudáfrica y China, se observó una fuerte correlación entre el CE y la incidencia de *F. verticillioides* en maíz y productos a base de maíz (Marasas y col., 1988), en estos lugares las personas afectadas consumen alimentos a base de maíz diariamente, constituyendo dichos productos la mayor parte de sus dietas, el maíz es cultivado en el hogar y cosechado, usualmente almacenado al aire libre y frecuentemente se encuentra dañado por hongos. Las FBs se han asociado como una posible causa o factor que contribuye a la alta incidencia de CE. El análisis de muestras de maíz del distrito de Transkei, mostró que granos de maíz sanos contenían 44 ppm de FB₁ y que daños visiblemente dañados por *F. verticillioides* contenían 83 ppm (Sydenham y col., 1991; Rheeder y col., 1992). En China se detectaron altos niveles de FB₁ (18-155 ppm) en muestras de maíz cultivado en los hogares, en áreas de alta incidencia de CE (Chu y Li, 1994), lo mismo ocurrió en alimentos a base de maíz destinados para consumo humano en Charleston (Estados Unidos) y en Italia, donde los niveles encontrados variaban entre 105 y 1,915 ppb para FB₁ y entre 70 y 4,460 ppb para FB₂ (Sydenham y col., 1991) y eran superiores a 6,100 ppb (FB₁) en Italia (Doko y Visconti, 1994).

La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer estableció que: a) hay *evidencia insuficiente* de la carcinogenicidad en humanos de las toxinas derivadas de *F. verticillioides*; b) hay *evidencia suficiente* de la carcinogenicidad en animales de experimentación de material de cultivo de *F. verticillioides*; c) hay *evidencia limitada* de la carcinogenicidad de FB₁ en animales de experimentación. De acuerdo a lo mencionado anteriormente, las toxinas

derivadas de *F. verticillioides* son consideradas como 2B es decir “posibles carcinógenos en humanos” (IARC, 1993).

2.6.5. Defectos en tubo neural en recién nacidos

Investigaciones recientes relacionan el aumento en la incidencia en humanos de defectos en tubo neural (DTNs) en recién nacidos con la exposición de sus madres a dietas contaminadas con fumonisinas. Los reportes procedieron de ciertas regiones de Texas, Estados Unidos durante 1989 a 1991, donde la prevalencia de los defectos en el tubo neural en recién nacidos fue mayor en personas de origen hispanico quienes se caracterizan por el consumo de productos derivados del maíz. Por otro lado, la ocurrencia de los brotes de leucoencefalomalacia en Texas coincide con el período, en el que la cosecha de maíz mostró altos niveles de fumonisinas (Voss y col., 1989).

Stevens y Tang (1997) relacionaron la inhibición de la incorporación del folato, a consecuencia de la disminución de esfingolípidos inducida por la FB₁, lo que tiende a ocasionar una deficiencia intracelular de una de las vitaminas B (folato) durante el primer trimestre de la preñez, lo que se asocia con el aumento de riesgo de defectos en tubos de neural en fetos (Hibbard, 1993).

2.6.6. Hepatotoxicidad y hepatocarcinogénesis en ratas

La principal patología en ratas tratadas con FB₁ entre 21 y 30 días (toxicidad a corto plazo) fue hepatitis tóxica progresiva caracterizada por necrosis hepatocelular, proliferación de conductos biliares y fibrosis (Gelderblom y col., 1988b). Estos resultados fueron similares a los obtenidos con material de cultivo de la cepa de *F. moniliforme* MRC 826 (Gelderblom y col., 1988a). En otro experimento a largo plazo (26 meses) con ratas cuyas dietas contenían 50 mg/Kg de FB₁ se observó que el hígado era el principal órgano blanco, los cambios patológicos en el hígado se caracterizaron por una hepatitis tóxica crónica que llegó a una cirrosis, colangiofibrosis, desarrollo de nódulos degenerativos que finalizaron en un carcinoma hepatocelular y colangiocarcinoma, diez de las 15 ratas tratadas desarrollaron un carcinoma

hepatocelular primario y en 4 de dichas ratas se observó metástasis en pulmones y riñones (Gelderblom y col., 1991). Voss y col. (1993), en un experimento de 4 semanas en el cual se alimentaron ratas con dietas que contenían 150 mg/Kg de FB₁, demostraron que resultaba hepatotóxica y también nefrotóxica.

2.6.7. Promoción e iniciación de cáncer en hígado de ratas

Se ha demostrado por medio de un ensayo de iniciación/promoción de cáncer a corto plazo con dietilnitrosamina que FB₁ era promotor de cáncer en ratas (Gelderblom y col., 1991), además FB₁ es un iniciador de cáncer, lo cual ha sido evidenciado por la inducción de hepatocitos resistentes en hígado de rata (Gelderblom y col., 1992 a y b), a pesar de que la FB₁ es un carcinógeno completo en hígado de rata, esta toxina es un débil iniciador de cáncer requiriendo una exposición prolongada (21 días) y concentraciones relativamente altas en la dieta (250 mg/Kg) (Gelderblom y col., 1994). También se ha comprobado que solamente la FB₁, FB₂ y FB₃ son iniciadores de cáncer en hígado de ratas y que los análogos N-acetilados (FA₁ y FA₂) y los productos de hidrólisis, no lo son. Debido a estos hallazgos se supone que se requiere la molécula intacta para dicha actividad (Gelderblom y col., 1993).

2.6.8. Actividad citotóxica en cultivos celulares

La FB₁ se ha considerado tóxica en un gran número de líneas celulares de mamíferos (Shier y col., 1991; Mirocha y col., 1992; Yoo y col., 1992; Abbas y col., 1993), además en líneas celulares de macrófagos de pollos (Qureshi y Hagler, 1992) así como para linfocitos de pavos (Drombrink-Kurtzman y col., 1994). En muchos casos la FB₂ mostró mayor actividad citotóxica en comparación con la FB₁ (Cawood y col., 1994), recientemente se demostró que las fumonisinas de la serie C muestran un patrón de citotoxicidad similar al de FB₁ en cultivos de líneas celulares de mamíferos sensibles (Abbas y col., 1999).

2.6.9. Fitotoxicidad

FB₁ causa daños a una amplia variedad de malezas y cultivos (lentejas, soya y tomates) en concentraciones que oscilan entre 10-200 µg/mL (Abbas y Boyette, 1992; Abbas y col., 1992; Mirocha y col., 1992). Abbas y col. (1992) concluyeron que la única objeción para el uso de FB₁ como herbicida era que la toxina es un posible carcinógeno. Otras FBs de la serie B (FB₂ y FB₃), de la serie A (FA₁ y FA₂) y de la serie C (FC₁, FC₂, FC₃ y FC₄) han mostrado actividad fitotóxica en plantas de tomate (Lamprecht y col., 1994; Abbas y col., 1999).

2.7. Incidencia natural de fumonisinas en el mundo

Considerando los efectos tóxicos atribuidos a las FBs y la presencia de *F. verticillioides* en maíz, se han realizado estudios para determinar el riesgo a la salud humana y animal debido al consumo de maíz y productos a base de maíz, así como también para determinar el grado de exposición de la población a dichas toxinas. A partir del año de 1989 se realizaron en varios países evaluaciones para determinar la incidencia natural de las FBs en maíz y alimentos base de maíz destinados a consumo humano y animal.

En la mayoría de los estudios sólo se ha analizado FB₁, en algunos casos FB₁ y FB₂, individualmente o combinadas, pocos laboratorios han determinado FB₃, en aquellas muestras donde esta toxina ha sido detectada, generalmente los niveles encontrados son menores a los de FB₂ y considerablemente inferiores a FB₁, la cual representa el 70 % de las FBs encontradas en el maíz (Shephard y col., 1996).

Para exponer la información disponible a nivel mundial sobre la contaminación natural con FBs en alimentos a base de maíz para animales, los datos se agruparon en: 1) alimentos asociados con brotes de enfermedades (leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar porcino), 2) alimentos no asociados con enfermedades y distribuidos por continentes (África, Asia y América del Norte) (tablas 1 y 2).

Los niveles de FBs encontrados en alimentos para animales, asociados con brotes de leucoencefalomalacia en caballos fueron en algunos casos excepcionalmente altos con un máximo de 130 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 , así mismo las concentraciones de fumonisinas encontradas en algunas muestras de alimento asociado con edema pulmonar en cerdos fueron altas, con un máximo de 330 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 , los cerdos se consideran menos susceptibles a dicha toxina en comparación con los caballos (tabla 1)

Tabla 1. Niveles de fumonisinas ($\mu\text{g/g}$) en alimentos asociados con leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar porcino.

Muestra	Origen	Total (positivas)	FB_1 ($\mu\text{g/g}$)		FB_2 ($\mu\text{g/g}$)		Referencia
			Media ^a	Rango	Media ^a	Rango	
Leucoencefalomalacia							
Alimento a base de maíz	Brasil	14 (14)	10.3	0.2-38.5	3.8	0.05-12	Sydenham y col., 1993a
Maíz	Italia	1 (1)	60		15		Doko y Visconti, 1994
Alimento balanceado	Sudáfrica	1 (1)	8.85		3		Shephard y col., 1990
Maíz, alimentos a base de maíz	Estados Unidos	197 (173)	40.5	1-300	19.6 ^b	0.1-17	Wilson y col., 1990, Plattner y col., 1990, Thiel y col., 1991b, Sydenham y col., 1992, Ross y col., 1991b
Edema Pulmonar							
Alimento a base de maíz	Brasil	3 (3)	10.0	8.5-11.1	2.8	1.9-3.2	Sydenham y col., 1992
Maíz molido	Estados Unidos	114 (101)	90.3	3-300	NA		Harrison y col., 1990, Colvin y Harrison 1992, Osweiler y col., 1992, Ross y col., 1991a

^a media de todas las muestras positivas; ^b analizadas 20 muestras; NA: no analizado

Tabla 2. Niveles de fumonisinas en alimentos para animales

Muestra	Origen	Total (positivas)	FB ₁ (µg/g)		FB ₂ (µg/g)		Referencia
			Media ^a	Rango	Media ^a	Rango	
África							
Maíz	Burundi	6 (6)		12.2-72.5	NA		Munimbazi y Bullerman, 1996
Salvado de maíz, harina de germen de maíz, alimento balanceado con maíz, maíz molido.	Sudáfrica	429 (422)	1.61	0.05-44.7	0.62	0-26.9	Vijoen y col., 1993, Rava, 1996
Maíz almacenado	Zambia	16		0.03-1.68	NA		Sundheim y col., 1995
Asia							
Granos de maíz	Corea	83 (46)	11.90	<0.03-25.33	4.30	<0.05-7.68	Ung-Soo y col., 1994, Sohn y col., 1999
Alimento balanceado para pollos, granos de maíz, maíz mohoso	India	168 (50)	0.62	0.01-64.7	NA		Shetty y Bhat, 1997
Alimento a base de gluten.	Japón	6 (6)	1.1	0.3-2.4	3.7	<0.1-8.5	Ueno y col., 1993
Granos de maíz	Tailandia	35 (17)	0.73	<0.05-1.59	0.17	0.05-0.35	Wang y col., 1993, Yoshisawa y col., 1996
Maíz	Filipinas	98 (54)		0.05-18.8		0.05-1.4	Yoshisawa y Yamashita, 1995
Granos de maíz, maíz molido	Indonesia Vietnam	32 (23)	0.94	0.26-3.44	0.28	0.15-0.56	Wang y col., 1995
Europa							
Granos de maíz, sémola de maíz	Italia	124 (124)		<0.1-3.0			Pietri y col., 1995
Glúten de maíz importado, alimento para mascotas, maíz	Reino Unido	1116 (94)	1.04	0.02-27	0.05 ^b	<0.05-0.07	Scudamore y Chang 1993, Scudamore y col., 1997 y 1998
Alimento para aves	Suiza	22 (6)	0.24	0-0.48	0.09	0-0.12	Pittet y col., 1992
América del Norte							
Alimento para cerdos	Estados Unidos	9 (8)		FB ₁ + FB ₂ : media 15; rango 0-33 µg/g			Bane y col., 1992
Maíz molido	Estados Unidos	85 (85)		Media: 12.1; rango 2.6-32 µg/g			Price y col., 1993
Maíz molido	Estados Unidos	319(286)	11.7	0.1-239	5.11 ^c	0.10-42.8	Stack y Eppley, 1992, Hopman y Murphy, 1993, Ross y col., 1991a

^a media de todas las muestras analizadas; ^b 49 muestras analizadas; ^c 10 muestras analizadas; NA: no analizado

Se ha demostrado correlación entre la infección con *F. verticillioides* en maíz cultivado en los hogares y la incidencia de cáncer esofágico en Transkei, Sudáfrica (Marasas y col., 1988), la tabla 3 muestra los niveles de contaminación natural con FBs en las áreas rurales de Transkei y China, dos regiones con alta incidencia de CE.

Tabla 3. Niveles de fumonisinas en maíz en áreas rurales de Transkei y China.

Muestra	Origen	Total (positivas)	FB ₁ (µg/g)		FB ₂ (µg/g)		Referencia
			Media ^a	Rango	Media ^a	Rango	
Transkei, Sudáfrica							
Maíz de buena calidad	Área con bajo % CE	12 (3)	0.38	0-0.55	0.08	0-0.15	Rheeder y col., 1992
	Área con alto % CE	12 (12)	1.6	0.05-7.90	0.61	0-2.25	
Maíz mohoso	Área con bajo % CE	11 (11)	6.52	0.45-18.90	2.5	0.15-6.75	
	Área con alto % CE	12 (12)	23.90	3.45-46.90	7.55	0.90-16.30	
Maíz de buena calidad	Área con bajo % CE	8 (6)	0.67	0-3.31	0.52	0-0.97	
	Área con alto % CE	6 (5)	1.84	0-5.38	0.51	0-1.32	
Maíz mohoso	Área con bajo % CE	7 (7)	4.05	0.11-11.34	1.28	0-3.70	
	Área con alto % CE	6 (6)	53.74	3.02-117.5	13.68	0.75-22.96	
China							
Maíz fino	Linxian	7 (7)	30.4	19.8-60	NA	NA	Chu y Li, 1994
	Cixian	8 (8)	39.5	30.3-47.9	NA	NA	
Maíz mohoso	Linxian	9 (9)	49.3	17.9-118.4	NA	NA	
	Cixian	10 (10)	93.8	28.4-154.9	NA	NA	
Maíz	Linxian	27 (13)	0.87	<0.10-2.96	0.45	<0.10-0.55	Yoshizawa y col., 1994
	Shangqiu	20 (5)	0.89	<0.10-1.73	0.33	<0.10-0.45	
Maíz	Haimen	240 (134)		0.05-34.8	NA		Ueno y col., 1997

^a media de todas las muestras positiva; NA: no analizado

Se ha encontrado contaminación natural con FBs en alimentos a base de maíz destinados al consumo humano, en diferentes continentes (tablas 4 y 5), estos productos son principalmente: harina de maíz, sémola, polenta, semolina, copos de maíz, maíz dulce y se encuentran generalmente contaminados con FBs en niveles inferiores a 1 µg/g, sin embargo, los productos analizados de manera individual pueden alcanzar niveles superiores en ciertos países.

Tabla 4. Niveles de fumonisinas en muestras de alimentos a base de maíz para consumo humano.

Muestra	Origen	Total (positivas)	FB ₁ (µg/g)		FB ₂ (µg/g)		Referencia
			Media ^a	Rango	Media ^a	Rango	
África							
Harina de maíz	Botswana	5 (5)		0.18-0.45		0.05-0.12	Sydenham y col., 1993b
Harina de maíz, maíz	Kenia	200 (95)		0.05-5.11		0.05-0.14	Sydenham y col., 1993b, Kedera y col., 1999
Harina de maíz, sémola	Sudáfrica	464 (440)	0.37	0-4.48	0.07	0-11.10	Sydenham y col., 1991, Vijoen y col., 1993
Harina de maíz	Zimbawe	3 (3)		1.06-3.63		0.24-0.91	Sydenham y col., 1993b
Maíz y subproductos	Varios países	40 (37)		0.02-1.91			Doko y col., 1996
Asia							
Harina de maíz	China	7 (3)	0.10	0.06-0.20	ND		Sydenham y col., 1993b, Ueno y col., 1993,
Productos a base de maíz	Filipinas	25 (8)	0.10	0.05-0.22	NA		Yoshizawa y Yamashita, 1995
Sémola, maíz dulce	Japón	63 (14)	0.05	0.2-2.6	1.0	0.3-2.8	
Sémola, harina de maíz	Tailandia	16 (15)	2.17	0.08-18.8	0.33	0.07-1.40	Wang y col., 1993, Yoshizawa y col., 1996
Maíz, maíz dulce envasado, rosetas de maíz, harina de maíz	Taiwán	147 (50)	0.46	0-2.40	0.11	0-0.71	Tseng y Liu, 1997
Europa							
Sémola, polenta, rosetas de maíz, alimento para niños, maíz dulce	Alemania	250 (99)	0.17	0.01-1.23	NA		Usleber y col., 1994
Harina de maíz	Austria	3		0.05-1.15	NA		Sydenham y col., 1993b
Harina de maíz	Bulgaria	15		0.05-0.21		0.05-0.15	
Sémola, harina de maíz, cereales para desayuno	España	90 (13)	0.08	<0.05-0.33	ND		Sanchis y col., 1994
Harina de maíz	Francia	1 (1)	1.24		0.39		Sydenham y col., 1993b
Polenta, maíz enlatado, almidón de maíz, maíz almidonoso (importado)	Holanda	89 (64)	0.54	<0.01-3.35	NA		De Nijs y col., 1998a y 1998b
Sémola harina de maíz, maíz dulce, polenta	Italia	49 (45)	1.78	0.01-6.10	0.43	0.01-0.91	Doko y Visconti 1994, Pascale y col., 1995
Sémola y otros productos de maíz	Suecia	25 (0)	ND		ND		
Harina de maíz, semolina, polenta, maíz dulce	Suiza	108 (65)	0.13	0-2.20	0.10	0-0.16	Pittet y col., 1992
Polenta, cereales para desayuno, rosetas de maíz, salsas a base de maíz	Reino Unido	20 (16)				FB ₁ + FB ₂ 0.01-2.12	Patel y col., 1996
América del Norte							
Harina de maíz, semolina, cereales para desayuno	Canadá	218 (46)	0.47	0.10-3.50	NA		
Harina de maíz, tortillas, sémola, cereales para desayuno, rosetas de maíz, maíz dulce enlatado	Estados Unidos	230 (145)	0.82	0.05-2.79	0.15 ^b	0.01-1.07	Stack y Eppley, 1992, Hopman y Murphy, 1993

^a media de todas las muestras analizadas; ^b analizadas 98 muestras; NA: no analizado; ND: no detectado

Tabla 5. Niveles de fumonisinas en alimento para consumo humano y animal en Latinoamérica

Muestra	Origen	Total (positivas)	FB ₁ (µg/g)		FB ₂ (µg/g)		Referencia
			Media ^a	Rango	Media ^a	Rango	
Maíz, maíz dulce envasado, polenta, maíz dulce fresco, sémola	Argentina	63 (61)	1.88	0.60-6.70	0.75	0.32-2.68	Sydenham y col., 1993a, Farnochi y col., 1996, Solovey y col., 1999, Torres y col., 2001
Maíz	Brasil	48 (47)	6.83	0-18.5	4.6	0-19.3	Hirooka y col., 1996
Granos de maíz, harina de maíz precocida, rosetas de maíz, almidón de maíz, alimento balanceado	Colombia	120 (79)	0.30	0.02-2.96	0.13	0.02-0.99	Perilla y Diaz, 1998
Maíz	Costa Rica		2.13	0-6.32	NA		Viquez y col., 1996
Harina de maíz, granos de maíz tratados con álcali	Perú	24 (11)	0.66	<0.05-0.66	0.14	<0.05-0.14	Sydenham y col., 1991
Granos de maíz	Uruguay	22 (11)		0.05-5.79	NA		Piñeiro y col., 1997
Harina de maíz, maíz amarillo y blanco	Venezuela	38 (32)	0.07		0.02		Stack y Eppley 1992, Medina y Martínez, 1994

^a media de todas las muestras positiva; NA: no analizado

La contaminación de maíz con FBs en distintos países refleja los niveles de infección fúngica de los cultivos durante su desarrollo, la cual puede estar influenciada por varios factores como región geográfica, clima y daño por insectos, se han encontrado niveles altos de FBs en maíz cosechado en varios países como Estados Unidos, Italia y Argentina; aunque *F. verticillioides* está distribuido mundialmente en casi todas las áreas de producción de maíz, este hongo predomina en regiones cálidas y secas donde la podredumbre del grano de maíz es alta y es menor en climas fríos, tales como los del norte de Europa y Canadá (Bacon y Nelson, 1994).

En el estado de Nuevo León, México, se realizó un estudio donde se recolectaron muestras de maíz blanco destinado para consumo humano, los resultados demostraron la presencia de *F. verticillioides* en el 61% de las muestras de maíz analizado y el aislamiento de cepas con alta capacidad productora de fumonisinas (10-9,000 µg/g), los investigadores concluyeron que puede existir alto potencial de contaminación en el maíz mexicano (Desjardins y col., 1994).

Estudios realizados en el estado de Jalisco, México permitieron observar la presencia de *F. verticillioides* en el 80 % de las muestras de maíz analizadas, de las cepas aisladas 93% fueron productoras de FBs en un rango de 750-2,280 µg/g (Reyes, 1997).

2.8. Estrategias potenciales de descontaminación

La estrategia más efectiva de controlar la contaminación con micotoxinas es la prevención tanto de la infección fúngica como en la producción de sus toxinas, a campo y durante el almacenamiento. Cuando la contaminación ha tenido lugar, existe la posibilidad de reducir los niveles de toxinas iniciales por debajo de los valores de tolerancia recomendados a través de la dilución de los granos contaminados o la implementación de estrategias de descontaminación (Charmley y col., 1995; Galvano y col., 2001).

El maíz es utilizado para la producción de alimentos, por lo tanto está sujeto a varios métodos de procesamiento, los efectos de algunos de estos métodos sobre la concentración de las FBs han sido objeto de numerosas investigaciones. Los efectos del calor sobre dichas micotoxinas no son completamente claros, algunos autores indican reducciones significativas en las concentraciones de FBs sin embargo otros estudios han demostrado que los tratamientos térmicos no las reducen (Syndenham y col., 1995).

Los parámetros físicos como tiempo y temperatura de procesamiento son factores que afectan el contenido de FBs en los alimentos, los alimentos calentados a temperatura de ebullición (100-125°C) muestran pequeños cambios en el contenido de FBs; en los alimentos que durante su procesamiento alcanzan temperaturas superiores a 150°C (frituras y horneados) la reducción en el contenido de estas micotoxinas es importante (Jackson y col., 1996). Castelo y col. (1998) demostraron que las FBs presentes en harina de maíz naturalmente contaminada eran inestables en condiciones de tostado, pero permanecían bastante estables durante el proceso de enlatado y horneado en productos a base de maíz, probablemente debido a que en estos dos últimos procesos los productos alcanzaban temperaturas internas bajas si se les comparaba con los productos tostados.

Un proceso tradicional para la producción de tortillas de maíz (nixtamalización) fue evaluado como un método de descontaminación de FBs, durante el proceso, el maíz se trata con hidróxido de calcio y calentamiento, si bien el tratamiento redujo las concentraciones de FB₁, existe controversia sobre la toxicidad de los productos finales (Sydenham y col., 1995; Murphy y col., 1996; Park y col., 1996). Reyes y col. (2002) evaluaron el proceso de nixtamalización y elaboración de la tortilla encontrándose valores promedio de 5.79 µg/g, 1.47 µg/g, 2.95 µg/g y 1.41 µg/g en maíz, nixtamal, masa y tortilla respectivamente, el efecto del procesamiento alcalino permitió la reducción de los niveles de fumonisinas en el nixtamal en un 74.8% respecto a los niveles en el maíz, mientras que la reducción de fumonisinas en la tortilla con relación a lo encontrado en la masa fue de 52.2%.

La amoniación ha sido probada como un método de descontaminación para otras micotoxinas (particularmente AFs) y puede decontaminar FBs exitosamente cuando se combina con calor (Murphy y col., 1996).

Estudios realizados por Bennet y col. (1996) demostraron que el almidón preparado a partir de maíz contaminado (molienda húmeda) no contenía FBs, sin embargo el gluten y la fibra contenían cantidades considerables de la toxina y requerían una descontaminación previa antes de ser usados como alimento para animales.

Bothast y col. (1992) estudiaron el proceso de fermentación a partir de maíz contaminado con FBs y observaron que la fermentación etanólica de maíz mohoso no contenía FBs, pero el producto de la fermentación (cerveza) contenía cantidades apreciables de estas toxinas.

Otra reacción que ha sido evaluada es el tratamiento de maíz con una combinación de peróxido de hidrógeno y carbonato de sodio, dicha reacción redujo las concentraciones de FBs en un 100% de maíz contaminado, la toxicidad de los productos finales fue menor en comparación a aquella del maíz no tratado (Park y col., 1996).

Desde hace varios años, se han establecido límites regulatorios para las toxinas más peligrosas, AFs en cereales, oleaginosas y productos derivados destinados principalmente al

consumo humano. En la actualidad se cuenta con numerosos datos que informan la co-ocurrencia de varias micotoxinas en los alimentos: AFB₁ y FB₁; OA y AFB₁; citrinina, DON, ácido penicílico y toxina T-2; AFs y ácido ciclopiazónico; AFB₁ y DON; AFB₁ y toxina T-2 (FAO, 1997).

La presencia de múltiples toxinas en los alimentos debe ser considerada cuando se aplican estrategias de descontaminación. Un proceso se considera efectivo cuando cumple los siguientes requisitos: ser aceptado por las agencias regulatorias, ser económico, aplicable a gran escala y capaz de reducir el riesgo de exposición a un alimento contaminado con más de una toxina fúngica.

Debido a que los conocimientos sobre la importancia sanitaria y económica de la contaminación por micotoxinas de los alimentos, son relativamente recientes y que los estudios de toxicología crónica son muy prolongados, no existen métodos industriales de gran difusión tendientes a prevenir las micotoxicosis. La diversidad de estructuras químicas de las micotoxinas de mayor incidencia hace que las posibles soluciones industriales deban apoyarse en los siguientes aspectos:

- Aplicación de métodos rápidos de detección.
- Incorporación de equipos de descontaminación, al diseño de las pequeñas plantas productoras de alimentos que permitan tratar cantidades moderadas de productos contaminados.
- Utilización de aditivos, que puedan incorporarse en forma sistémica en la producción de alimentos.

La industrialización de soluciones que permitan utilizar productos una vez descontaminados, constituirá sin duda, un importante beneficio sanitario y económico en la sociedad que necesita cada vez más aprovechar todos los recursos alimentarios garantizando la ausencia de contaminantes tóxicos.

2.8.1. Métodos de eliminación de micotoxinas en productos agrícolas

Los métodos de descontaminación de micotoxinas en productos agrícolas se pueden dividir en tres categorías: químicos, biológicos y físicos (Charmley y Prelusky, 1994; Galvano y col., 2001).

Numerosos métodos químicos han sido propuestos para la destrucción o inactivación de las micotoxinas en insumos agrícolas contaminados naturalmente. Se han ensayado diversos productos químicos para lograr la detoxificación de estos insumos. Sin embargo, la mayoría de estos métodos no satisfacen los criterios de aceptabilidad citados previamente; debido a que si bien destruyen a las AFs, también disminuyen el valor nutricional del producto o producen metabolitos residuales tóxicos (Basappa y Shantha, 1996).

Entre los métodos biológicos, la detoxificación microbiana es una alternativa para la reducción de los niveles de micotoxinas. Su efectividad se fundamenta en la presencia de un microorganismo controlador o la acción de compuestos químicos específicos producidos por éste, que inhiben el crecimiento del hongo productor o directamente la producción de sus toxinas.

El biocontrol para FBs se ha realizado con especies de bacterias productoras de sustancias con actividad fungicida sobre especies de *Fusarium*. Cavagliari y col. (1997) mostraron que la cepa de *Bacillus subtilis* inhibió el crecimiento de *F. verticillioides* en medio de cultivo y redujo la producción de FB₁.

En la utilización de microorganismos o sus metabolitos específicos, como probióticos para la detoxificación de alimentos contaminados con micotoxinas, es necesario profundizar sobre el efecto y la toxicidad de todos los metabolitos que producen éstos microorganismos, así como su posible patogenicidad.

Los métodos físicos de detoxificación desarrollados son: la limpieza, la separación mecánica, el lavado, la segregación por densidad, la inactivación térmica, la irradiación, el ultrasonido, la

extracción con solventes y la adsorción. La mayoría de éstos métodos se usan para remover AFs de los productos agrícolas, tales como cacahuete y alimentos para animales (López-García y Park, 1998; Sinha, 1998; Jackson y Bullerman, 1999).

2.8.2. Uso de sustancias adsorbentes

Los procesos utilizados en la elaboración de alimentos para animales generalmente no producen disminución en los niveles de las micotoxinas. El peleteado del alimento disminuye los niveles de Afs, pero no los de DON. El proceso de ensilado del maíz no destruye las AFs, zearalenona (ZEA), DON y OA (Scott, 1997).

Uno de los métodos más recientes propuestos para la prevención de las micotoxicosis, consiste en el uso de sustancias inertes, que se adicionan a los alimentos para animales durante el proceso de elaboración. Estas sustancias actúan posteriormente secuestrando las toxinas en el tracto gastrointestinal y reduciendo la biodisponibilidad de las mismas (Nahm, 1995).

En el mercado existen varias clases de adsorbentes y dentro de las mismas existen diferentes cualidades. El secuestro de micotoxinas por materiales adsorbentes depende de las propiedades fisicoquímicas del material adsorbente y del adsorbato (molécula que se pretende atrapar).

De una manera general, los adsorbentes pueden ser divididos en dos grandes grupos: los aluminosilicatos y los adsorbentes con principio orgánico, en este último se tienen a los adsorbentes con enzimas, los productos derivados de levaduras y los organoaluminosilicatos. Una gran variedad de materiales adsorbentes, tales como, carbón activado, bentonitas, aluminosilicatos de sodio y calcio hidratado (HSCAS) zeolitas (clinoptilolita); otras variedades de arcillas, resinas sintéticas de intercambio iónico, como colestiramina y sustancias poliméricas como, polivinil-polipirrolidona han sido evaluados exitosamente en la adsorción de numerosas micotoxinas (Piva y col., 1995; Galvano y col., 1997; Ramos y Hernández, 1997; Scott, 1998; Huwig y col., 2001).

2.8.2.1 Aluminosilicatos

La utilización de los aluminosilicatos para la adsorción de micotoxinas ha sido estudiada por más de 20 años (Masinmango y col., 1978; Davidson y col., 1987; Ramos y Hernández, 1997). Ciertos aluminosilicatos han mostrado capacidad para unir AFs en aceite de cacahuate y alimentos para animales (Machen y col., 1988). Sin embargo los efectos a largo plazo y la seguridad de los aluminosilicatos no han sido determinados. Es importante destacar, que no existe en la literatura suficiente evidencia de que estas sustancias adsorbentes disminuyan significativamente el valor nutricional de las raciones, mediante el secuestro de vitaminas, aminoácidos y minerales esenciales (Ledoux y col., 1999). Sin embargo, algunos estudios demuestran lo contrario y esto podría provocar algún trastorno en el comportamiento productivo de las aves (Phillips y col., 1988, Ramos y Hernández, 1997).

Los aluminosilicatos multilaminares poseen la capacidad de adsorber agua y ciertas moléculas hidrosolubles en el espacio interlaminar, produciendo la expansión de la arcilla. Esta característica hace que estos materiales posean una importante capacidad de adsorción y escasa selectividad. Estas arcillas, contienen en su estructura canales conocidos como tamices moleculares, los cuales contienen agua y cationes alcalinos de compensación e intercambio. Cuando estos canales están libres de agua, sus propiedades adsorptivas aumentan. Además de las características topológicas, otras características morfológicas que se tienen en cuenta para caracterizar a estos adsorbentes son: el área superficial, la habilidad para expandirse por adsorción de agua, la capacidad de intercambio catiónico, el diámetro y el volumen de poro, la catálisis de superficie y el adsorbato (Phillips y col., 1995).

Estos y otros tipos de arcillas han sido utilizados con diferentes propósitos en la agricultura y la industria durante muchos años. Los primeros informes sobre el uso del HSCAS para adsorber AFs datan del año 1987. Phillips y col. (1988) reportaron brevemente el descubrimiento de las propiedades adsorbentes de este filosilicato bajo condiciones *in vitro* y postularon su uso como agente secuestrante en el tracto gastrointestinal de los animales. Al mismo tiempo, Davidson y col. (1987) informaron que el uso de este adsorbente al 0.1 y 0.5%

en la ración de las aves contaminada con AFs (20 a 80 mg/Kg) era capaz de disminuir la biodisponibilidad de estas toxinas de un modo dependiente de la dosis.

Los estudios *in vitro*, demostraron que el HSCAS, posee una gran capacidad para adsorber AFB₁, formando un complejo estable en agua a pH 2, 7 y 10 a temperaturas de 25 y 37°C. La estabilidad del complejo HSCAS- AFB₁ fue demostrada al tratarlo con una serie elutrópica de solventes y lograr recuperar sólo un 10% de toxina (Phillips y col., 1995).

2.8.2.2. Bentonitas sódicas

Las bentonitas sódicas, comúnmente utilizadas en la industria como un agente aglutinante en la elaboración de alimentos peleteados, pueden adsorber AFB₁ contenida en los insumos para bovinos y disminuir los niveles de aflatoxina M₁ (AFM₁) en la leche (Ramos y col., 1996). En aves, la adición de estas bentonitas al 0.4% ha demostrado disminución de los efectos inmunodepresores causados por el consumo de alimentos contaminados con AFBs (Ibrahim y col., 2000).

2.8.2.3. Zeolitas

Las zeolitas son minerales de origen volcánico que comprenden un grupo de más de 40 aluminosilicatos, entre los cuales, los más importantes por la consecutividad de sus apariciones, la dimensión de sus depósitos y la diversidad de aplicaciones son a escala mundial, la clinoptilolita y la mordenita (Mumpton y Fishmann, 1997).

Son estructuras porosas, de alta cristalinidad, naturales o sintéticas que presentan características estructurales comunes (Parlat y col., 1999; Oguz y Kurtoglu, 2000; Oguz y col., 2000). Las zeolitas son tectosilicatos, constituidos por unidades fundamentales, formadas por la combinación tridimensional de tetraedros de óxido de silico y de óxido de aluminio unidos entre sí a través de átomos de oxígenos comunes para formar una estructura tridimensional aniónica.

Las propiedades y aplicaciones de las zeolitas naturales que se han tenido en cuenta para mejorar la utilización de los nutrientes, así como los efectos terapéuticos relacionados con el control de problemas entéricos, fueron los siguientes: Su capacidad de intercambio iónico, astringente, prevención y curación de enfermedades de los órganos digestivos, aumento de la tasa de crecimiento incremento de la eficiencia de utilización de nutrientes, control de los olores indeseables en las instalaciones avícolas y pecuarias, prevención de la contaminación y desarrollo de hongos durante el almacenaje de piensos y regulación del consumo voluntario de alimentos (Mumpton y Fishmann, 1997).

2.8.2.3.1. Clinoptilolita

La clinoptilolita, zeolita del grupo de los tectosilicatos, es de origen natural y se caracteriza por su estructura externa hexagonal y la interna formada por un tetraedro de silicio, oxígeno y aluminio, sus propiedades fisicoquímicas se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Propiedades físico – químicas de la clinoptilolita

Propiedades químicas:		Propiedades físicas:	
SiO ₂	65%	Densidad específica	2.00 grs/cm ³
Al ₂ O ₃	12%	Densidad aparente	1.00 grs/cm ³
Fe ₂ O ₃	2%	Color	Gris verdoso
CaO	4%	Estabilidad térmica	560 °C
MgO	2%	Punto de fusión	982 °C
K ₂ O	2%	Conductividad	7
Na ₂ O	1%	Estabilidad alcalina	7-11 pH
Grado de pureza		Estabilidad ácida	2-7 pH
Clinoptilolita	85%	Capacidad de	150 meq/100 g
Calcio- sodio	5%	Intercambio iónico	
Feldespatho	1%	Volumen de poro	0.34 cm ³ /cm ³
Montmorilonita	4%	Granulometría	0 - 1 mm

Fuente: Huwig y col., 2001

La clinoptilolita se ha utilizado en dietas de aves y cerdos por su capacidad en la retención de iones de amoníaco (NH_4^+) a nivel digestivo. Existen otros estudios con clinoptilolitas como promotores de la función digestiva con un desarrollo mayor de la flora ruminal. Existiendo a la fecha escasos reportes sobre su uso como adsorbentes de micotoxinas, en particular de FBs.

La falta de buenos resultados por el uso de algunos adsorbentes para enfrentar otras micotoxinas diferentes de las AFs, trajo como consecuencia la aparición en el mercado de los productos con principios orgánico. Dado que las micotoxinas menos polares no son adsorbidas por la superficie hidrofílica, se investigó la posibilidad de utilizar adsorbentes con fracciones orgánicas que permitan modificar la polaridad de la superficie, con el advenimiento de la biotecnología se han aplicado principios específicos de acción a través de enzimas o microorganismos basados en levaduras o pared celular de ellas (Stanley y col., 1993).

2.8.2.4. Manano oligosacáridos

Los manano oligosacáridos, son carbohidratos funcionales extraídos de la porción interior de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*, es una alternativa a las arcillas y otras estrategias dirigidas a proteger a las aves de los efectos adversos de los alimentos contaminados con micotoxinas. El efecto neutralizante de micotoxinas de los manano oligosacáridos fue reportado hace algunos años. Stanley y col. (1993) observaron que un cultivo de levaduras vivas (Yea- Sacc 1026) redujo los efectos adversos de la aflatoxina en pollo de engorda. Cuando se suministró alimento con 5 $\mu\text{g/g}$ de ABs a los pollos, el peso vivo disminuyó en 9.9% comparado con los controles (506g vs 456 g), sin embargo, cuando la levadura fue incorporada se restablecieron los parámetros productivos, así como la disminución de la albúmina sérica y los efectos asociados con las aflatoxinas sobre el hígado, páncreas y corazón (Stanley y col., 1993).

Las paredes celulares del *Saccharomyces cerevisiae* (PCSC), representan entre el 15 y 25% de materia seca, el 80 a 85% son polisacáridos, principalmente glucosa y manosa y 10 a 15% son proteínas. El resto de la pared está compuesto en proporción mínima de lípidos y de fosfatos inorgánicos (Joseleau, 1999). Los componentes β -glucanos, obtenidos a partir de las PCSC,

son ahora reconocidos como inmunoestimulantes (Bohn, 1995) y ejercen una acción sinérgica con los antibióticos contra infecciones bacterianas de tubo digestivo (Lahnborg y col., 1982). No han sido muchos los trabajos realizados en aves, con la adición de *S. cerevisiae*, la gran mayoría se han realizado en otras especies y en menor proporción con las paredes celulares. Masse y Weiser (1994) evaluaron la adición en el alimento de levaduras vivas de *S. cerevisiae*, con niveles bajos de vitamina B6 (piridoxina), no encontrando diferencias en el peso corporal y síntomas neurológicos en pollo de engorda.

Onifade y col. (1999), evaluaron la suplementación de *S.s cerivisiae* como sustituto de un antibiótico para pollos de engorda, encontrando incremento en la ganancia de peso y reducción de la grasa abdominal, por lo que concluyen que *S. cerivisiae* puede ser un sustituto natural de los antibióticos como promotores de crecimiento. Posteriormente, Santín y col. (1999), evaluaron las paredes celulares de *S. cerevisiae* sobre la respuesta inmune, encontrando la posibilidad de tener un efecto importante en la respuesta con vacuna de la enfermedad de Newcastle.

Spring y col. (2000), estudiaron la adición de manano oligosacáridos (pared celular de *S. cerevisiae*), sobre las concentraciones de bacterias entéricas en pollo de engorda de 3 días de edad, demostrando que el número de coliformes, fue numéricamente más bajo cuando se adicionaba la levadura.

En el mercado existen productos que además de contener manano oligosacáridos derivados de las paredes celulares de *S. cerevisiae*, incluyen otros compuestos como β ,3- β 1, 6 d-Glucanos, activadores del sistema inmune, enzimas digestivas que optimizan la utilización del alimento; levaduras vivas que aportan ácidos grasos y vitaminas del complejo B; bacterias microencapsuladas (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* y *Bacillus subtilis*) como reemplazadores de la microflora esencial para disminuir la incidencia de trastornos gastrointestinales, además de inmunoglobulinas como preventivo de infecciones.

2.9. Importancia de la producción Avícola en México

La importancia del sector avícola en México radica en el papel estratégico que juega en la nutrición de la población humana. A nivel mundial es el cuarto productor de pollo y el sexto en huevo. La producción de carne de pollo en México en el 2003, fue de 2'268,589 toneladas con un valor de 28,901 millones de pesos en promedio anual, además el consumo per cápita de carne de pollo ha aumentado de 15.7 Kg/año en 1995 a 22.4 Kg/año en el 2003 (Unión Nacional de Avicultores, 2003).

En la actualidad la avicultura ha experimentado un notable desarrollo en la producción de carne de pollo. El incremento se debe principalmente a los avances que han ocurrido en materia de genética y nutrición, así como a la creación de nuevos sistemas de manejo en la crianza y producción de aves.

En los años 90 bajo condiciones normales de manejo una granja permitía obtener pollos de engorda de 2.1 Kg de peso vivo, alcanzado en 46 días, con una conversión alimenticia de 2.1, mientras que en la actualidad el peso del pollo es de 2.3 Kg a 41 días con una conversión menor a 1,9. Naturalmente todo esto ha traído importantes cambios en las estructuras del sector avícola en México, desde el tamaño de las granjas, hasta la calidad de sus equipamientos. Esto conlleva a nuevos retos, tanto en lo referente a los animales, como en la competitividad existente en el sector, en cuanto a la calidad con que se requiere presentar el producto final al consumidor (Quintana, 2003).

Estos nuevos objetivos están exigiendo a todo el sector avícola la aplicación de un sistema de seguimiento y trazabilidad, que permita rastrear el origen de todo alimento a través de su cadena productiva, no siendo el pollo de engorda una excepción.

Gran parte de las raciones avícolas, comúnmente consideradas como alimentos balanceados, se formulan en la actualidad a base de cereales, e incluyen todos los nutrientes necesarios para una alimentación óptima. Las raciones para aves de corral se elaboran en forma de harinas, migajas y pellets. En las harinas, muchos de los ingredientes como los cereales deben molerse

perfectamente antes de agregarse a la ración, de modo que cada porción de alimento contenga los requerimientos mínimos necesarios, para garantizar un buen crecimiento. En el caso de los pellets, la mezcla alimenticia debe comprimirse con un equipo especializado para formar partículas de pequeño tamaño (Quintana, 2003).

La alimentación es uno de los aspectos de mayor impacto en las explotaciones pecuarias, ya que representa del 70 al 80% de los costos de producción, y es el vehículo de numerosos trastornos a la salud de las aves, por lo que deben plantearse estrategias que permitan asegurar la calidad nutricional y la inocuidad del alimento a fin de optimizar el aprovechamiento de los nutrientes y la obtención de animales de alta calidad para consumo humano.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las fumonisinas, micotoxinas contaminantes del maíz y de distribución mundial, se han relacionado con problemas a la salud en humanos y animales, además de causar pérdidas económicas en explotaciones pecuarias.

En animales, el consumo de alimentos contaminados con fumonisinas puede ocasionar el síndrome de leucoencefalomalacia en equinos y el edema pulmonar porcino (Thiel y col., 1991b) y producir en aves efectos adversos tales como depresión de la ganancia de peso y anormalidades en el esqueleto así como inmunosupresión. En algunas regiones de Sudáfrica, Irán y el norte de China se ha asociado la alta incidencia de cáncer esofágico humano con el consumo de maíz altamente contaminado con fumonisinas (Kmet y Mahboubi, 1972; Sydenham y col., 1991; Chu y Li, 1994).

Actualmente solo existe reglamentación respecto a los niveles permisibles para las aflatoxinas, por lo que la presencia de fumonisinas y otras micotoxinas en alimentos no se monitorea oficialmente, permaneciendo los consumidores con alto grado de exposición.

Las fumonisinas inhiben el crecimiento celular y provoca la acumulación de bases esfingoides libres y trastornos del metabolismo de los lípidos en animales, plantas y algunas levaduras (Visconti y col., 1999), la relación esfinganina/esfingosina se ha considerado como un biomarcador útil para evaluar la exposición animal a niveles tóxicos en fumonisinas.

Se han desarrollado métodos químicos para la destrucción o inactivación de micotoxinas, sin embargo, la mayoría no satisfacen los criterios de aceptabilidad, ya que disminuyen el valor nutricional del producto o generan metabolitos residuales tóxicos. Los métodos biológicos se fundamentan en la presencia de un microorganismo controlador o en la acción de compuesto químicos específicos producidos por éste, que inhiben el crecimiento del hongo productor o directamente la producción de sus toxinas, sin embargo, la utilización de éste método debe evaluarse con mayor profundidad para evitar otros riesgos de patogenicidad.

Uno de los métodos más recientes propuestos para la prevención de las micotoxicosis, consiste en el uso de sustancias inertes (adsorbentes), estas sustancias actúan posteriormente secuestrando a las toxinas en el tracto gastrointestinal y reduciendo la biodisponibilidad de las mismas.

En el mercado se presentan diversos materiales adsorbentes, como son las zeolitas y los glucomananos, los cuales han mostrado eficiente capacidad de adsorción para las aflatoxinas. Sin embargo, existen pocos estudios sobre el efecto de dichos adsorbentes en dietas contaminadas con fumonisinas.

IV. JUSTIFICACIÓN

El presente estudio pretende evaluar la contaminación por fumonisinas en productos derivados de maíz para consumo humano ya que la población mexicana satisface sus necesidades de energía (60-75%), proteína (60%) y calcio (87%) a partir de productos como la tortilla. Por otra parte, en los alimentos balanceados para animales domésticos en México, el uso del maíz representa el 80% de la ración (Quintana, 2003).

Estudios epidemiológicos correlacionan altos niveles de fumonisinas en maíz con la alta incidencia de cáncer esofágico en humanos. El riesgo potencial a la salud en humanos y animales expuestos a fumonisinas puede ser estudiado mediante biomarcadores presentes en orina, suero y tejidos, que asocian la exposición con la alteración del organismo (Turner y col., 1999). La determinación de dichos biomarcadores puede contribuir a los estudios de estimación del grado de exposición junto con la detección de los niveles de contaminación por fumonisinas en alimento para consumo humano y animal.

Puesto que el problema de micotoxinas en pollos de engorda ocasiona importantes pérdidas económicas al verse afectados los parámetros productivos: consumo de alimento, ganancia de peso y eficiencia alimentaria, además de producir trastornos a la salud incrementado el porcentaje de mortalidad en casetas, el estudio de adsorbentes en raciones contaminadas con fumonisinas resulta de gran impacto e interés en la industria avícola, ya que estos han demostrado eficiencia en el tratamiento de otras micotoxinas.

Es importante de valorar la efectividad del uso de adsorbentes de micotoxinas en dietas contaminadas con fumonisinas sobre los parámetros productivos y sus efectos toxicológicos ya que existen pocos estudios en pollos de engorda que involucren conjuntamente la aplicación de biomarcadores como medida control del efecto de los adsorbentes de micotoxinas.

V. HIPÓTESIS

La población humana en México está expuesta a fumonisinas debido al consumo de productos a base de maíz contaminados con dicha micotoxina. La relación SA/SO es un biomarcador adecuado para medir dicha exposición.

El uso de adsorbentes de micotoxinas incorporados a los alimentos balanceados para aves, reducen la exposición a fumonisinas.

VI. OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES

- 6.1 Estimar la exposición a fumonisinas por el consumo de tortilla mediante la determinación de los niveles de esfinganina y esfingosina en orina de humanos.
- 6.2 Evaluar el efecto de dos adsorbentes incorporados al alimento contaminado con fumonisinas en pollos de engorda.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 6.1.1 Determinar los niveles de fumonisinas en productos derivados del maíz (tortilla, tostadas, tamales, elote y hojuelas de maíz) en la zona metropolitana de Guadalajara (ZMG)
- 6.1.2 Determinar los niveles de esfinganina y esfingosina, presentes en orina de alumnos del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, clasificados como grupos de bajo, mediano y alto consumo de tortilla.
- 6.1.3 Analizar la incidencia de cáncer en Jalisco, México (1994-2002).
- 6.2.1 Determinar los parámetros productivos en pollos de engorda alimentados con dietas experimentales con dos niveles de fumonisinas (75 y 100 mg/Kg), con y sin adsorbentes.
- 6.2.2 Determinar las actividades enzimáticas de aspartato aminotransferasa y alaninoaminotransferasa, la concentración de proteínas totales y los niveles de esfinganina y esfingosina en suero de pollo de engorda por efecto del consumo de alimento contaminado con fumonisinas, con y sin adsorbentes.
- 6.2.3 Determinar la concentración de proteínas y glutatión reducido en tejidos (hígado y riñón) de pollos de engorda alimentados con dietas experimentales con dos niveles de fumonisinas (75 y 100 mg/Kg) con y sin adsorbentes.
- 6.2.4 Realizar un estudio histopatológico de tejidos: hígado y riñón.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo es un estudio de tipo analítico y experimental, se llevó a cabo en el Laboratorio de Micotoxicología del Departamento de Salud Pública del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara y en colaboración con el Departamento de Clínica Veterinaria del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y el Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

7.1. Estimación de la exposición a fumonisinas por el consumo de tortilla mediante la determinación de los niveles de esfinganina y esfingosina en orina de humanos.

7.1.1. Determinación de los niveles de fumonisinas en productos derivados del maíz (tortilla, tostadas, tamales, elote y hojuelas de maíz) en la zona metropolitana de Guadalajara (ZMG).

7.1.1.1. Muestreo

La determinación de los niveles de contaminación con fumonisinas en tortillas que se expenden en la ZMG, se realizó mediante un muestreo aleatorio en expendios de tortillas, en las 7 zonas de Guadalajara (Centro, Minerva, Huentitán, Oblatos, Olímpica, Tetlán, Cruz del Sur), Tonalá, Tlaquepaque y Zapopan, obteniéndose 3 muestras por zona/mes con un total de 360 muestras de tortillas, el muestreo se realizó durante un año, una vez al mes, durante los meses de febrero de 2003 a enero de 2004, a fin de determinar si existían períodos de mayor contaminación con fumonisinas en tortillas.

Para la determinación del nivel de fumonisinas en los productos derivados de maíz (tostadas, tamales, elote y hojuelas de maíz) se realizó un muestreo aleatorio puntual seleccionando 10 muestras por producto en expendios localizados al azar en la zona metropolitana de Guadalajara. Las muestras de las tortillas y productos derivados de maíz se analizaron

mediante la técnica de cromatografía de inmunoafinidad con detección fluorométrica previa desecación y molienda.

7.1.1.2. Extracción y cuantificación de fumonisinas

La extracción y cuantificación de FBs se realizó mediante cromatografía de inmunoafinidad con detección fluorométrica siguiendo la metodología propuesta por Ware y col. (1994), se colocaron 50 g de muestra (previamente molida) y 5 g de cloruro de sodio en una jarra para licuadora, se agregaron 100 mL de metanol (grado reactivo) al 80% y homogeneizaron durante 1 minuto a alta velocidad, se filtró a través de papel filtro Whatman No. 1 y se colectó el extracto en un vaso de precipitado, 10 mL del extracto se diluyeron con 40 mL de solución buffer fosfato (PBS) al 0.1% y se filtró a través de un filtro de fibra de vidrio de 1 μ m, se pasaron 10 mL del extracto diluido y filtrado (10 mL equivalen a 1 g de la muestra) a través de una columna de fumoni-test marca VICAM, después de que el extracto pasó completamente a través de la columna, se pasaron 10 mL de solución buffer fosfato (PBS) al 0.1% y 10 mL de agua destilada, se eluyeron las fumonisinas pasando 1 mL de metanol (grado HPLC) por la columna y se colectó el eluato en un tubo fluorométrico y se agregó 1 mL de una mezcla de reactivo de OPA (o-ftadialdehído) y 2-mercaptoetanol y se mezcló, se colocó la cubeta en el fluorómetro ya calibrado con los estándares y después de 4 minutos se leyó la concentración (mg/Kg) de fumonisinas.

7.1.2. Determinación de los niveles de SA y SO, presentes en orina de alumnos del CUCBA, clasificados como grupos de bajo, mediano y alto consumo de tortilla.

Para llevar a cabo esta etapa del estudio se realizó una encuesta (Anexo 1) en estudiantes del CUCBA de tipo aleatoria, que permitió establecer los grupos de bajo, mediano y alto consumo de alimentos derivados del maíz, estableciéndose las siguientes delimitaciones:

A) Criterios de inclusión:

- Estudiantes del CUCBA
- Alumnos con edad de: 19-24 años

- Alumnos cuyo peso fue: hombres de 67-89 Kg y mujeres de 49-68 Kg
- Alumnos sanos
- Alumnos sin medicación
- Alumnos que consuman tortillas

B) Criterios de exclusión:

- Personal Académico y administrativo del CUCBA
- Alumnos menores de 19 años y mayores de 24
- Alumnos que padezcan alguna enfermedad crónica
- Alumnos que se encuentren bajo medicación
- Alumnos que fumen más de 10 cigarrillos al día
- Alumnos que ingieran bebidas alcohólicas de manera cotidiana
- Alumnos que no vivan dentro de la ZMG

Para la determinación del tamaño de muestra se consideró la población estudiantil total del CUCBA que fue de 2,300 estudiantes activos (ciclo escolar 2002 "A"), datos proporcionados por el Control Escolar del CUCBA y se utilizó la fórmula propuesta por Daniel (1989) con una precisión de 0.4 y una varianza de 11.37, dicha varianza resultó de un estudio piloto que se realizó previamente, en el cual se categorizó el consumo diario de tortilla, como bajo (< 4), medio (4-10) y alto (>10) una vez determinado el tamaño de muestra, se procedió a seleccionar a los alumnos de acuerdo a los criterios de inclusión y de exclusión previamente establecidos.

A partir de la encuesta realizada, se seleccionaron dos grupos: uno de hombres y otro de mujeres y se formaron tres subgrupos de cada categoría: bajo, mediano y alto consumo de productos derivados de maíz (básicamente tortilla). El grupo a evaluar quedó de la siguiente manera: 23 hombres, 6 de consumo alto (>10 tortillas), 10 de consumo medio (4-10 tortillas) y 7 de consumo bajo (< 10 tortillas) y 15 mujeres: 6 de consumo medio y 9 de consumo bajo. De dichos alumnos, inicialmente (Etapa A) se obtuvieron muestras de orina para la determinación de los niveles de esfingánina y esfingosina.

Posteriormente los grupos bajo estudio dejaron de consumir alimentos de maíz durante dos semanas y se solicitó una segunda muestra de orina (Etapa B); para finalizar, los estudiantes reintegraron a su dieta alimentos de maíz y una semana después se obtuvo una tercera muestra de orina (Etapa C) y se compararon los resultados, así mismo, durante esta última semana se realizaron análisis de fumonisinas a las tortillas de maíz que consumieron los estudiantes incluidos en el estudio mediante la técnica de cromatografía de inmunoafinidad con detección fluorométrica.

La estimación del consumo diario de fumonisinas de cada voluntario, se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula (Qiu y Liu, 2001):

$$Y = \frac{C \times D}{W}$$

Donde:

Y = $\mu\text{g}/\text{Kg}$ peso vivo/día

D = g de tortillas consumidas diariamente

C = μg de FBs/g de tortilla

W = peso vivo en Kg

7.1.2.1. Determinación de los niveles de SA/SO en orina

La determinación de los niveles de SA/SO en orina se realizó según la metodología propuesta por Solfrizzo y col. (1997a). Dos mL de orina se diluyeron con 2 mL de metanol, se alcalinizaron con 1.2 mL de hidróxido de amonio 0.35 M y se extrajeron las bases esfingoides con 4 mL de cloroformo (previamente deshidratado con sulfato de sodio anhidro en polvo), agitando durante 1 minuto en Vortex, el extracto se centrifugó a 2,800 rpm durante 10 minutos, una alícuota del extracto clorofórmico se limpió a través de una minicolumna de polipropileno de 12 mm de diámetro compuesta de 0.2 g de sílica gel 60 (15-14 μm) y 5 g de sulfato de sodio en cristales. La minicolumna se acondicionó con 3 mL de cloroformo antes de ser utilizada, manteniéndola a un flujo de 2 mL/min. Tres mL del extracto clorofórmico, se pasaron a través de la columna y se descartó. La elusión de las bases esfingoides se realizó con

una solución de cloroformo:metanol:hidróxido de amonio (50:50:2), el cual se recuperó en un tubo y evaporó a sequedad a 60°C bajo nitrógeno, las muestras se resuspendieron en 250 µL de metanol-agua (9:1) y se analizaron mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

Para la cuantificación de los niveles de SA y SO, los extractos purificados se derivatizaron con 50 µL de reactivo OPA y se agitaron durante 30 segundos, un volumen de 50 µL se inyectó en el cromatógrafo después de una hora de la derivatización. La separación se realizó en columnas de fase reversa C18 (Supercosil LC-ABZ+plus) de 15 cm x 4.6 D.I. y tamaño de partícula de 5 µm, con una precolumna de las mismas características. El sistema HPLC consistió de una bomba Hewlett Packard (HP) 1100 conectado a un detector de fluorescencia HP 104 A y a un integrador HP. La fase móvil que se utilizó fue metanol-agua (9:1) durante 13 minutos seguida a los 5 minutos de metanol a flujo de 1 mL/min. Para lograr el equilibrio de la columna después de cada muestra, se pasó metanol-agua (9:1) durante 7 minutos, el rango de excitación y emisión fue de 335 y 440 nm respectivamente. La cuantificación de SA/SO se realizó midiendo las áreas de los picos y extrapolando los valores en una curva de calibración. La evaluación de la recuperación para SA/SO se llevó a cabo con muestras contaminadas con 15 ng/mL, 7.5 ng/mL y 1.5 ng/mL de SA/SO.

7.1.3. Incidencia de cáncer en Jalisco (1994-2002)

Se realizó una investigación que comprendió de 1994 a 2001, para conocer la incidencia de los diferentes tipos de cáncer durante este período en México, considerando los archivos que se tienen en el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). Posteriormente a la revisión de los datos registrados por el Sistema Nacional de Salud el cual integra las siguientes Instituciones: Secretaría de Salud (SSA), Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia (DIF), Secretaría de la Defensa Nacional (SDN), Secretaría de Marina (SM) y Petróleos Mexicanos (PEMEX), se conformó un cuadro con los tipos de cáncer relacionados con el trato digestivo y se incluyeron los registros relacionados con defectos en tubo neural.

7.2. Evaluación del efecto de adsorbentes incorporados al alimento contaminado con fumonisinas en pollos de engorda

Esta etapa del estudio se realizó en la caseta experimental del Departamento de Clínica Veterinaria del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Para efectuar dicha prueba inicialmente se contaminó maíz con FBs y posteriormente se formularon las dietas a evaluar. Para la producción de FBs se colocaron 1,000 g de maíz comercial en matraces Erlenmeyer de 2 L, se hidrataron con 350 mL de agua destilada y se esterilizaron en autoclave a 121°C por 30 minutos, dos veces durante dos días consecutivos. Posteriormente los granos se inocularon con una suspensión preparada con la cepa de *F. verticillioides* M7075 (alta productora de FBs) y agua destilada estéril, se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 28 días. Para evitar la formación de cúmulos por efecto de la fermentación, los matraces se agitaron manualmente durante los primeros días de incubación.

Después del periodo de incubación los granos se esterilizaron nuevamente a 121°C con la finalidad de inactivar el hongo, después se secaron a 60°C durante 72 hrs y se molieron finamente en molino de cuchillas para la posterior cuantificación de FBs.

La cuantificación de FBs se realizó mediante la técnica propuesta por Shephard y col. (1990) modificada por Doko y col. (1995). A partir de 25 g de grano molido, las toxinas se extrajeron con 50 mL de una mezcla de metanol:agua (3:1), se agitó el extracto 30 minutos en agitador rotatorio, luego se filtró a través de papel Whatman No. 4, se tomaron 10 mL del filtrado y se pasó a través de un cartucho SAX Varian (bond elut strong anion-exchange) previamente acondicionado por el pasaje de 5 mL de metanol seguido de 5 mL de metanol:agua (3:1), después de pasar el filtrado, el cartucho se lavó con 3 mL de metanol:agua (3:1) seguido de 3 mL de metanol. Las FBs fueron eluidas con 14 mL de una solución de ácido acético al 0.5% en metanol. El eluato se evaporó a sequedad a 40°C bajo nitrógeno y el extracto seco se guardó a 4°C hasta el momento de su análisis por HPLC.

Para la detección y cuantificación de las fumonisinas, el extracto seco se redisolvió en 200 μL de acetonitrilo:agua (1:1), se tomaron 50 μL del extracto diluido y se derivatizó con 200 μL de una solución de O-pthaldialdehído (OPA). La solución derivatizante se preparó disolviendo 40 mg de OPA en 1 mL de metanol, adicionando 5 mL de tetraborato de sodio 0.1 M y 50 μL de 2-mercaptoetanol. Como fase móvil se utilizó metanol:fosfato de sodio monobásico 0.1 M (75:25), el pH de la solución fue ajustado a 3.35 ± 0.5 con ácido ortofosfórico. El flujo de la fase móvil fue de 1.5 mL/min, el rango de excitación y emisión de 335 y 440 nm respectivamente. Las fumonisinas derivatizadas (20 μL) se analizaron mediante un sistema de detección con fluorescencia en HPLC. La cuantificación de FBs se realizó midiendo las áreas de los picos y extrapolando los valores en una curva de calibración, los estándares que se utilizaron fueron de: 2.5 $\mu\text{g/mL}$ FB₁ + 1.5 $\mu\text{g/mL}$ FB₂; 5.0 $\mu\text{g/mL}$ FB₁ + 2.5 $\mu\text{g/mL}$ FB₂ y 10 $\mu\text{g/mL}$ FB₁ + 5 $\mu\text{g/mL}$ FB₂.

7.2.1. Determinación de los parámetros productivos en pollos de engorda alimentados con dietas experimentales con dos niveles de FBs (75 y 100 mg/Kg) con y sin adsorbentes

7.2.1.1. Muestreo

Bajo un diseño experimental completamente al azar se seleccionaron 162 pollos machos de engorda de la estirpe Ross, de un día de edad y se formaron 9 grupos (tratamientos) de 6 pollos cada uno con tres repeticiones por tratamiento (tabla 7). Se prepararon dietas que incluyeron dos niveles de fumonisinas (75 mg/Kg y 100 mg/Kg) y se agregaron los adsorbentes: clinoptilolita (2.5 Kg/ton de alimento) y manano oligosacáridos (2 Kg/ton de alimento) por cada inclusión de fumonisina, dichas dietas fueron formuladas ajustando la proporción del maíz contaminado, con los otros ingredientes de manera que mantuvieron niveles isoprotéicos e isoenergéticos (tabla 8). La etapa experimental tuvo una duración de 42 días de engorda. Los pollos se vacunaron contra la enfermedad de Newcastle al día 1, 12, 24 y 32; Bronquitis y Gumboro al día 12 de edad. El alimento y agua se proporcionaron *Ad-libitum*.

Tabla 7. Diseño experimental para la evaluación del efecto del consumo de alimento contaminado con fumonisinas y el uso de adsorbentes.

Tratamiento	Alimento	n	Repeticiones	Total
T1	Control	6	3	18
T2	Clinoptilolita	6	3	18
T3	Manano oligosacáridos	6	3	18
T4	75 mg/Kg fumonisinas	6	3	18
T5	75 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita	6	3	18
T6	75 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos	6	3	18
T7	100 mg/Kg fumonisinas	6	3	18
T8	100 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita	6	3	18
T9	100 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos	6	3	18
No. total de pollos				162

Tabla 8. Formulación de las dietas para los diferentes tratamientos (Kg/ton) de la prueba experimental en pollos de engorda.

Ingredientes	T1 Control		T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
	Ini	Fin								
Sorgo	67.1	60.2	67.0	67.0	33.5	33.5	33.5	-	-	-
Maíz-fumonisina	-	-	-	-	33.5	33.5	33.5	67.0	67.0	67.0
Aceite soya	3.9	4.6	4.0	4.0	4.0	3.75	3.8	4.0	3.75	3.5
Microiniciación pollo	4.0	5.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Pasta de soya	20.0	30.2	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Clinoptilolita	-	-	0.25	-	-	0.25	-	-	0.25	0
Manano oligosacáridos	-	-	-	0.2	-	-	0.2	-	-	0.2
Harina de pescado	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Análisis Calculado										
Materia seca	90.9	84.0	90.9	90.9	90.9	90.9	90.9	90.9	90.9	90.9
Proteína cruda	22.7	18.9	22.7	22.7	22.8	22.8	22.8	22.8	22.8	22.9
Energía (Mcal/Kg)	2.91	2.82	2.92	2.92	2.92	2.90	2.90	2.92	2.90	2.90

Ini: Iniciación, Fin: Finalización, T: Control, T2: Clinoptilolita, T3: Manano oligosacáridos, T4 : 75 mg/Kg de fumonisinas , T5: 75 mg/Kg fumonisinas + Clinoptilolita, T6: 75 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos, T7:100 mg/Kg fumonisinas, T8:100 mg/Kg fumonisinas + Clinoptilolita, T9:100 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos.

Una vez preparadas las dietas de los diferentes tratamientos se procedió a determinar los niveles de micotoxinas (AFs, OAs y FBs) mediante inmunoensayo enzimático y se determinó el análisis proximal de las raciones mediante las técnicas descritas por la AOAC (1997).

Los animales se mantuvieron en condiciones normales y a partir del día 14, consumieron alimento contaminado durante una semana (del día 14 al 21 de edad), el alimento contaminado se suspendió a partir de esta fecha, para la 4^a, 5^a y 6^a semanas posteriores, los pollos consumieron alimento sin fumonisinas, se sacrificaron 10 aves al día 14 de edad (inicio del experimento) y 1 ave/tratamiento/repetición a los 21 y 35 días de edad de las aves (7 y 21 días post-exposición a fumonisinas). Previo al sacrificio se obtuvieron 3 mL de sangre que fue centrifugada a 1,500 rpm durante 10 minutos para separar el suero y almacenarlo congelado a -20°C previo a las determinaciones analíticas. Se tomaron muestras de tejido hepático y renal para las determinaciones de proteínas totales, glutatión reducido (GSH) y para el estudio histológico.

7.2.1.2. Parámetros productivos

Se llevaron a cabo en forma periódica (semanal) los registros de los parámetros productivos: consumo de alimento (CA), ganancia de peso (GDP), eficiencia alimentaria (EA), índice de productividad (IP), índice de conversión (IC), punto de desenvolvimiento (PD), índice de eficiencia (IE) y mortalidad.

El peso promedio se obtuvo a partir del peso total de los pollos en cada tratamiento y repetición divididos entre el número de aves. La ganancia diaria de peso, es el promedio de peso por ave entre la edad en días del ave (al término de experimento). La eficiencia alimentaria se calculó dividiendo 1,000 entre el índice de conversión. El índice de productividad se obtuvo al multiplicar la ganancia diaria de peso por ave por el porcentaje de viabilidad de la parvada, esto se divide entre el producto del índice de conversión por 10. El índice de conversión es igual al total de kilos de alimento consumidos entre el total de kilos de carne producidos. Respecto al punto de desenvolvimiento, éste se calculó multiplicando el peso vivo del ave en kilos por 2.2 menos el índice de conversión por 100. Por último el índice

de eficiencia se obtuvo dividiendo el peso del ave en kilos entre el índice de conversión y multiplicando por 100.

7.2.2. Determinación de la actividad enzimática de AST y ALT, concentración de proteínas y niveles de SA y SO en suero

Para la determinación de AST, se empleó el kit de soluciones ya preparadas Sera Pak Plus ®. Se colocaron 100 µL de suero en un tubo de ensayo y se agregó un mL de reactivo de trabajo, se mezcló e incubó a 37 °C y tras una incubación de 1 minuto se midió el cambio de absorbancia contra agua destilada, durante 3 minutos a 340 nm en espectrofotómetro, para calcular las U/L de AST se multiplicó la diferencia de absorbancia por el factor 1.746 (IFCC, 1997). Para la determinación de ALT se utilizó el kit de soluciones ya preparadas Sera Pak Plus ®, y se procedió de igual manera que para la determinación de la actividad enzimática de AST, sólo que se utilizaron las soluciones correspondientes para dicha determinación (IFCC, 1976).

Para la determinación de proteínas totales en suero, se colocaron 20 µL de suero sanguíneo en un tubo de ensayo y se agregó 1 mL de reactivo de Biuret, de igual manera se hizo un blanco con agua destilada y un patrón de concentración conocida, se agitaron los tubos y se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente, al cabo de este tiempo se leyó la absorbancia de las muestras y del patrón frente al blanco a 545 nm en espectrofotómetro, la concentración de proteína de la muestra se calculó a partir de la absorbancia de la muestra sobre la absorbancia del patrón por la concentración del patrón (Tietz, 1999).

Para llevar a cabo la determinación de los niveles de SA y SO en suero, se mezclaron 0.5 mL de suero con 1.5 de cloruro de potasio al 0.8%, más 50 µL de hidróxido de potasio 1 M y se procedió a la extracción con 4 mL de acetato de etilo, agitando por rotación durante 20 minutos. Se centrifugó a 1,100 rpm durante 15 minutos y se recuperó la fase orgánica, se evaporó a sequedad a 55°C bajo flujo de nitrógeno. Las muestras se resuspendieron en 275 µL de fosfato dibásico de potasio 0.07 M: metanol (1:9) y se analizaron mediante cromatografía de líquidos de alta resolución.

Los extractos purificados se derivatizaron con 25 μ L de reactivo OPA y se agitaron durante 30 segundos, un volumen de 50 μ L se inyectó en el cromatógrafo después de 30 minutos de la derivatización. El sistema HPLC es similar al descrito en el punto 7.1.2.1. La separación se realizó en columnas de fase reversa C18 (Supercosil LC-ABZ+plus) de 15 cm x 4.6 D.I. y tamaño de partícula de 5 μ m, con una precolumna de las mismas características. El flujo de la fase móvil fue de 0.8 mL/minuto, bajo el siguiente sistema de gradiente de solventes: 0-15 minutos: metanol (10%) y fosfato de potasio 0.07 M: metanol (1:9) (90%); 16-21 minutos: metanol (30%) y fosfato de potasio 0.07 M: metanol (1:9) (70%); 22-27 minutos: metanol (100%) y del minuto 28-35: metanol (10%) y fosfato de potasio 0.07 M: metanol (1:9) (90%), el rango de excitación y emisión fue de 335 y 440 nm respectivamente. La cuantificación de SA/SO se realizó midiendo las áreas de los picos y extrapolando los valores en una curva de calibración (Castegnaro y col., 1998).

7.2.3. Determinación de proteínas totales y GSH en tejidos

Se colocaron 250 mg de tejido (hígado y riñón) y se agregó 3.75 mL de solución buffer fosfato (ácido etilendiamino tetracético: EDTA) y 1 mL de ácido metafosfórico al 25% se homogenizó y centrifugó a 1,000 rpm, se tomaron 0.5 mL de sobrenadante y se agregaron 4.5 mL de buffer de fosfatos EDTA pH 8.0 y se mezclaron. Se tomaron 100 μ L de esta mezcla y se agregaron 1.8 mL de buffer fosfato EDTA pH 8.0 y 100 μ L de solución OPT. Se Incubó a temperatura ambiente por 15 minutos y se leyó a 420 nm de emisión y 350 nm de excitación en un espectrofluorómetro Perkin LBS50 (Hissin y Hilf, 1976).

Para la determinación de GSH en tejidos, se colocaron 0.5 g de tejido en un homogenizador y se agregaron 5 mL de solución amortiguadora Tris HCl (10 mM, pH 7.4, EDTA 5 mM, sacarosa 250 mM, cloruro de calcio 10 mM, a 4°C) se centrifugó a 800 rpm, se tomaron 100 μ L de sobrenadante y se agregaron 9.9 mL de agua desionizada y se mezcló, de esta mezcla se tomaron 200 μ L y se le agregaron 800 μ L de agua, 2 mL de reactivo A más 2.0 mL de tartrato de sodio y potasio al 2% y 2.0 mL de sulfato de cobre al 1%, se dejó incubar por 15 minutos y se agregó 1.0 mL de reactivo de Folin (1:6), se incubó por 45 minutos y se leyó a 750 nm en

un espectrofotómetro UV Varian DMS 80, para obtener el resultado se realizó una curva patrón con albúmina sérica bovina (Peterson, 1997).

7.2.4. Estudio histopatológico

Para realizar el estudio histopatológico de los tejidos se sacrificó un animal por tratamiento y repetición, a los 0, 7 y 21 días post-exposición a fumonisinas, se extrajeron las vísceras y separaron hígado y riñón, los cuales se fijaron por inmersión en solución formalina al 10% estabilizada. Muestras representativas de 1 cm³ se sometieron al procesamiento rutinario histológico con deshidratación en series crecientes de etanol, aclaración con xilol e inclusión en parafina, utilizando un procesador de tejidos Lipshow modelo 1,000. Se realizaron cortes de 3-5 µm de espesor y se tiñeron con la tinción de hematoxilina y eosina, para su estudio descriptivo al microscopio de luz (AFIP, 1995).

7.3. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron contrastados estadísticamente mediante análisis de varianza y pruebas de Tukey bajo un nivel de confianza de 99 y 95 %, con el programa estadístico SAS (Statistical Análisis System, 1996).

VIII. RESULTADOS

8.1 Estimación de la exposición a fumonisinas por el consumo de tortilla mediante la determinación de los niveles de esfinganina y esfingosina en orina de humanos

8.1.1. Concentración de fumonisinas en productos derivados del maíz (tortilla, tostadas, tamales, elote y hojuelas de maíz) en la ZMG

Se encontró contaminación por fumonisinas en el 100% de las muestras analizadas (tortillas, tostadas, tamales, elote y hojuelas de maíz). Cuando se evaluaron los niveles de fumonisinas en tortillas en las 10 zonas de la ZMG, los niveles oscilaron de 0.22-12 mg/Kg, encontrándose en promedio 1.99 mg/Kg, detectándose la mayor contaminación en Tonalá (2.72 mg/Kg) y la menor en las de la zona de Huentitán (1.68 mg/Kg) (Tabla 9), sin mostrar diferencia estadística significativa entre zonas ($p>0.05$). La figura 4 muestra el comportamiento de la contaminación por fumonisinas que se presentó en las diferentes zonas durante un año (Febrero de 2003 – Enero de 2004) apreciándose mayor contaminación los meses de noviembre, diciembre y enero sin mostrar diferencia estadística ($p>0.05$) entre meses, los niveles promedio fueron de 1.40 mg/Kg (febrero) a 3.61 mg/Kg (diciembre).

Tabla 9. Concentración de fumonisinas (mg/Kg) en tortillas (n=360) de la zona metropolitana de Guadalajara (Febrero 2003 – Enero 2004)

Zonas	Promedio (mg/Kg)	Máximo (mg/Kg)	Mínimo (mg/Kg)	CV
Centro	2.15	5.4	0.30	62.12
Minerva	1.99	6.7	0.22	64.53
Huentitán	1.68	3.5	0.43	48.22
Oblatos	2.20	6.7	0.25	68.60
Olimpica	2.24	6.0	0.68	58.57
Tetlán	2.08	4.4	0.31	52.47
Cruz del Sur	2.16	6.9	0.31	78.56
Zapopan	2.46	12	0.33	80.86
Tlaquepaque	2.70	10	0.23	79.62
Tonalá	2.72	10	0.21	68.32

CV: Coeficiente de variación

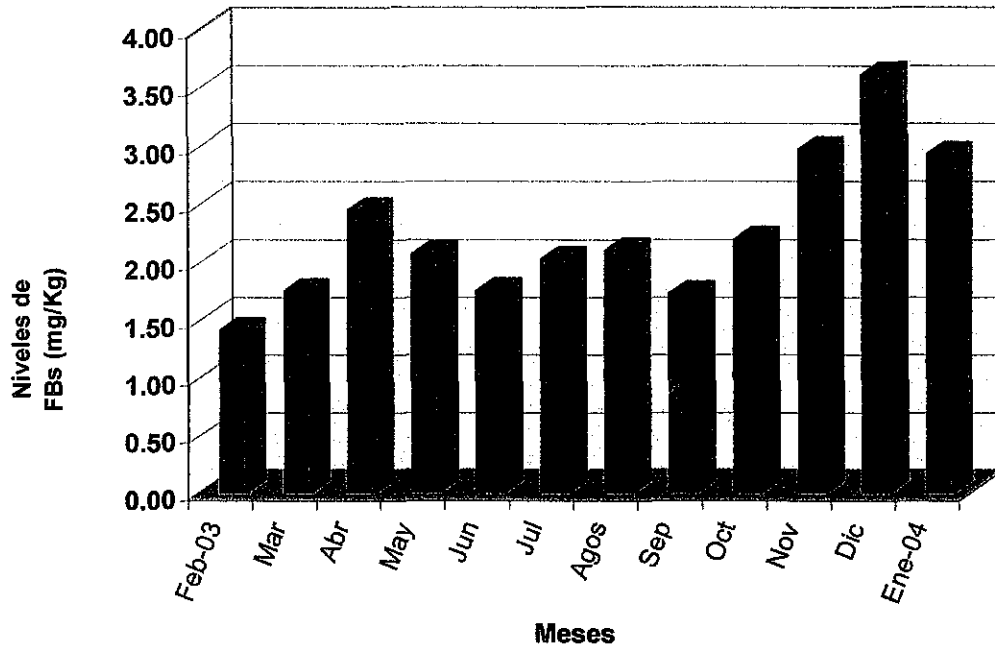


Figura 4. Niveles de fumonisinas (mg/Kg) en tortillas de la ZMG determinados de Febrero de 2003 a Enero de 2004.

Los niveles encontrados en los diferentes productos a base de maíz se muestran en la tabla 10, encontrándose diferencia significativa ($p < 0.05$) entre productos. Los mayores niveles de contaminación correspondieron al elote (4.62 mg/Kg), mayor significativamente que los tamales (2.41 mg/Kg), tostadas (2.30 mg/Kg), tortillas (2.03 mg/Kg) y hojuelas de maíz (1.70 mg/Kg).

Tabla 10. Niveles promedio de fumonisinas (mg/Kg) en productos de maíz de la zona metropolitana de Guadalajara.

	Elote (mg/Kg)	Tamales (mg/Kg)	Tostadas (mg/Kg)	Tortilla (mg/Kg)	Hojuelas de maíz (mg/Kg)
Promedio	4.62 a	2.41 b	2.30 b	2.03 b	1.70 b
Máximo	5.40	6.10	4.90	12.00	5.20
Mínimo	1.20	0.76	0.58	0.22	0.52
CV	0.90	0.70	0.60	0.25	1.00

CV: Coeficiente de variación. Las literales indican diferencia estadística entre productos.

8.1.2. Niveles de SA y SO, presentes en orina de alumnos del CUCBA, clasificados como grupos de bajo, mediano y alto consumo de tortilla

8.1.2.1. Determinación de los niveles de SA/SO en orina de alumnos del CUCBA

El análisis de las muestras de orina permitió detectar niveles de esfinganina (SA) y esfingosina (SO) similares estadísticamente ($p > 0.05$) entre sexo (tabla 11), los niveles promedio de SA fueron de 1.83 y 1.69 ng/mL para hombres y mujeres y de SO de 1.76 y 1.65 ng/mL mostrando una relación SA/SO de 1.04 y 1.02 respectivamente.

La valoración de los niveles de SA y SO y de la relación SA/SO de acuerdo al consumo de tortilla no mostró diferencia estadística ($p > 0.05$) (tabla 12), los niveles promedio de SA fueron 1.99 ng/mL, 1.74 ng/mL y 1.76 ng/mL y de SO fueron: 1.95 ng/mL, 1.70 ng/mL y 1.64 ng/mL para los niveles de consumo alto, mediano y bajo respectivamente.

Cuando se analizaron los resultados de acuerdo a las diferentes etapas del muestreo (Etapa A: inicio de la prueba; Etapa B: al término de 2 semanas de restricción de consumo de tortilla y Etapa C: una semana después de reincorporarse el consumo de tortilla), la etapa A mostró los niveles mayores de SA (2.48 ng/mL) y SO (2.23 ng/mL) diferentes estadísticamente a las

etapas B y C (tabla 12). Sin embargo cuando se comparó la relación SA/SO se observó una relación mayor a 1, cuando los alumnos consumieron a libertad tortillas o productos derivados de maíz y menor a 1 cuando se restringió el consumo de dichos productos por dos semanas, estos valores fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) en todas las etapas.

Tabla 11. Niveles promedio de SA y SO y relación SA/SO de acuerdo al sexo, consumo de tortilla y etapas de estudio.

	Consumo de Tortilla					Etapas del estudio		
	Hombres	Mujeres	Alto (>10)	Medio (4-10)	Bajo (<4)	A	B	C
SA								
ng/mL	1.83	1.69	1.99	1.74	1.76	2.48 a	1.35 b	1.52 b
SO								
ng/mL	1.76	1.65	1.95	1.70	1.64	2.23 a	1.45 b	1.48 b
Relación								
SA/SO	1.04	1.02	1.02	1.02	1.07	1.11 a	0.93 c	1.03 b

Las literales indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las diferentes etapas de estudio, A: Inicio del Estudio, B: 2 semanas después de la restricción en el consumo de tortilla, C: 1 semana posterior al consumo normal de tortilla, SA: esfinganina, SO:esfingosina.

8.1.2.2. Estimación del consumo de fumonisinas en alumnos del CUCBA

La tabla 12 presenta los niveles promedio de FBs detectados en las tortillas proporcionadas por los alumnos que participaron en la prueba de estimación de la exposición a FBs. Los niveles promedio variaron de 1.67 a 2.36 mg/Kg. Además se calculó el consumo de tortilla/persona/día correspondiendo para el grupo de bajo consumo (< 4 tortillas): 90 g, para el de consumo mediano (4 a 10 tortillas): 210 g y para el grupo de consumo alto (>10 tortillas): 300 g, considerando que cada tortilla tuvo un peso aproximado de 30 g.

Con base en el consumo de tortillas por día y los niveles de FBs encontrados en las tortillas, se estimó el consumo diario de dichas micotoxinas en los diferentes grupos, determinándose niveles de 2.75 y 3.52 μg de FBs/Kg de p.v/día en hombres y mujeres del grupo de consumo bajo mientras que en el grupo de consumo mediano fue de 6.90 μg de FBs/Kg de p.v/día (en hombres) y de 7.0 μg de FBs/Kg de p.v/día (en mujeres) y en el grupo de consumo alto de tortilla fue de 6.36 μg de FBs/Kg de p.v/día (tabla 12).

Tabla 12. Estimación del consumo diario de fumonisinas en los grupos de bajo, mediano y alto consumo de tortilla.

Consumo de tortilla	Sexo	Peso promedio (Kg)	Niveles promedio de FBs en tortilla $\mu\text{g/g}$	Gramos de tortilla/persona por día	$\mu\text{g/g}$ de FBs/Kg de p.v/día
Bajo (<4)	M	72.0	2.20	90	2.75
	F	54.9	2.15	90	3.52
Mediano (4-10)	M	71.7	2.36	210	6.90
	F	59.0	1.97	210	7.00
Alto (> 10)	M	78.7	1.67	300	6.36

M: Masculino, F: Femenino, p.v: peso vivo

8.1.3. Incidencia de cáncer en Jalisco, México (1994-2002)

Se analizaron los datos de morbilidad hospitalaria así como las principales causas de mortalidad en México registrados en los archivos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) reportadas por el Sector Salud, encontrándose que el cáncer se encuentra entre las primeras 15 causas de enfermedad en el periodo revisado (1994 – 2002) y es considerado como la segunda causa de mortalidad en Jalisco, México (INEGI), no se

encontraron datos del número de casos de cáncer de esófago (CE) reportados por el Sector Salud, sin embargo los reportes de tumores malignos en hospitales particulares entre 1994 y 2002 clasifican el número de casos de cáncer de esófago de acuerdo a los órganos involucrados, la figura 5 permite observar que los órganos genitourinarios ocupan el segundo lugar en frecuencia y le siguen en importancia los órganos digestivos y del peritoneo. La figura 6 muestra a su vez, la clasificación de los tumores malignos de los órganos del trato digestivo apreciándose que el número de casos de cáncer esofágico fluctuó de 304 (1994) a 327 (2002).

El análisis de los diferentes casos de enfermedades que reporta el Sector Salud en México, permitió observar en 1998, defectos en tubo neural de recién nacidos (DTN), trastorno relacionado con la ingestión de FBs, reportándose en ese año 1,884 casos.

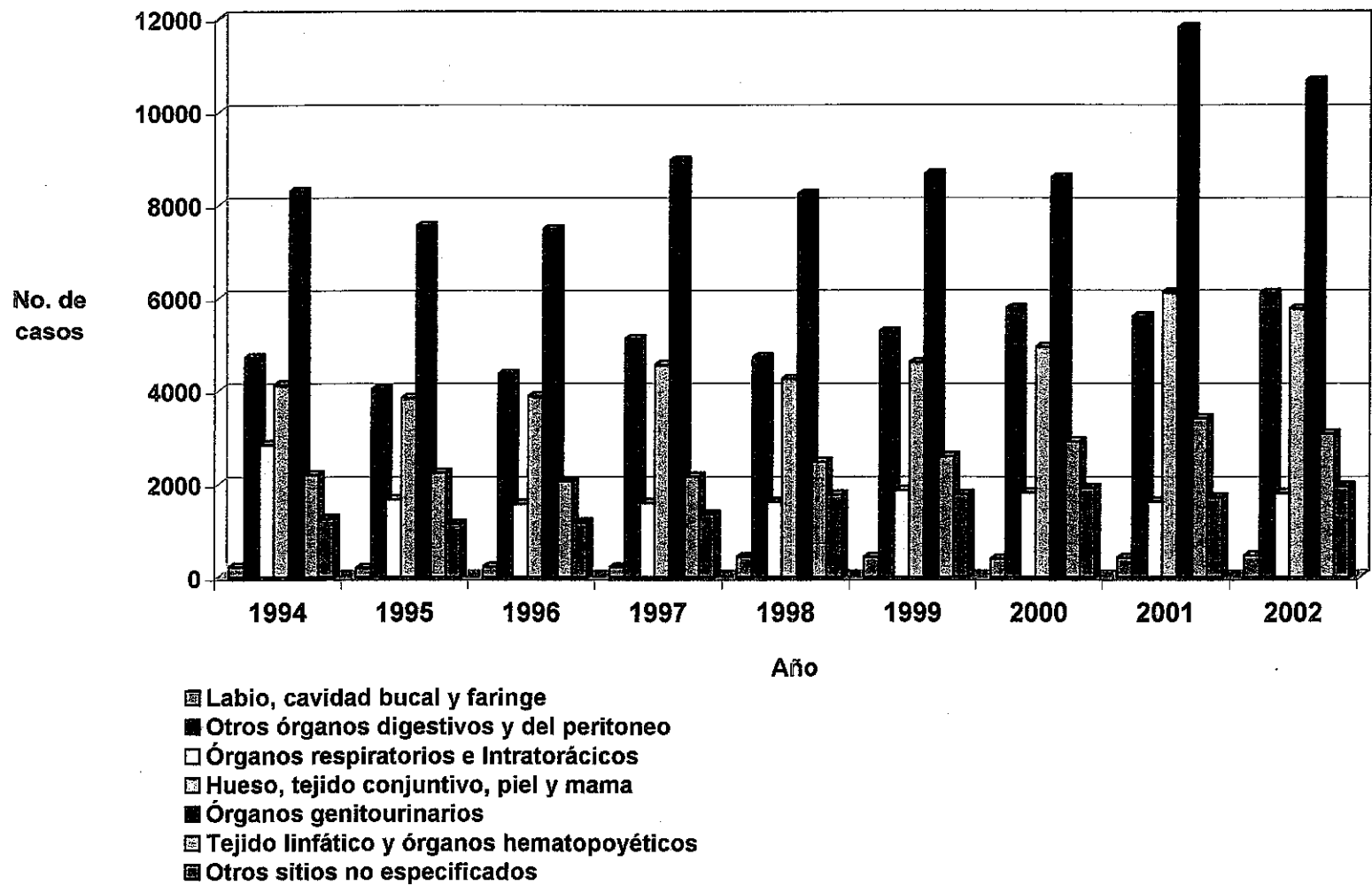


Figura 5. Número de casos de tumores malignos en Jalisco, México (1994-2002).

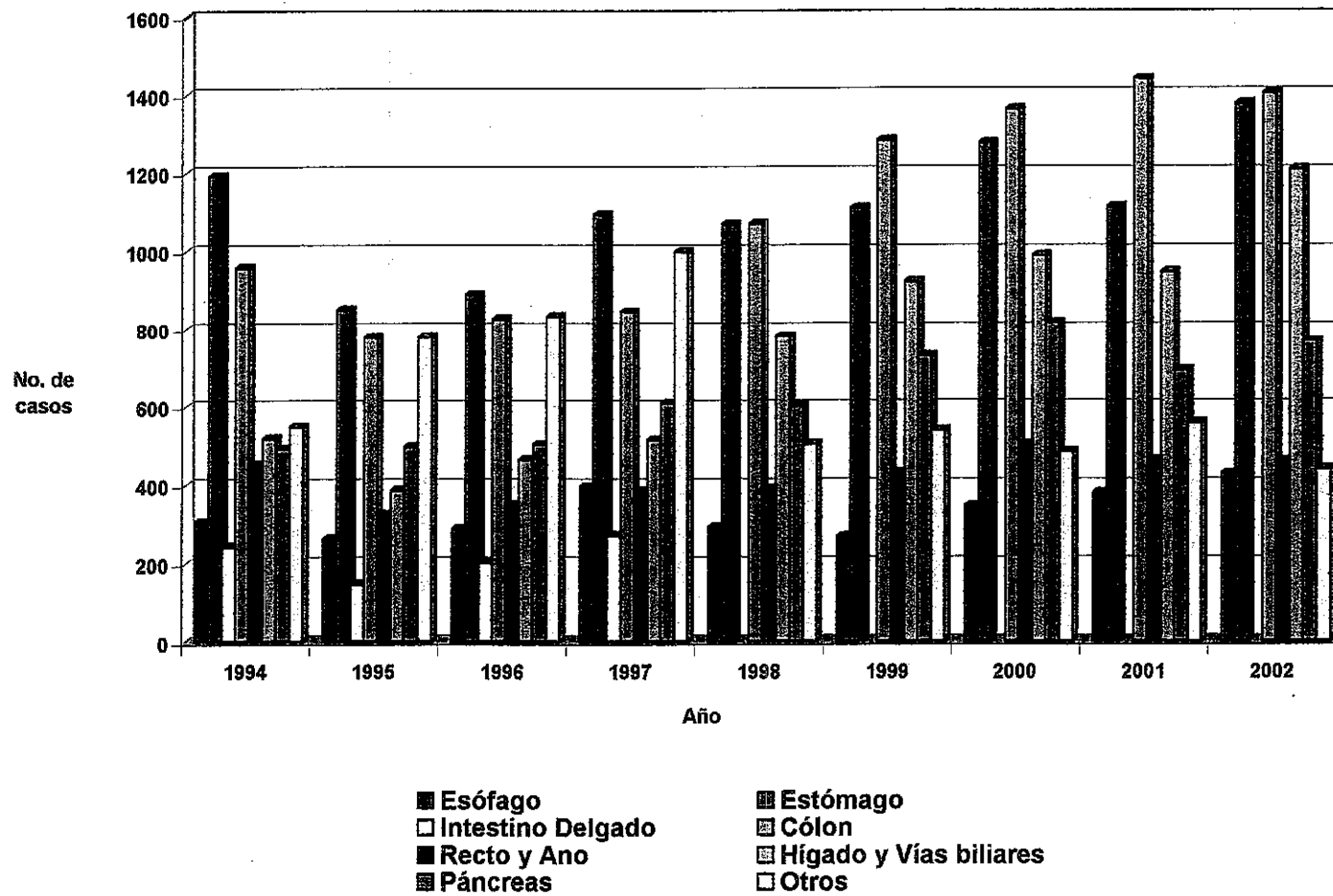


Figura 6. Número de casos de tumores malignos de los órganos del tubo digestivo en Jalisco, México (1994-2002).

8.2. Evaluación del efecto de adsorbentes incorporados al alimento contaminado con fumonisinas en pollos de engorda

La tabla 13 muestra los niveles de aflatoxinas (AFBs) y ocratoxinas (OAs) encontrados en las dietas experimentales, valores que se consideraron relativamente bajos y de no riesgo toxicológico para los animales.

Tabla 13. Niveles de micotoxinas en las dietas experimentales para pollos de engorda.

Micotoxina (ppb)	T1		T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
	Control									
	Ini	Fin								
Aflatoxina (20 ppb)	3.2	4.7	4.5	3.9	5.7	3.9	4.2	6.8	8.0	7.5
Ocratoxina (10 ppb)	3.8	7.1	4.3	2.2	3.1	1.5	4.4	3.4	3.4	2.8

Los niveles en el paréntesis indican los límites permisibles para pollo; Ini: Alimento de iniciación; Fin: Alimento de finalización, T1: control, T2: control + clinoptilolita, T3: Manano oligosacáridos, T4: 75 mg/Kg fumonisinas, T5: 75 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T6: 75 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos, T7: 100 mg/Kg fumonisinas, T8: 100 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T9: 100 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos.

8.2.1. Parámetros productivos

Los valores de los diferentes parámetros productivos se analizaron estadísticamente a los 14, 21, 35 y 42 días de edad del pollo con el propósito de evaluar el efecto del consumo de FBs entre los 14 y 21 días, semana en la que se expusieron los pollos a los niveles de FBs mencionados anteriormente. Los resultados no presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos en las diferentes etapas estudiadas, sólo se presentan los valores de los parámetros al término de la engorda a los 42 días (tabla 14).

El consumo de alimento observado durante la prueba experimental se mantuvo en un rango de 4.46 a 4.69 Kg/ave de manera acumulada a los 42 días, correspondiendo el mayor consumo al

tratamiento que contenía 100 mg/Kg de FBs y el menor al control. Los pesos promedio de las aves fluctuaron de 1.95 Kg (control) a 2.18 Kg (tratamiento con manano olicosacáridos: T3). Respecto a la ganancia diaria de peso (GDP), los valores fueron de 44 a 51 g, el tratamiento que incluyó solamente manano olicosacáridos obtuvo los mayores valores, sin ser diferente estadísticamente a los otros tratamientos.

La eficiencia alimentaria (EA) observada al término de la engorda coincide con lo observado en el parámetro de ganancia de peso diaria mostrando la mayor eficiencia (593) el tratamiento que incluyó sólo manano olicosacáridos y la menor (520) el tratamiento que contenía 100 mg/Kg de FBs, mismo tratamiento que mostró el mayor consumo de alimento, se considera aceptable una eficiencia alimentaria de 480 Kg de carne/ tonelada de alimento, por lo que si se comparan los valores obtenidos en los grupos estudiados, todos superan el valor aceptable.

En relación al índice de productividad (IP) los valores mostrados en los diferentes tratamientos fluctuaron de 237.76 a 302.52 los que corresponde al tratamiento con 75 mg/Kg de fumonisinas + manano olicosacáridos (T7) y el tratamiento sólo con manano olicosacáridos (T3) respectivamente, en términos generales todos los tratamientos fueron semejantes. El índice de conversión (IC) al término de estudio fluctuó de 1.7 a 1.9, el grupo con mejor índice de conversión lo presentó el tratamiento que únicamente incluyó manano olicosacáridos (T3) y el peor el tratamiento con 100 mg/Kg de FBs sin adsorbente (T5).

Los valores reportados para el punto de desenvolvimiento (PD) de los pollos al finalizar la prueba experimental fueron de 238 a 312, correspondiendo el mayor al tratamiento con manano olicosacáridos (T3) y el menor al tratamiento que incluía 75 mg/Kg de FBs más manano olicosacáridos (T7). El índice de eficiencia (IE) que se observó en los diferentes tratamientos varió de 108 a 130 (tabla 14).

Tabla 14. Niveles promedio de los parámetros productivos al término de la prueba experimental con los pollos de engorda

T	PP (Kg)		GDP (g)		EA		IP		IC		PD		IE	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	S	\bar{x}	s	\bar{x}	s
T1	1.95	0.22	45	5.27	553	47.92	252.54	52.08	1.8	0.15	247	63.42	108	22.03
T2	1.98	0.13	46	3.11	543	40.13	249.66	32.60	1.9	0.14	251	42.43	107	14.99
T3	2.18	0.15	51	3.52	593	15.95	302.52	26.47	1.7	0.04	312	35.84	130	11.33
T4	1.99	0.01	46	0.32	563	5.39	261.11	3.78	1.8	0.02	261	4.23	112	1.66
T5	1.99	0.08	46	1.87	577	25.35	263.57	22.93	1.8	0.08	262	25.05	113	9.57
T6	1.90	0.11	44	2.65	552	24.42	245.19	25.88	1.8	0.08	234	31.91	105	10.77
T7	1.97	0.04	46	0.96	520	8.81	237.76	5.46	1.9	0.03	241	8.76	102	2.42
T8	2.05	0.11	48	2.74	577	41.16	276.18	35.23	1.7	0.13	278	37.78	119	14.99
T9	2.07	0.04	49	0.93	567	25.55	273.75	16.25	1.8	0.08	279	14.62	117	6.77

T: tratamiento, PP: peso promedio, GDP: ganancia diaria de peso, EA: eficiencia alimentaria, IP: índice de productividad, IC: índice de conversión, PD: punto de desenvolvimiento, IE: índice de eficiencia, \bar{x} : promedio, s: desviación estándar, Kg: kilogramos, g: gramos, T1: control, T2: control + clinoptilolita, T3: Manano oligosacáridos, T4: 75 mg/Kg fumonisinas, T5: 75 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T6: 75 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos, T7: 100 mg/Kg fumonisinas, T8: 100 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T9: 100 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos.

8.2.2. Actividad enzimática de AST, ALT, concentración de proteínas totales y niveles de SA y SO en suero

La tabla 15 muestra los valores de AST, ALT y proteínas totales en suero, determinadas en los diferentes tratamientos. La actividad enzimática de la AST, fue mayor estadísticamente ($p < 0.05$) con 150 U/L en los tratamientos que incluyeron 75 mg/Kg de FBs (T4) y con 75 mg/Kg de FBs + manano oligosacáridos (T6), mostrando el control y el tratamiento que incluyó manano oligosacáridos (T3) los valores menores (90 y 83.3 U/L respectivamente). No se observaron diferencias significativas a los 21 días post-exposición, los valores fluctuaron entre 133 a 277 U/L.

La determinación de la actividad de ALT en las dos etapas estudiadas mostró niveles estadísticamente similares ($p > 0.05$) al control, el cual presentó niveles de 20 U/L en ambas etapas, mientras que los niveles mayores los presentó el tratamiento con 75 mg/Kg de FBs + clinoptilolita (T5).

Respecto a los niveles de proteínas totales en suero, se observó diferencia estadística ($p < 0.05$) en el día 7 post-exposición a las FBs, los niveles mayores fueron mostrados por el tratamiento control (3.2 g/dL) y el tratamiento que solo incluyó manano oligosacáridos (T3), mayores estadísticamente al tratamiento con 75 mg/Kg de FBs + clinoptilolita (T5) el cual reportó 1.9 g/dL. Los niveles de proteínas totales a los 21 días post-exposición fueron similares al control (2.8 g/dL) mostrando niveles mayores estadísticamente ($p < 0.05$) el tratamiento T3 con 4.0 g/dL.

Tabla 15. Actividad enzimática promedio de AST, ALT y proteínas totales en suero de pollos.

T	AST U/L				ALT U/L				Proteínas Totales g/dL			
	7 días post- exposición		21 días post- exposición		7 días post- exposición		21 días post- exposición		7 días post- exposición		21 días post- exposición	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
T1	90.0 b	26.46	136.7	30.55	20.0	10.00	20.0	0.00	3.2 ab	0.42	2.8	0.56
T2	130 ab	17.32	193.3	55.08	26.6	20.82	43.3	25.17	2.9 abc	0.19	2.8	0.60
T3	83.3 b	11.54	276.7	185.02	26.6	5.77	26.7	11.55	3.5 a	0.36	4.0	0.26
T4	150 a	36.06	200.0	70.00	27.0	15.28	23.3	5.77	2.4 bc	0.40	3.2	0.45
T5	133 ab	23.09	156.7	20.82	26.6	5.77	13.3	5.77	1.9 c	0.40	2.9	1.07
T6	150 a	10.00	170.0	36.06	36.7	28.87	83.3	0.00	2.2 bc	0.57	2.6	0.37
T7	133 ab	15.28	133.3	15.28	26.6	5.77	13.3	5.77	2.2 bc	0.28	3.6	0.70
T8	133 ab	15.28	150.0	30.00	26.6	5.77	13.3	5.77	2.9 abc	0.14	3.1	0.15
T9	137 ab	5.77	133.3	23.09	30.0	0.00	23.3	5.77	2.4 bc	0.39	2.8	0.65

Las literales indican diferencia estadística $p < 0.05$ entre tratamientos

Respecto a los niveles de SA, SO y la relación SA/SO determinados en suero sanguíneo se muestran en la tabla 16. Se observó diferencia estadística ($p < 0.05$) en los niveles de SA (11.16 ng/mL) del tratamiento T7 (100 mg/Kg de FBs) con respecto al control (1.90 ng/mL) a los 7 días y similares a los 21 días post-exposición. Mientras que los niveles de SO no presentaron diferencias significativas en las etapas estudiadas ($p < 0.05$). Sin embargo al analizar la relación SA/SO se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos a los 7 días post-exposición.

Tabla 16. Niveles de SA y SO y relación SA/SO determinados en suero sanguíneo de pollos.

T	SA				SO				Relación SA/SO			
	7 días post-exposición		21 días post-exposición		7 días post-exposición		21 días post-exposición		7 días post-exposición		21 días post-exposición	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	S	\bar{x}	s	\bar{x}	s
T1	1.90 b	0.20	1.91	0.30	4.88	1.11	4.56	1.01	0.40 b	0.06	0.43 ab	0.11
T2	2.24 ab	0.51	1.79	0.45	9.26	4.07	2.80	1.30	0.27 b	0.10	0.68 a	0.13
T3	1.71 b	0.06	1.77	0.28	7.09	2.54	3.45	1.39	0.27 b	0.11	0.55 ab	0.12
T4	1.67 b	0.91	1.68	0.18	5.89	0.74	2.88	0.86	0.28 b	0.14	0.61 ab	0.10
T5	8.82 ab	5.91	1.59	0.09	5.88	0.92	2.95	0.50	1.57 ab	1.14	0.55 ab	0.09
T6	10.27 ab	4.47	1.69	0.18	5.23	0.56	2.91	0.75	2.03 a	1.01	0.60 ab	0.10
T7	11.16 a	3.07	1.72	0.22	6.48	1.57	4.47	1.63	1.85 ab	0.81	0.41 ab	0.11
T8	5.41 ab	6.87	2.04	0.71	5.98	0.95	5.98	2.34	0.84 ab	1.04	0.35 b	0.04
T9	5.96 ab	5.03	2.14	0.61	7.54	4.12	4.68	1.87	1.00 ab	0.75	0.48 ab	0.12

T: tratamiento, SA: esfinganina, SO: esfingosina, x promedio, s: desviación estandar. Las literales indican diferencia estadística $p < 0.05$ entre tratamientos, T1: control, T2: control + clinoptilolita, T3: Manano oligosacáridos, T4: 75 mg/Kg fumonisinas, T5: 75 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T6: 75 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos, T7: 100 mg/Kg fumonisinas, T8: 100 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T9: 100 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos.

8.2.3. Proteínas y GSH en hígado y riñón

La tabla 17 muestra los valores de proteínas en hígado y riñón determinados en los diferentes tratamientos, los niveles detectados a los 7 días post-exposición en hígado fluctuaron de 16.60 mg/100mg de tejido a 18.60 mg/100mg de tejido, similares en todos los tratamientos con el control (16.70). En riñón los valores fluctuaron de 11.80 a 15.70 mg/100mg de tejido y a los 21 días post-exposición de 12.6 a 16.1 mg/100mg de tejido similares en ambas etapas a los mostrados por el control.

En hígado sólo se encontró diferencia estadística ($p < 0.05$) a los 21 días post-exposición, mostrando los niveles mayores el T5 (75 mg/Kg de FBs + clinoltilolita) con 18.80 mg/100mg de tejido, mayor significativamente ($p < 0.05$) que el control (15.1 mg/100mg de tejido).

Tabla 17. Valores de proteínas (mg/100mg de tejido) en hígado y riñón de pollo a los 7 y 21 días post-exposición a FBs en los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Hígado				Riñón			
	7 días post-exposición		21 días post-exposición		7 días post-exposición		21 días post-exposición	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
T1	16.70	2.43	15.10 ab	2.67	14.90	1.25	15.90	1.76
T2	16.90	0.84	14.10 b	1.62	14.50	1.99	16.10	2.01
T3	17.60	1.06	14.40 ab	1.35	13.40	2.74	15.80	1.33
T4	18.40	1.01	17.50 ab	1.46	13.60	1.67	16.60	3.63
T5	16.60	1.66	18.80 a	1.55	14.80	1.98	16.00	1.67
T6	15.70	3.90	17.60 ab	0.92	15.20	1.25	12.60	2.42
T7	16.70	0.55	16.80 ab	1.37	15.20	1.48	14.50	0.62
T8	18.60	1.36	15.00 ab	0.12	11.80	0.83	16.10	1.60
T9	16.90	2.92	15.40 ab	2.36	15.70	1.58	14.80	1.17

Las literales indican diferencia estadística $p < 0.05$ entre tratamientos.

Con respecto a los niveles de GSH encontrados en hígado a los 7 días post-exposición, los valores oscilaron de 64.67 $\mu\text{g/g}$ (T8: 100 mg/Kg de FBs + clinoptilolita) a 94.39 $\mu\text{g/g}$ (T7: 100 mg/Kg de FBs) diferentes estadísticamente ($p < 0.05$) entre ambos, sin embargo similares estadísticamente al tratamiento control (82.09 $\mu\text{g/g}$). A los 21 días post-exposición el tratamiento T8 (100 mg/Kg de FBs + clinoptilolita) mostró el mayor nivel (148.14 $\mu\text{g/g}$) siendo diferente estadísticamente ($p < 0.05$) con el control (45.93 $\mu\text{g/g}$), el cual fue similar a los tres tratamientos que recibieron FBs con 75 mg/Kg de FBs (T4), los valores menores correspondieron a los tratamientos que incluyeron sólo los adsorbentes (tabla 18).

En cuanto a los niveles de GSH en riñón sólo se observó diferencia significativa ($p < 0.05$) a los 21 días post-exposición. Los niveles de GSH en riñón a los 7 días post-exposición fueron de 3.87 (T8: 100 mg/Kg de FBs + clinoptilolita) a 9.28 $\mu\text{g/g}$ (T1: control), a los 21 días post-exposición los niveles encontrados fueron mayores en todos los tratamientos respecto al nivel detectado en el control (0.81 mcg/g) correspondiendo el mayor nivel de GSH (5.99 $\mu\text{g/g}$) al grupo que recibió el mayor nivel de FBs (T7: 100 mg/Kg de FBs).

Tabla 18. Niveles de GSH reducido ($\mu\text{g/g}$ de tejido) en hígado y riñón de pollos a día 7 y 21 post-exposición a fumonisinas.

T	Hígado				Riñón			
	7 días post-exposición		21 días post-exposición		7 días post-exposición		21 días post-exposición	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	S	\bar{x}	s
T1	82.09 ab	3.75	45.93 bc	16.05	9.28	3.36	0.81 c	1.00
T2	69.43 ab	6.70	39.41 c	16.23	6.09	1.59	1.03 bc	0.72
T3	65.41 b	10.10	43.06 bc	12.32	8.65	7.94	3.89 abc	0.44
T4	68.69 ab	1.92	131.86 a	33.48	5.49	0.83	3.39 abc	0.51
T5	76.17 ab	11.36	138.98 a	9.80	5.14	1.04	5.08 ab	1.12
T6	72.11 ab	11.36	145.31 a	9.14	4.71	1.80	2.20 abc	0.78
T7	94.39 a	7.84	145.06 a	12.04	4.63	1.36	5.99 a	3.89
T8	64.67 b	4.04	148.14 a	13.11	3.87	1.40	3.51 abc	0.96
T9	64.74 b	14.25	103.56 ab	44.88	4.02	0.35	4.00 abc	0.93

T1: control, T2: control + clinoptilolita, T3: Manano oligosacáridos, T4: 75 mg/Kg fumonisinas, T5: 75 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T6: 75 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos, T7: 100 mg/Kg fumonisinas, T8: 100 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T9: 100 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos

Las literales indican diferencia estadística entre tratamientos $p < 0.05$

8.2.4. Estudio histopatológico

Primera etapa (inicio de la prueba experimental):

Se realizó un estudio histopatológico en hígado y riñón de pollos, encontrándose los siguientes resultados:

Hígado: se observó el arreglo parenquimatoso del tejido con definición precisa de los grupos de hepatocitos con núcleos de aspecto normal y espacios definidos, se identificaron las venas centrolobulillares con límites claros. Se observaron los espacios o canalículos biliares bien definidos.

Riñón: se observó tanto para corteza como para médula renal una estructura normal; glomérulos abundantes con espacio de Bowman bien definido circundando el penacho glomerular, así como túbulos proximales y distales con lumen permeable y células definidas.

Nota: Se encontraron cantidades moderadas de eritrocitos entre las estructuras de ambos tejidos, sin que este indique ninguna anomalía, atribuido al tipo de fijación.

Segunda etapa (7 días post-exposición a FBs):

Hígado: en los grupos control se aprecia el arreglo parenquimatoso del tejido con definición precisa de los grupos de hepatocitos con núcleos de aspecto normal y espacios definidos, se identifican las venas centrolobulillares con límites claros. Se observan los espacios o canalículos biliares bien definidos (Figura 7).

Al analizar los diferentes grupos experimentales se encontraron diversos hallazgos patológicos de tipo moderado a severo; los grupos que recibieron FBs presentaron niveles severos de necrosis focal, evidente inicialmente por picnosis, degeneración turbia y en menor proporción edema intersticial (Figura 8).

Riñón: en los grupos control se observó tanto para corteza como para médula renal una estructura normal; glomérulos abundantes con espacio de Bowman bien definido circundando el penacho glomerular, así como túbulos proximales y distales con lumen permeable y células definidas (Figura 9). En la medula renal se observaron los haces cónicos de túbulos colectores de aspecto normal.

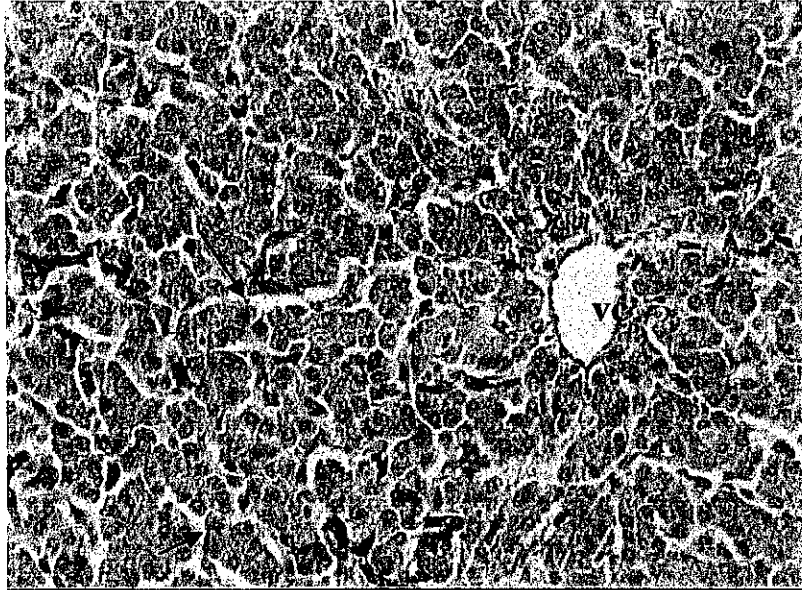


Figura 7. Fotomicrografía de tejido hepático de pollo del grupo control, se observa el tejido con citóarquitectura normal, grupos irregulares de hepatocitos (ce), espacios sinusoidales (flechas) y vena centrolobulillar (vc). Objetivo 20X, tinción HE.

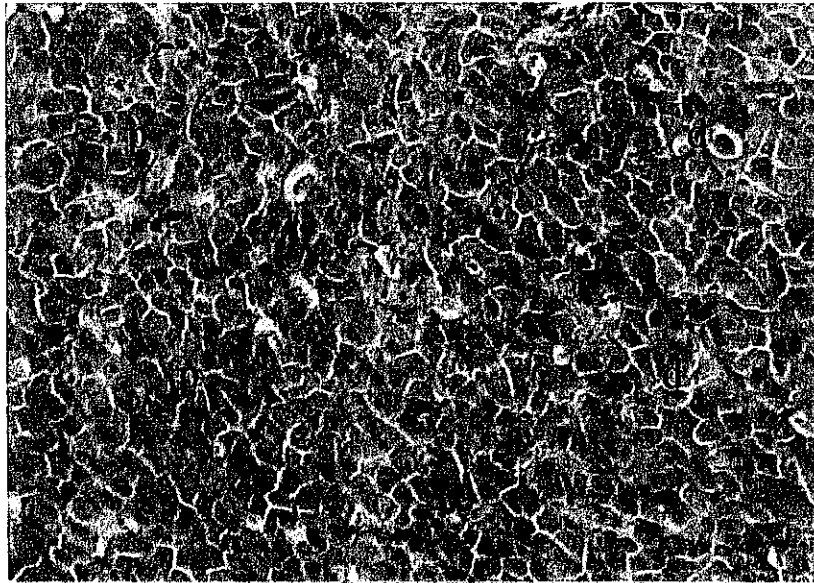


Figura 8. Fotomicrografía de tejido hepático de pollo del grupo que consumió FBs (100 mg/K), se observa necrosis celular, evidente por picnosis (p) y degeneración de hepatocitos (d). Objetivo 20X, tinción HE.

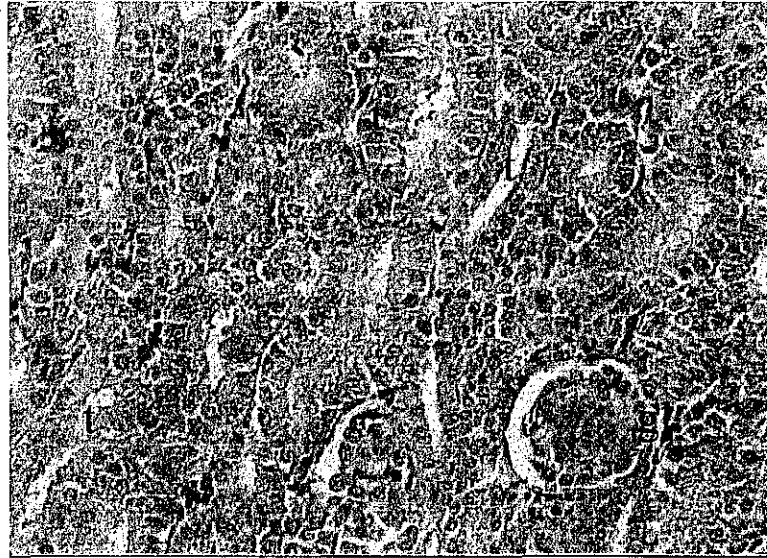


Figura 9. Fotomicrografía de tejido renal de pollo del grupo control, se observa la estructura normal, glomérulo (gl) con espacio definido, así como cortes transversales de diversos tubulos (t) con células epiteliales normales. Objetivo 20X, tinción HE.

Al analizar los diferentes grupos experimentales se encontraron diversos hallazgos patológicos de tipo moderado a severo; los grupos que recibieron fumonisinas presentaron niveles severos de necrosis focal (picnosis marcada), degeneración celular (perdida de integridad celular) y tumefacción glomerular (Figura 10), estos resultados deben tomarse con reserva, ya que los hallazgos patológicos severos solo se observaron en 1 de las 3 muestras.

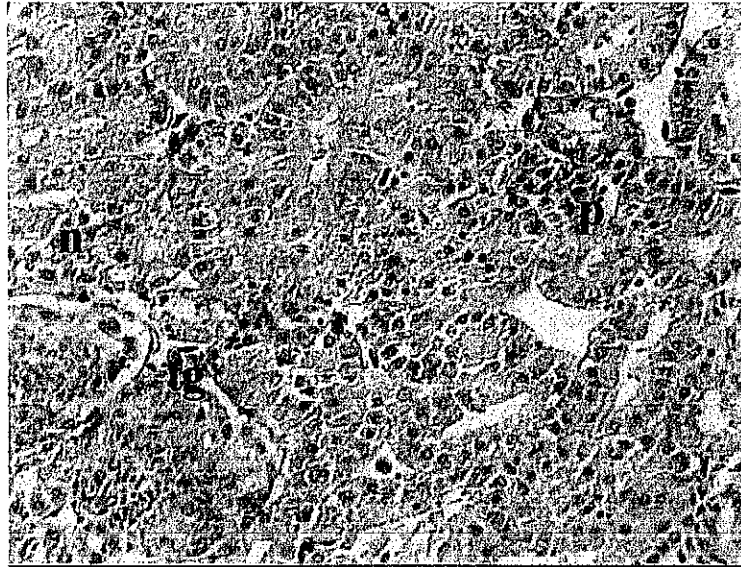


Figura 10. Fotomicrografía de tejido de pollo del grupo que consumió FBs (100 mg/Kg). Se observa necrosis celular (n), picnosis (p) y tumefacción glomerular (tg). Objetivo 20X, tinción HE.

La evaluación histopatológica de hígado y riñón de pollo de engorda por efecto de los diferentes tratamientos utilizados en la prueba experimental a los 7 días post-exposición a FBs se muestra en la tabla 19.

Tabla 19. Histopatológicos de hígado y riñón al día 7 post-exposición a fumonisinas en los pollos de engorda.

T	n	Hígado	n	Riñón
T1	1/3	Congestión moderada	1/3	Congestión moderada
T2	3/3	Sin modificación	1/3	Degeneración turbia moderada, pérdida de arreglo tisular incipiente, congestión moderada
T3	3/3	Sin modificación	1/3	Necrosis focal incipiente y pérdida de integridad celular incipiente
T4	1/3	Necrosis focal moderada, edema intersticial incipiente	1/3	Necrosis focal tubular y tumefacción glomerular moderados
T5	1/3	Congestión severa, necrosis focal moderada, edema intersticial incipiente	1/3	Necrosis focal y tumefacción glomerular
T6	1/3	Necrosis focal moderada	1/3	Necrosis focal y tumefacción glomerular moderada
T7	1/3	Necrosis focal moderada	1/3	Necrosis focal y tumefacción glomerular moderada
T8	1/3	Necrosis focal moderada	1/3	Necrosis focal y tumefacción glomerular moderada
T9	3/3	Sin modificación	3/3	Sin modificación

T1: control, T2: control + clinoptilolita, T3: Manano oligosacáridos, T4: 75 mg/Kg fumonisinas, T5: 75 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T6: 75 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos, T7: 100 mg/Kg fumonisinas, T8: 100 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T9: 100 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos

Las literales indican diferencia estadística entre tratamientos $p < 0.05$

La evaluación histopatológica de hígado y riñón de pollo de engorda por efecto de los diferentes tratamientos utilizados en la prueba experimental a los 21 días post-exposición a FBs se muestra en la tabla 20.

Tabla 20. Histopatológicos a los 21 días post-exposición a fumonisinas en hígado y riñón de pollo de engorda.

T	n	Hígado	n	Riñón
T1	1/3	Necrosis focal y pérdida de integridad celular incipientes	1/3	Necrosis focal incipiente
T2	1/3	Pérdida de citoarquitectura incipiente	1/3	Necrosis focal incipiente
T3	1/3	Pérdida de citoarquitectura incipiente	1/3	Necrosis focal incipiente
T4	1/3	Pérdida moderada de citoarquitectura	1/3	Pérdida moderada de citoarquitectura
T5	3/3	Sin modificación	3/3	Sin modificación
T6	1/3	Necrosis focal incipiente	3/3	Sin modificación
T7	1/3	Pérdida moderada de citoarquitectura	1/3	Pérdida moderada de citoarquitectura
T8	3/3	Sin modificación	1/3	Necrosis focal incipiente, degeneración turbia incipiente
T9	1/3	Pérdida de integridad y degeneración turbia incipiente	1/3	Pérdida integridad y degeneración turbia incipiente

T1: control, T2: control + clinoptilolita, T3: Manano oligosacáridos, T4: 75 mg/Kg fumonisinas,

T5: 75 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita, T6: 75 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos,

T7: 100 mg/Kg fumonisinas, T8: 100 mg/Kg fumonisinas + clinoptilolita,

T9: 100 mg/Kg fumonisinas + manano oligosacáridos

Las literales indican diferencia estadística entre tratamientos $p < 0.05$

Tercera etapa (21 días post-exposición a FBs):

Hígado: en los grupos control y experimental se identifica ligera picnosis focal y leve degeneración turbia (atribuible probablemente al manejo de las muestras). El tejido en términos generales muestra un aspecto normal para todos tratamientos.

Riñón: en los grupos control y experimental se identifican pequeñas zonas picnóticas y leve degeneración turbia de tipo localizada (atribuible probablemente al manejo de las muestras). El tejido presenta un aspecto normal a nivel de corteza y médula renal en todos los grupos.

IX. DISCUSIÓN

9.1 Estimación del grado de exposición a fumonisinas por el consumo de tortilla mediante la determinación de los niveles de SA y SO en orina de humanos

9.1.1. Niveles de fumonisinas en productos derivados del maíz en la ZMG

La contaminación por FBs observada en los diferentes productos de maíz permitió detectar niveles promedio cercanos al límite tolerable recomendado en el maíz por el Comité de Expertos en Alimentos de la FDA, el Comité recomienda que el maíz destinado para consumo humano debe contener máximo 2 $\mu\text{g/g}$ de FBs ($\text{FB}_1 + \text{FB}_2 + \text{FB}_3$) para productos de maíz desgerminado (harina de maíz, sémola, fécula y maíz parcialmente molido, < de 5 % de contenido de grasa), mientras que en maíz para palomitas es de 3 $\mu\text{g/g}$ y en maíz para producción de masa es de 4 $\mu\text{g/g}$ (CFSAN, 2001).

Los niveles promedio de FBs encontrados en el elote se pueden considerar elevados y sobrepasan los recomendados por la FDA, estos niveles de contaminación pudieran posiblemente atribuirse a que la contaminación por *F. verticillioides* y *F. proliferatum* principales hongos productores de FBs ocurre con mayor frecuencia en las etapas intermedias de la madurez del maíz lo que coincide con el periodo de recolección del elote, esto fue previamente reportado por Chulze y col. (1996).

Los niveles de FBs observados en las tortillas que se expenden en la ZMG en el presente estudio fueron menores en promedio (1.99 $\mu\text{g/g}$) a los reportados previamente por Reyes y col. (2002), quienes detectaron en tortilla niveles de 4.36 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 y 0.085 $\mu\text{g/g}$ de FB_2 y similares a los detectados en un estudio realizado en 1995 por el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) en dos regiones de Guatemala (Santa María y Patzicia), donde encontraron contaminación con FBs en tortillas, nixtamal y maíz de 50 expendios, detectándose niveles de FB_1 en tortilla de 0.85 a 11.6 $\mu\text{g/g}$ (Meredith y col, 1999).

Por otro lado, en el presente estudio se encontró contaminación en el 100% de las muestras analizadas ($n = 400$), siendo estos resultados superiores a los reportados por Machinski y col. (2000) donde encontraron un alto porcentaje de productos derivados de maíz contaminados con FBs, el 49% de las muestras analizadas presentaron niveles de FB_1 que oscilaron entre 0.03 y 4.93 $\mu\text{g/g}$, mientras que el 54% de las mismas, fueron positivas a FB_2 en un rango de 0.02 a 1.38 $\mu\text{g/g}$.

Además los resultados encontrados en la presente investigación fueron superiores a reportes previos en diferentes continentes, donde encontraron que el 59% de 5,213 de las muestras analizadas estuvieron contaminadas por FB_1 , los niveles de contaminación variaron considerablemente dependiendo del tipo de producto, correspondiendo la mayor proporción al maíz molido (73% de 517 muestras; 32/108 muestras $> 1 \text{ mg/Kg}$ de FB_1) seguido por maíz en grano (52% de 2,525 muestras; 388/1038 muestras $> 1 \text{ mg/Kg}$ de FB_1) y otros, incluyendo totopos, cereales, maíz dulce y alimento para bebés, entre otros (33% de 894 muestras; 18/181 muestras $> 1 \text{ mg/Kg}$ de FB_1) (Visconti, 2001).

Los niveles de FBs presentes en el maíz y en los diferentes subproductos evaluados en esta investigación se consideran semejantes a los previamente reportados a nivel mundial, cabe destacar que entre los productos analizados el elote mostró la mayor contaminación, y es comparable a la contaminación que se presenta en el grano de maíz cosechado. Los productos de menor procesamiento como harinas, polentas y sémola, han presentado niveles altos de FBs y aquellos como tortillas, tostadas y hojuelas de maíz, productos que requieren mayor procesamiento, tuvieron niveles bajos, posiblemente por los procesos físicos y químicos a que son sometidos.

9.1.2 Relación SA/SO en orina de alumnos del CUCBA

En el presente estudio, la estimación de la exposición a FBs permitió observar niveles elevados de SA y SO, similares entre ambos grupos esfingoides, diferente a la proporción que ha sido reportada por Riley y col. (1993) quienes indican que los niveles de SO son de 3-5 veces mayores que de SA, lo que implica que la relación SA/SO sea menor a 1 bajo

condiciones normales y ésta aumenta (>1) al consumo de productos contaminados con FBs (Turner y col., 1999). Aún cuando no se observó diferencia estadística en los niveles de SA y SO en hombres y mujeres respecto al nivel de consumo de tortillas, se observó aumento significativo en los niveles de SA con lo que se incrementó la relación SA/SO cuando se compararon por etapa, lo cual es indicativo de exposición a FBs.

La relación SA/SO determinada en las tres etapas, fue mayor a 1 cuando los voluntarios consumieron tortillas o productos a base de maíz, estas relaciones superan las reportadas por Castegnaro y col. (1998), quienes compararon grupos de hombres y mujeres de origen francés y encontraron una relación SA/SO promedio de 0.33 en mujeres y en hombres de 0.31; esto pudiera deberse a que en México el consumo per cápita de maíz es de 320 g/día en tanto en los países europeos, es mínimo. Sin embargo en regiones de África donde el consumo per cápita es de 470 g/día, la relación SA/SO promedio reportada fue de 0.38 (Westhuizen y col., 1999), lo cual pudo ser atribuido al número reducido de individuos estudiados.

En otros estudios afines, se encontraron relaciones SA/SO que fluctuaron de 0.17 a 0.53 (Solfrizzo y col., 2000) y de 0.04 a 0.6 (Qiu y Liu., 2001), menores a los observados en la presente investigación (0.98 a 1.12), sin embargo fueron similares a los reportados al norte de Argentina donde se observó una relación SA/SO de 1.2 a 4.5, en poblaciones con un consumo per cápita de maíz de 85 g/día.

El aumento de la relación SA/SO (> 1) por el consumo de tortilla y la disminución por efecto de la restricción de su consumo, como ocurrió en el presente estudio, pudo ser demostrado previamente en ratas, por Riley y col. (1994), quienes encontraron que los niveles de SA y SO retornaron a la normalidad en un lapso de dos semanas posterior al retiro de las dietas contaminadas con FBs.

Como ya ha sido documentado la exposición a FBs ocasiona la alteración de la biosíntesis de esfingolípidos con la consecuente elevación de esfinganina detectada en suero y orina, esta alteración puede ocasionar efectos importantes particularmente a nivel de la membrana celular ya que juega un papel importante sobre la comunicación célula-célula, interacción entre

células y en la matriz extracelular, además sobre factores receptores involucrados en la regulación y crecimiento celular y como mensajeros secundarios de citocinas que incluyen el factor de necrosis tumoral, Interleucina 1 y el factor de crecimiento de nervios (Merril y col., 1993).

El incremento de la relación SA/SO como biomarcador de exposición a FBs ha sido demostrado ampliamente en estudios con animales (Turner y col, 1999). Las investigaciones en cerdos y ratas han demostrado una correlación positiva entre el incremento de la relación SA/SO y la dosis y/o tiempo de exposición a FBs a través de la dieta (Riley y col., 1993a; Solfrizzo y col., 1997b; Wang y col., 1999).

Uno de los propósitos del presente trabajo fue determinar si los individuos que consumen productos de maíz, presumiblemente contaminado con FBs presentaban una relación SA/SO elevada, considerada como biomarcador de la exposición a FBs.

Puesto que el incremento de la relación SA/SO es un biomarcador de exposición a FBs que ha sido ampliamente demostrado en estudios de animales fue propuesto como posible biomarcador en estudios de humanos (Turner y col., 1999). Este biomarcador ha sido validado en animales y ha demostrado en cerdos y ratas una correlación positiva entre el incremento de la relación SA/SO y la dosis o el tiempo de exposición a FBs (Riley y col., 1993, Solfrizzo y col., 1997b, Wang y col., 1999).

El nivel mínimo de FBs en la dieta capaz de elevar la relación SA/SO en orina de ratas fue de aproximadamente 2 mg/Kg, equivalente a 130 µg/Kg de p.v/día en experimentos de periodos cortos (Solfrizzo y col., 1997b). Niveles bajos de FBs en la dieta (1mg/Kg) también incrementaron la relación SA/SO en la orina de ratas que previamente fueron expuestas a dietas que contenían 10 mg/Kg de FB₁ (Wang y col., 1999).

Al analizar el consumo promedio de tortillas por la población bajo estudio y los niveles de FBs presentes en las tortillas, se estimó la cantidad de esta micotoxina ingerida por Kg de p.v./día. Los resultados permitieron apreciar un consumo elevado de FBs comparado con los niveles

tolerables publicados recientemente por el Comité de Expertos en Aditivos y Alimentos (JECFA) de la FAO/OMS los cuales son de 2 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ p.v/día, niveles confirmados por el Comité Científico den Alimentos (European Comisión 2003).

Los niveles promedio de FBs en las tortillas recolectadas fueron de 2.03 $\mu\text{g}/\text{g}$ correspondiendo a un consumo de dichas micotoxinas promedio de 5.56 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de p.v, lo que representa 24 veces menos al nivel de FBs que eleva la relación SA/SO en orina en ratas, sin embargo es probable que la población bajo estudio haya estado expuesta a niveles mayores de FBs previamente, lo cual podría ser determinante sobre los niveles de SA y SO encontrados en orina.

Los niveles promedio de consumo de FBs estimado al sur de Brasil y norte de Argentina fueron de 0.57 y 0.55 mg/Kg de p.v/ día respectivamente, lo cual es aproximadamente 100 – 200 veces menor de los niveles que elevan la relación SA/SO en ratas, sin embargo esto no excluye a individuos que pudieran estar expuestos a niveles mayores de fumonisinas (Solfrizzo y col., 2004), como pudo ocurrir en el presente estudio.

En el estudio efectuado por Solfrizzo y col. (2004) la relación SA/SO fue de 0.69 (norte de Argentina) y de 1.57 (sur de Brasil), otros estudios publicados que utilizaron la relación SA/SO como biomarcador de la exposición a FBs en humanos con alto consumo de maíz no encontraron incremento de la relación SA/SO cuando los datos se compararon con humanos con bajo consumo de maíz, considerado como grupo control (Westhuizen y col., 1999; Qiu y Liu, 2001).

Basados en el presente estudio se puede concluir que las muestras de orina de los voluntarios mostraron una relación SA/SO mayor comparado con las poblaciones control procedentes de regiones de Europa que consumen poco maíz (0.39, 0.35, 0.11, 0.20) reportadas por Castegnaro y col. (1996) y Solfrizzo y col. (2004). Debido a que el consumo de alimentos a base de maíz en México son elevadas y constantes es posible entender por qué fueron altas las relaciones de SA/SO en la población estudiada; sin embargo son escasos los reportes de trastornos relacionados con FBs como es el caso de cáncer esofágico.

9.1.3 Incidencia de cáncer en Jalisco, México

En México, el número de casos de cáncer esofágico reportado es bajo y sólo se registra por hospitales particulares, puesto que el Sector Salud tiene el mayor porcentaje de asistencia médica de la población, estos datos pudieran estar subestimados, además en México, no existen estudios que asocien dicha enfermedad con la incidencia de FBs en el maíz y sus subproductos. En otros países las investigaciones epidemiológicas sobre los efectos por la ingestión de FBs se han centrado en la posible relación entre la ingesta de FBs y el desarrollo de cáncer esofágico, esto se debe a la alta incidencia de este tipo de cáncer encontrado en ciertas regiones de África y China donde el maíz presenta alta contaminación con FBs, siendo este cereal la base de la alimentación en dichas regiones. Si bien se describen además otros factores que pudieran estar influyendo como el consumo bajo de frutas, vegetales verdes y proteínas de origen animal, en habitantes de estas regiones, se han detectado niveles bajos de algunas vitaminas y minerales en sangre, resultando ser diferentes significativamente respecto a los niveles encontrados en habitantes de las regiones de baja incidencia de cáncer esofágico. Además a estos factores nutricionales se agregan el consumo de alcohol y tabaco, así como otros aún no identificados (Wilcox, 2001).

9.2. Evaluación del efecto de adsorbentes incorporados al alimento contaminado con fumonisinas en pollos de engorda

En el presente estudio se detectó contaminación natural por AFs y OA, en las dietas experimentales aunque los niveles fueron relativamente bajos en todos los tratamientos evaluados, resultados similares fueron reportados por Magnoli (2002) quien encontró contaminación con AFB₁, ZEA y DON en dietas de pollos de engorda, siendo AFB₁ la micotoxina de mayor incidencia (52.5%) con niveles entre 10 a 123 ng/g. Por otro lado el 97% de las muestras mostraron contaminación natural con FBs en niveles que variaron entre 136 a 4,260 ng/g.

Como ha sido demostrado en otras investigaciones la contaminación por FBs en alimento destinado para consumo animal es frecuente, sin embargo los niveles son relativamente bajos

y son menores de 2.35 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 (Stockentrom y col., 1998; Jindal y col. 1999). Mientras que en el presente estudio, se realizó contaminación artificial con FBs, en niveles de 75 y 100 mg/Kg.

De acuerdo con los estudios realizados sobre la contaminación natural con micotoxinas en alimentos destinados al consumo de humanos y animales, se concluye que es frecuente encontrar co-ocurrencia de las diferentes micotoxinas en el alimento de pollos de engorda, además de que los niveles son variables, por lo que se recomienda el monitoreo periódico en las granjas de aves de corral.

9.2.1. Efectos en parámetros productivos

La evaluación de los parámetros productivos no presentó diferencia estadística entre grupos, lo que indica que los niveles de FBs evaluados no fueron suficientes para afectar el comportamiento de los pollos. Estos resultados son comparables con los mostrados por Weibking y col. (1993) quienes no observaron modificaciones en el consumo de alimento y en la ganancia de peso de los pollos, por el consumo de 75 mg de FBs/Kg, aunque ellos apreciaron un ligero incremento en la conversión alimenticia durante la primera semana de la prueba efectos similares fueron observados por Ledoux y col. (1999) quienes estudiaron los efectos de la inclusión de 50, 100 y 200 mg/Kg de FB_1 , encontrándose que todos los grupos que recibieron dicha micotoxina, fueron semejantes con el grupo control. Estudios previos realizados por Ledoux y col. (1992) demostraron disminución lineal en la ganancia de peso en pollos alimentados con niveles de FB_1 de 100 a 400 mg/Kg, posiblemente relacionada con la disminución en la digestibilidad de materia seca y con la diarrea que se presentó, los investigadores relacionaron estos efectos con los altos niveles de inclusión de material contaminado con *F. verticillioides*, efecto no observado en el presente estudio.

Por otra parte, se tienen reportes de investigaciones sobre los efectos combinados de FBs con otras micotoxinas, observándose alteraciones sobre parámetros productivos. Kubena y col. (1997) evaluaron la inclusión de FB_1 (300 mg/Kg), toxina T-2 (5 mg/Kg) y DON (15 mg/Kg) en dietas de pollos por periodos de 21 días. El efecto combinado de FB_1 y toxina T-2 mostró

reducción de GDP, disminución en el consumo de alimento, disminución en la eficiencia alimentaria y un incremento en la mortalidad. El efecto combinado de FB₁ y deoxinivalenol, solo mostró disminución en la GDP y menor eficiencia alimentaria. La disminución de la GDP en la primera combinación pudo describirse como aditiva, mientras que en la segunda combinación se consideró menor que aditiva.

Investigaciones recientes desarrollados por Ledoux y col. (2003), reportaron el efecto individual y combinado de FB₁ con moniliformina en niveles de 100 y 200 mg/Kg en la alimentación de pollos de engorda. El efecto individual de moniliformina (200 mg/Kg) incrementó la mortalidad en un 65%, mientras que la mayor inclusión de FB₁ solo la incrementó en 10%. Si bien la FB₁ sola no afectó los parámetros productivos, el efecto combinado con moniliformina mostró como resultado disminución en el consumo de alimento y ganancia diaria de peso, lo que ocurrió a partir de los 100 mg/Kg de moniliformina, efecto previamente reportado en pavos por Bermudez y col. (1997).

Es importante considerar que existe co-ocurrencia de diversas micotoxinas en el alimento destinado a consumo animal, como se mencionó anteriormente en los estudios realizados por Bermudez y col (1997), Kubena y col (1997) y Ledoux y col (2003), lo cual puede ocasionar sinergismo en el efecto de las micotoxinas sobre los parámetros productivos.

9.2.2. Actividad enzimática de AST, ALT, concentración de proteínas totales y niveles de SA y SO en suero

Con relación a las determinaciones en suero, se apreció que el incremento de la actividad enzimática de AST al día 7 días post-exposición, en los tratamientos con 75 mg/Kg de FBs (T4) y 75 mg/Kg + manano oligosacáridos (T6) respecto al grupo control se debió posiblemente a una alteración del hígado durante la exposición a dichas micotoxinas, no observándose un efecto protector de los adsorbentes incluidos en los tratamientos experimentales. Nuestros resultados son similares a los reportados por Manning y Wyatt (1990) quienes reportaron que los valores para la actividad de AST se elevaron en aves intoxicadas con AFs con respecto al grupo control. Efectos similares se han observado en

ratones con dietas de FB₁ (10 µg/g), AFB₁ (10 ng/g) y una mezcla de FB₁ + AFB₁ (10 µg/g + 10 ng/g) mostrando un incremento significativo en la actividad de AST en las dietas con FB₁ y en las dietas con mezcla de FB₁ + AFB₁, los niveles fueron de 151 UI/L y 212.33 UI/L respectivamente (Casado y col., 2000). Resultados similares fueron reportados por Marín y col. (2003) quienes observaron un aumento significativo en la concentración plasmática de AST y ALT al incluir 80 µg/g de FB₁ y 500 ng/g de AFB₁ en las dietas del pollo de engorda. La actividad enzimática de AST a los 21 días post-exposición no mostró cambios entre tratamientos, lo cual puede ser explicado posiblemente a que existiría un proceso de recuperación del daño y función producido por efectos de la micotoxina, ya que los animales fueron expuestos a FBs solo durante una semana, efecto previamente reportado por otros investigadores que observaron recuperación de la actividad enzimática de AST y ALT al retiro del alimento contaminado (Kubena y col., 1995). Con respecto a la actividad enzimática de ALT, ésta no mostró alteraciones tanto a los 7 y 21 días posteriores al tratamiento con FBs, lo cual posiblemente es indicativo de que el daño del tejido no ocurrió de manera severa.

En relación a la concentración de proteínas totales se observó que hubo una disminución al día 7 post-exposición en el grupo que recibió 75 mg/Kg de FBs + clinoptilolita (T4) con respecto al grupo control, resultados similares fueron reportados por Stanley y col. (1993), quienes expusieron pollos a dosis experimentales de AFB₁ en el alimento (5 mg/Kg) y observaron una disminución de los niveles de proteínas séricas (control: 3.49 g/dL y grupo con AFB₁: 1.62 g/dL). Sin embargo en estudios realizados con ratones en donde utilizaron dietas contaminadas con niveles de FB₁ y AFB₁ de manera individual y combinadas, no se observaron cambios en la concentración de proteínas totales en suero a los 30, 60 y 90 días de exposición (Casado y col., 2000). Resultados similares fueron reportados por Aravind y col. (2003) en pollo de engorda al utilizar raciones contaminadas con diferentes micotoxinas (AFB₁: 168 ng/g, OA: 8.4 ng/g, ZEA: 54 ng/g y toxina T2: 32 ng/g) con y sin manano oligosacáridos al 0.05 %, sin mostrar alteración de la concentración de proteínas totales en suero sanguíneo.

Con respecto a la determinación de los biomarcadores SA y SO en suero, éstos mostraron ser un excelente método de análisis para evaluar la exposición a FBs, puesto que demostraron que

a niveles bajos de FB_1 pueden ser detectadas alteraciones de la relación SA/SO previo a la manifestación de lesiones severas en los tejidos.

El estudio de biomarcadores de daño biológico por efecto de micotoxinas, ha sido estudiado para relacionar el consumo de FB_1 con efectos tóxicos a la salud, las investigaciones están enfocadas a marcadores moleculares en fluidos corporales y tejidos (Turner y col., 1999). Los avances relacionados con las FBs se fundamentan en el mecanismo de daño a nivel celular, el cual involucra la inhibición de la enzima clave (N-aciltransferasa de esfinganina/esfingosina) del metabolismo de esfingolípidos (Merrill y col., 1996). La alteración ocasiona el incremento de los niveles SA afectando la relación SA/SO, biomarcador de la exposición a FBs, se ha documentado que el incremento de esta relación es indicativo del daño primario de dichas micotoxinas (Solfrizzo y col., 1997a; Westhuizen y col., 1999; Qiu y Liu, 2001) previo a la manifestación de las lesiones.

Los niveles de SA en el presente estudio aumentaron significativamente ($p < 0.05$) el día 7 post-exposición en los grupos que recibieron dietas que incluyeron FB_1 , particularmente en la que se incluyó 100 mg/Kg, esto influyó en que la relación SA/SO aumentara en dichos grupos, siendo esta mayor a 1, valor considerado de riesgo toxicológico (Riley, 1994). En condiciones normales los niveles de SA son menores a SO en una relación 1:4 (Hannun y Bell, 1989) lo que permite que la relación SA/SO se conserve en niveles menores a 1. Los estudios realizados por Riley (1994) mostraron que en animales alimentados con niveles < 1 mg/Kg de FB_1 la relación SA/SO en suero fue de 0.34 en ratas, 0.20 en ponies y de 0.18 en cerdos. Si bien se ha reportado que la alteración del metabolismo de esfingolípidos pudiera ser ocasionado por otros agentes exógenos (Chatterjee y col., 1986), ninguno de estos inhiben específicamente a la enzima N-aciltransferasa de esfinganina, por lo que la inhibición de la biosíntesis de esfingosina requiere de una alteración persistente en los niveles de SA libre que pudiera ocurrir si la reaclación de la esfingosina fuera dañada como es el caso con fumonisinas (Wang y col., 1992).

En el presente estudio la relación SA/SO fue mayor a 1 al día 7 post-exposición en los tratamientos que incluyeron FB_1 , mientras que al día 21 los valores permanecieron por abajo

de 1, esto posiblemente puede atribuirse al retorno de los niveles normales de SA y SO a nivel celular, efecto previamente observado en estudios efectuados con ratas expuestas a FBs (Castegnaro y col., 1996). La disminución del complejo esfingolípido resultante de la inhibición de la biosíntesis por la FB₁, y la acumulación de esfinganina pueden ser la causa de las patologías observadas en las toxicosis por FB₁, debido a que los esfingolípidos están involucrados en la regulación de los receptores de la membrana celular, del intercambio de iones y de otros sistemas vitales para la función y supervivencia celular (Merrill y col., 1996). El incremento de la relación SA/SO ha sido observado en otros estudios que involucraron diversas especies animales así como en humanos. Shephard y col. (1996) reportaron elevación significativa en monos vervet expuestos a material cultivado con *F. verticillioides*, en dicho estudio la relación SA/SO fue de 1.72 en los animales que recibieron dosis de 300 µg de FB₁/Kg de p.v. y de 2.57 en los que recibieron 800 FB₁/Kg de p.v. Cabe destacar que los estudios en animales en los que se determinó la relación SA/SO incluyeron niveles elevados de FB₁ como lo son los efectuados en ponies donde se adicionaron niveles de 22,000 y 44,000 µg FB₁/Kg de alimento (Wang y col., 1992), en cerdos: 1,500 µg FB₁/Kg de p.v./día (Haschek y col., 1993); en conejos: 1,000 µg FB₁/Kg de p.v /día (Gumprecht y col., 1995) y en ratas: 13,600 µg FB₁/Kg de p.v/día (Voss y col., 1995).

Weibking y col. (1993) reportaron un aumento en los niveles de SA en suero sanguíneo y en la relación SA/SO en pollo de engorda que consumieron dietas contaminadas con FB₁ (75, 150, 225, 300, 375, 450 y 525 mg/Kg) efecto observado en el presente estudio a partir de los niveles más bajos (75 mg/Kg), por lo que se corroboró la sensibilidad que ofrece el uso de los biomarcadores SA y SO como indicadores de la exposición a FBs (Solfrizzo y col., 2004).

9.2.3 Proteínas y GSH en hígado y riñón

Cuando se cuantificó la concentración de proteínas totales hepáticas y renales como un parámetro indicativo del funcionamiento e integridad de estos órganos, se observó que la inclusión de FBs a 75 y 100 mg/Kg en las dietas que recibieron los pollos no fueron suficientes para ocasionar un efecto negativo sobre los niveles de proteínas en hígado y riñón,

los cuales permanecieron con niveles similares al control, estos resultados concuerdan con lo observado en la detección de proteínas en suero.

Estudios previos han mostrado inhibición de la síntesis de proteínas y cambios en los niveles de proteínas plasmáticas y lipoproteínas en hígado (Beers y col., 1992; Kubena y col., 1995; Quezada y col., 2000). Yoo (1977) encontró que la AFB₁ tiene efecto inhibitorio de la síntesis de proteínas ya que actúa sobre el ARN de transcripción, mientras que las FBs no se relacionan con la síntesis proteica al mostrar un mecanismo de acción distinto a las AFs.

Respecto a los resultados observados en los niveles de GSH en hígado, se apreció aumento de la concentración a los 7 días post-exposición a 100 mg/Kg de FBs, aunque los niveles de GSH son comparables estadísticamente al control, mientras que al día 21 post-exposición todos los grupos que fueron expuestos a FBs con y sin adsorbentes mostraron altos niveles de GSH.

Los niveles de GSH en mamíferos oscilan en un intervalo de 5 a 8 $\mu\text{mol/g}$ de tejido (Chanda y Mehendale, 1996), mientras que el GSH hepático en pollos de engorda mostraron valores entre 1.26 a 4.19 $\mu\text{mol/tejido}$ (Beers y col., 1992). Los estudios de Murphy y King (1990) sugieren que a diferencia de los niveles de GSH de los mamíferos, las bajas concentraciones de GSH en aves son una consecuencia posiblemente del incremento de su demanda para el crecimiento y desarrollo muscular debido a que los pollos han sido seleccionados por ingeniería genética para un rápido desarrollo, para lo cual requieren hormonas tiroideas (Fernández y col., 1991).

Las evidencias mostradas por Mgbodile y col. (1975) permitieron confirmar que el incremento de los niveles de GSH en el tejido hepático realizan un papel muy importante para ofrecer la protección contra los efectos tóxicos de la AFB₁, coincidiendo con los hallazgos de Liu y col. (1988), demostrándose que la conjugación de la micotoxina con el GSH es una vía muy importante de detoxificación.

Los niveles de GSH renal en pollos han sido reportados en un intervalo de 4.7 a 6.7 $\mu\text{mol/g}$ de tejido (Beers y col., 1992), esto es debido a que el riñón posee una enorme capacidad de

sintetizar y degradar GSH y por consiguiente la disminución de su concentración es una respuesta bioquímica a la presencia de varios nefrotóxicos (Whiting, 1985). Por otra parte, Beers y col. (1992) mostraron que los niveles de GSH renal en aves fueron mayores que en hígado, lo cual pudiera explicar en parte las diferencias del metabolismo de xenobióticos entre los mamíferos y las aves.

9.2.4. Estudio Histopatológico

Los hallazgos histopatológicos encontrados en el presente trabajo para hígado fueron: congestión severa, necrosis focal moderada, edema intersticial y desorganización tisular, lo que coincide parcialmente con trabajos realizados tanto en pollos (Weibking y col., 1993), efecto observado en otras especies por la exposición a micotoxinas (Casado y col., 2000).

En pollos, al suministrar niveles de 225 a 525 mg FB₁/Kg dieta, se encontró aumento en el peso de hígado y diversas lesiones severas como proliferación periportal de granulocitos, necrosis hepática focal e infiltración de macrófagos (Weibking y col., 1993). En cerdos en los que se encontraron daño hepático (necrosis hepática incipiente, inflamación moderada y desorganización de hepatocitos) por el consumo de 101 y 175 µg/g de FB₁ (Riley y col., 1993a). En ratones cuando se proporcionaron niveles de 10 µg/g de FB₁ y 10 ng/g de AFB₁ durante 60 días, encontraron infiltración y necrosis en el 50% de los animales (Casado y col., 2000).

Cuando se analizó el efecto de las micotoxinas sobre daño renal, los reportes encontrados no muestran consistencia en los resultados. Diversos autores no encuentran daño renal en pollos al suministrar diferentes micotoxinas (Weibking y col., 1993; Broomhead y col., 2002). Algunos autores refieren aumento de peso de riñón como Ledoux y col. (2003) y Kubena y col. (1997).

En el presente trabajo se encontraron los siguientes daños renales: necrosis focal tubular y tumefacción glomerular con características de incipiente a moderada, en la literatura algunos autores refieren cambio renal por la presencia de micotoxinas. Ledoux y col. (2003)

encontraron mineralización tubular renal en pollos cuando fueron expuestos a una combinación de FB₁ (200 mg/Kg) y moniliformina (200 mg/Kg); Casado y col. (2000), refieren solo congestión y hemólisis en riñón de ratones cuando fueron expuestos por periodo prolongado (90 días) a una combinación de micotoxinas: 10 ppm de FB₁ y 10 ppb AFB₁.

Los hallazgos más importantes encontrados en el presente trabajo refieren un daño histológico de moderado a severo en muestras de hígado de pollos que recibieron o estuvieron expuestos al consumo de FBs a nivel de 75 o 100 mg/Kg, sin que al parecer la presencia o incorporación de clinoptilolita ejerciera un efecto protector sobre dicho metabolito, en cambio la presencia del adsorbente de manano oligosacáridos disminuyó aparentemente algunos de los daños principalmente en el grupo de 100 mg/Kg de FBs.

En la literatura son escasos los trabajos que han utilizado adsorbentes en dietas con FBs, sin embargo existen algunos investigadores que los han incluido en dietas contaminadas con otras micotoxinas. Miazzo y col. (2000), al utilizar zeolitas al 1% como adsorbentes de AFB₁ (2.5 mg/kg) no encontraron efecto protector, resultados que coinciden con la respuesta observada en nuestro trabajo en los grupos con clinoptilolita, ya que este último comparte características fisicoquímicas (Huwig y col., 2001).

En otros trabajos se han probado diversas sustancias como protectores de la función hepática, encontrándose disminución de los daños hígado y riñón causados por la presencia de AFB₁ a una concentración de 3 mg/kg de N-acetil cisteína a 800 mg/Kg de alimento (Valdivia y col., 2001).

García (2002) estudió el efecto de la inclusión de diversos aluminosilicatos y paredes celulares de *S.s cerevisiae* en las dietas de pollos de engorda contaminadas con cultivos de *Aspergillus ochraceus* y *F. tricinctum* productoras de OAs y toxina T-2, encontrando lesiones en hígado, principalmente de tipo crónico, entre las lesiones se observó hiperplasia de conductos biliares. Los cambios en riñón fueron observados en células tubulares, apreciándose necrosis por efecto de la ocratoxina, dichas lesiones fueron observadas tanto en los grupos control como en las que se incluyeron los adsorbentes.

Considerando los efectos de las FBs en aves y la posible acción sinérgica con otras micotoxinas, demostrada por otros investigadores (Kubena y col., 1993; Ledoux y col., 2003), y puesto que es frecuente la co-ocurrencia de las micotoxinas en el alimento de consumo animal, deben realizarse nuevos estudios que permitan establecer regulaciones de los niveles de FBs presentes en los alimentos para animales.

El uso de los adsorbentes, tanto clinoptilolita como manano oligosacáridos, bajo los niveles de fumonisinas estudiados, no pudieron demostrar un efecto protector al no presentarse diferencia estadística entre tratamientos, sin embargo destacó el grupo que solo recibió manano oligosacáridos, ya que mostró los mejores parámetros productivos.

De acuerdo a los hallazgos del presente estudio pudiera ser recomendado ampliamente el uso de los biomarcadores SA y SO como indicadores de la exposición a FBs, los cuales son detectados con alta sensibilidad mediante cromatografía de líquidos de alta resolución, pudiendo ser una herramienta de gran utilidad en las explotaciones pecuarias que permita prevenir los problemas de micotoxicosis y reducir las pérdidas económicas a los productores.

X. CONCLUSIONES

1. El estudio de la determinación de fumonisinas en productos de maíz que se expenden en la zona metropolitana de Guadalajara, mostró contaminación en el 100% de las tortillas, tamales, tostadas, hojuelas de maíz y elote.
2. Se encontró incremento de la relación esfinganina/esfingosina (SA/SO) en orina de alumnos de Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), lo que se considera indicativo de riesgo de exposición a fumonisinas.
3. El consumo diario de fumonisinas estimado en los alumnos del CUCBA supera los niveles tolerables reportados por FAO y OMS.
4. Los niveles y tiempo de intoxicación usados no permitieron ver el beneficio de los adsorbentes utilizados en este experimento sobre los parámetros productivos de las aves de engorda, sin embargo tampoco se observaron efectos negativos en los mismos.
5. La actividad enzimática de la AST fue más representativa del daño parcial producido en hígado por las fumonisinas en el alimento durante la semana de intoxicación, mientras que la ALT no mostró ser un buen indicador de daño.
6. La relación SA/SO, demostró ser un biomarcador sensible de la exposición a fumonisinas en pollos de engorda.
7. Las concentraciones de proteínas plasmáticas tuvieron variaciones principalmente en aquellos tratamientos con fumonisinas pero no de manera significativa lo que indica integridad del tejido hepático.

8. Los niveles de glutatión (GSH) en hígado de los tratamientos que incluyeron fumonisinas aumentaron al término de la etapa de intoxicación.
9. El estudio histopatológico de los órganos evaluados permitió observar daño celular de moderado a severo de necrosis focal en particular en los que recibieron fumonisinas.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, H. K; Boyette, C. D. (1992). Phytotoxicity of fumonisin B₁ on weed and crop species. *Weed Technol.* 6: 548-552.
- Abbas, H. K, Gelderblom, W. C. A, Cawood, M. E., Shier, W. T. (1993). Biological activities of fumonisinas, mycotoxins from *Fusarium moniliforme* in jimsonweed (*Datura stramonium* L.) and mammalian cell cultures. *Toxicology.* 31: 345-353.
- Abbas, H. K, Paul, R. N., Boyette, C. D. Duke, S. O. Vesonder, R. F. (1992). Physiological and ultrastructural effects of fumonisin on jimsonweed leavels. *Can. J. Bot.* 70: 1824-1833.
- Abbas, H. K., Smeda, R. J., Gerwick., B. C. Shier, W. T. (1999). Fumonisin B₁ from the fungus *Fusarium moniliforme* causes contac toxicity in plants: evidence from studies with biosynthetically labeled toxin. *J. Nat. Toxins.* 8: 405-420.
- AFIP. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (1995). Métodos Histotecnológicos. Editado por Heffess, C. S y Mullick, F. G. Versión en español. pp 55 – 60.
- Alberts, J. F., Gelderblom, W. C. A., Thiel, P. G., Marasas, W.F. O., Schalkwyk, D. J. Behrend, Y. (1990). Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B₁ by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 1729-1733
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. (1997). 16th Edition.
- ApSimon, J. W., Blackwell, B. A., Edwards, O. E. Fruchierr, A. Miller, J. D., Savard, M. E. Young, J. C. (1994). The chemistry of fumonisins and related compounds. Fumonisin from *Fusarium moniliforme*, chemistry, structure and byosynthesis. *Pure Appl. Chem.* 66: 2315-2318.
- Aravind K. L., Patil V. S., Devegowda G., Umakantha B., Ganpule S. P. (2003). Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. *Poult. Sci.* 82:571-576.
- Asplin, F. D., Carnaghan, R. V. A (1961). The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effets on ducklings and chickens. *Vet. Rec.* 73: 1215-1219.
- Bacon, Ch, W., Nelson. P. E. (1994). Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *J. Food Prot.* 6: 514-521.

- Bane, D. P., Newman, E. J., Hall, W. F., Harlin, K. S., Slife, L. N. (1992). Relationships between fumonisin contamination of feed and myxomatosis disease. *Mycopathology*. 117: 121-124.
- Basappa, S. C., Shantha, T. (1996). Methods for detoxification of aflatoxins in foods and feeds a critical appraisal. *J. Food Sci. Technol.*, 33: 95-107.
- Beers, K. W., Nejad, H., Bottje, W. G. (1992). Aflatoxin and glutathione in domestic fowl (*Gallus domesticus*)-I. Glutathione elevation and attenuation by high dietary methionine. *Comp. Biochem. Physiol.* 101: 239-44.
- Bennet, G. A., Richard J. L. (1994). Liquid chromatographic method for analysis of the naphthalene dicarboxaldehyde derivative of fumonisin. *J. AOAC Int.* 77: 501-506.
- Bennet, G. A., Richard J. L., Eckhoff, S. (1996). Distribution of fumonisin in food and feed products prepared from contaminated corn. En: Jackson, L. S., De Vries, J. W., Bullerman, L. B. Fumonisin in foods. Eds Plenum Press, New York, USA. pp 345-353.
- Bermudez, A.J., Ledoux R. D., Rottinghaus E. G., Stogsdill L.P., Bennett A.G. (1997). Effects of feeding *Fusarium fujikuroi* culture material containing known levels of moliniformin in turkey poults. *Avian Pathol.* 26:565-577.
- Bezuidenhout S.C., Gelderblom W.C.A., Gorst-Allman C.P., Horak R.M., Marasas W.F.O., Spisteller G., Vlegaar R. (1988). Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium verticillioides*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 743-745.
- Bohn J. A., Bemiller J. N. (1995). (1,3) b-D-glucans as biological response modifiers: a review of structure functional activity relationships carbohydrate polymers. 28:3-14.
- Bothast, R. J., Bennet, G. A. Vancauwenberge, J. E., Richard, J. L. (1992). Fate of fumonisin B₁ in naturally corn during ethanol fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 233-236.
- Broomhead, J. N., Ledoux R. D., Bermudez J. A., Rottinghaus E. G. (2002). Chronic effects of fumonisin B₁ in broilers and turkeys fed dietary treatments to market age. *Poultry Science*, 81: 56-61.
- Casado, M. J., Theumer, M., Masih, T. D., Chulze, S., Rubinstein, R. H. (2000). Experimental subchronic mycotoxicoses in mice: individual and combined effects of dietary exposure to fumonisins and aflatoxin B₁. *Food and Chem. Tox.* 39:579-586.
- Castegnaro, M., Garren, L., Galendo, D., Gelderblom, W. C. A., Chelule, P., Dutton, M. F., Wild, C. P. (1998). Analytical method for the determination of sphinganine and sphingosine in serum as a potential biomarker for fumonisin exposure. *J. Chromat. B.* 720:15-24.

- Castegnaro, M., Garren, L., Gaucher, I., Wild, C. P. (1996). Development of a new method for the analysis of sphinganine and sphingosine in urine and tissues. *Nat. Toxins*. 4:284-290.
- Castelo, M., Summer, S., Bullerman, L. B. (1998). Stability of fumonisins in thermally processed corn products. *J. Food Prot.* 61: 1030-1033.
- Cavaglieri L., Etcheverry M., Chulze S. (1997). Control biológico sobre *Fusarium verticillioides*. Uso potencial de *Bacillus subtilis*. 2º Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. Maracay, 14 – 18 de Julio de 1997. Venezuela. pp122.
- Cawood, M. E., Gelderblom, W. C. A., Alberts, J. F., Snyman, S. D. (1994). Interaction of ¹⁴C labelled fumonisin B mycotoxins with primary rat hepatocyte cultures. *Food Chem. Toxicol.* 32: 627-632.
- Cawood, M. E., Gelderblom, W. C. A., Vieggar, R. B., Thiel, P. G., Marasas, W. F. O. (1991). Isolation of fumonisin mycotoxins: A quantitative approach. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1958-1962.
- CFSAN. (2001). Center of Food Safety and Applied Nutrition. FDA/USA.
- Colvin, B.M., Harrison, L.R. (1992). Fumonisin-induced pulmonary edema and hydrothorax in swine. *Mycopathology*. 117: 79-82.
- Chanda, S., Mehendale, M. H. (1996). Role of nutrition in the survival after hepatotoxic injury. *Toxicology*. 111: 163 – 178.
- Charmley, L.B., Prelusky, D.B. (1994). Decontamination of *Fusarium* mycotoxins. En: Miller J.D., Trenholm H.L.(eds.). *Mycotoxins in grain. Compounds other than aflatoxins*. Eagan Press, St. Paul, Minnesota. pp.421-435.
- Charrmley, L.B., Trenholm, H.L., Prelusky, D.B., Rosenberg A. (1995). Economic losses and decontamination. *Nat. Tox.*, 3:199-203.
- Chatterjee, S., Clarke, K. S., Kwiterovich, P. O. Jr. (1986). *J. Biol. Chem.* 261:13474-13479. En: Riley, R. T., Wang, E., and Merril, Jr. A. H. 1994. Liquid chromatographic determination of sphinganine and sphingosine: use of the free sphinganine-to-sphingosine ratio as a biomarker for consumption of fumonisinas. *J. AOAC*.77 (2): 533-540.
- Chelkowsky, J., Lew, H. (1992). *Fusarium* species of Liseola section-occurrence in cereals and hability to produce fumonisin. *Microbiol. Alim. Nutr.* 10: 49-53.

- Chen, J., Microcha, C. J., Xie, W., Hogge, L., Olson, D. (1992). Production of mycotoxin fumonisin B₁ by *Alternaria alternata* f. sp. *Lycopersici*. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3928-3931.
- Chu, F.S., Li G.Y. (1994). Simultaneous occurrence of fumonisin B₁ and other mycotoxins in moldy corn collected from the people Republic of China in regions with high incidence of esophageal cancer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60 :847-852.
- Chulze, S. N., Ramírez, M. L., Farnuchi, M. C., Pascale, M., Visconti, A., March, G. (1996). *Fusarium* and fumonisin occurrence in Argentinian corn at different ear maturity stage. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2797-2801.
- Daniel, W. W. (1989). Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. Ed. Limusa, Grupo Noriega Editores. México D.F.
- Davidson, J.N., Babish, J.G., Delaney, K.A., Taylor, D.R., Phillips, T.D. (1987). Hydrated sodium calcium aluminosilicate decreases the bioavailability of aflatoxin in the chicken. *Poult. Sci.*, 66: 89.
- De Nijs, N., Sizoo, E. A., Rombouts, F. M., Notermans, S. H., van Egmond, H. P. (1998b). Fumonisin B₁ in maize for food production imported in the the Netherlands. *Food Addit. Contam.* 15 : 389-382.
- De Nijs, N., Sizoo, E. A., Vermunt, A. E., Notermans, S. H., van Egmond, H. P. (1998a). The occurrence of fumonisin B₁ in maize containing foods in the Netherlands. *Food Addit. Contam.* 15 : 385-388.
- Desjardins, A. Plattner, R.D., Nelson P. E. (1994). Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in Northeast México. *Appl. Environ. Microbiol.* 1695-1697.
- Doko, M. B., Visconti A., Schjoth J. (1995). Incidence and levels of fumonisinas contamination in maize genotypes grown in Europe and Africa. *J. Agric. Food Chem.* 43: 429-434.
- Doko, M.B., Visconti A. (1994). Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in corn and corn-based human foodstuffs in Italy. *Food Addit. Contam.*, 11:433.
- Doko, M. B., Canet, C., Brown, N., Sydenham, E. W., Mpuchame, S., Siame, B. A. (1996). Natural co-occurrence of fumonisins and zearalenone in cereals and cereals-based foods from eastern and southern Africa. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3240-3243.
- Dombrink-Kurtzman, M.A., Bennett, G. A. Richard, J. L. (1994). An optimized MTT bioassay for determination of cytotoxicity of fumonisin turkey lymphocytes. *J. AOAC Int.* 77: 512-516.

- Espada, Y., Ruiz de Gopegui R., Cuadradas C., Cabañes, F.J. (1994). Fumonisin mycotoxicosis in broilers: weights and serum chemistry modifications. *Avian Dis.*, 38: 454-460.
- FAO. (1997) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Worldwide regulations for mycotoxins in 1997.
- Farnochi, M. C., Dalcerro, A., Pascale, M., Visconti, A., Chulze, S. (1996). Occurrence of fumonisins in sweet corn and corn-based human foodstuffs in Argentine. IX International IUPAC. Symposium on Mycotoxins and Phicotoxins, Roma, Italy. Abstract Book. p 159.
- Fernandez, V., Simizu K., Barros S. B., Azzalis L. A., Pimentel R., Junqueira V. B., Videla L. A. (1991). Effects of hyperthyroidism on rat liver glutathione metabolism: related enzymes' activities, efflux, and turnover. *Endocrinology* 129:85-91.
- Franceschi, S., Bidoli, E., Baron, A.E. La Vecchia, C. (1990). Maize and risk of cancers of the oral cavity, pharynx, and esophagus in northeastern Italy, *J. NCI.* 82: 1407-1411.
- Fraumeni, J. F.; Blot, W. J. (1977). Geographical variation in esophageal cancer mortality in the United States. *J. Chron. Dis.* 30: 759-767.
- Galvano, F., Pietri A., Bertuzzi, T., Bognanno, M., Chiess, L., De Angelis A., Galvano, M. (1997). Activated carbons: in vitro affinity for fumonisin B₁ and relation of adsorption ability to physicochemical parameters. *J. Food prot.*, 60: 985-991.
- Galvano, F., Piva, A., Ritieni, A., Galvano, G. (2001). Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. *J Food Prot.*, 64: 120-131.
- García, M. R. A. (2002). Evaluación de secuestrantes de micotoxinas para reducir la toxicidad en dietas para pollo de engorda contaminadas con cultivos de *Aspergillus ochraceus* y *Fusarium tricinctum* productores de ocratoxina y toxina T2. Tesis de Maestría en Ciencias. División de Estudios de Posgrado e Investigación. FMVZ.UNAM.
- Gelderblom, W. A. C., Marasas W.F.O., Jaskiewicz K., Combrinck, S., van Scalkwyk, D. J. (1988b). Cancer promoting potential of different strains of *Fusarium moniliforme* in a short-term cancer initiation/promotion assay. *Carcinogenesis.* 9:1405-1409.
- Gelderblom, W.A.C., Jaskiewicz K., Marasas W.F.O., Thiel P.G., Horak R.M., Vlegaar R., Kriek N.P.J. (1988a). Fumonisin-novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium verticillioides*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54 : 1806-1811.
- Gelderblom, W. A .C., Kriek, N. P .J., Marasas W. F. O., Thiel, P. G. (1991). Toxicity fumonisin B₁, in rats. *Carcinogenesis*, 12: 1247-1251.

- Gelderblom, W. A. C., Cawood M.E., Snyman, S. D., Marasas, W.F.O. (1994). Fumonisin B₁ dosimetry in relation to cancer initiation in rat liver. *Carcinogenesis*, 15: 209-214.
- Gelderblom, W. A. C., Cawood M.E., Snyman, S. D., Vleggaar, R., Marasas, W.F.O. (1993). Structure activity relationships of fumonisins short-term carcinogenesis and cytotoxicity assay. *Food. Chem. Toxicol.* 31: 407-414.
- Gelderblom, W. A. C., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Vleggaar, R., Cawood M.E., (1992a). Fumonisin: isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia*, 117: 11-16.
- Gelderblom, W. A. C., Semple, E., Marasas, W.F.O., Farber, E. (1992b). The cancer initiating potential of the fumonisin B mycotoxins. *Carcinogenesis*, 13: 433-437.
- González, A. U., (1995). El maíz y su conservación. Ed. Trillas. México D.F. pp. 177-278.
- González, I. J. F. (1998). Maíz. Agro-Síntesis. Ed. Año Dos Mil S. A. México, D. F.
- Gumprecht, L. A., Marcucci, A., Weigel, R. M. Vesonder, R. F., Riley, R. T., Showker, J. L. Beasley, V. R., Haschek W. M. (1995). Effect of intravenous fumonisin B₁ in rabbits Nephrotoxicity and sphingolipid alterations. *Natural Toxins*. 3: 395-403.
- Hannun, Y.A., Bell R.M.(1989). Functions of sphingolipids and sphingolipid breakdown products in cellular regulation. *Science*. 243:500-507.
- Harrison, L.R., Colvin B.M., Greence J.T., Newman L.E., and Cole J.R. (1990). Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B₁, a toxic metabolite of *Fusarium verticillioides*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2: 217-221.
- Haschek, W. M., Kim, H. Y., Motelin, G. K., Stair, E. L., Beasley, W. J., Chamberlain, W. J and Riley, R. T. (1993). Pure fumonisin B₁ as well as fumonisin-contaminated feed, alters swine serum and tissue sphinganine and sphingosine levels, biomarkers of exposure. *Toxicology*. 13:232-236.
- Haschek, W. M., Motelin, G. K., Ness, D. K., Harlin, K. S., Hall, W. F., Vesonder, R. F. Peterson, R. E., Beasley, W. J. (1992). Characterization of fumonisin toxicity metabolite of *Fusarium moniliforme*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2: 217-221.
- Hibbard, B. M. (1993). *J. Obstet. Gynecol.* 100: 307-309. En: Fumonisin B₁ induced sphingolipid depletion inhibits vitamin uptake via the glycosylphosphatidylinositol-

anchored folate receptor Stevens, V. L., Tang J. (1997). *J. Biolog. Chem.* 272:18020-18025.

- Hirooka, E.Y., Yamaguchi, M. N., Aoyama, S., Susgiura, Y., Ueno Y. (1996). The natural occurrence of fumonisins in Brazilian corn kernels. *Food Addit. Contam.*, 13: 173-183.
- Hissin, P. J., Hilf, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathion in tissues. *Analyt. Biochem.* 74: 214-226
- Hopman, E. C., and Murphy, P. A. (1993). Detection of fumonisin B₁, B₂ and B₃ and hydrolized fumonisin B₁ in corn containing food. *J. Agric. Food. Chem.* 41: 1655-1658.
- Hussein, H.S., Brasel L.M. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on human and animals. *Toxicology.*, 167: 101-134.
- Huwig, A., Freimund, S., Kappeli, O., Dutler, H. (2001). Mycotoxin detoxification of animal feed by different adsorbents. *Toxicol. Lett.* 122: 179-188.
- IARC. International Agency for Research on Cancer. (1993). Some naturally occurring substances: Foods items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins; IARC, Monographs on evaluation of carcinogenic risk to human, Vol. 56. Lyon, France.
- Ibrahim, I. K., Shareef, A. M., Al-Joubory, K. M. (2000). Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis and Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis. *Res. Vet. Sci.*, 69 :119-122.
- IFCC. (1976). Methods for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes. *Clin. Chim acta* 70:F19.
- IFCC. (1997). Methods for the measurement of the aspartate aminotransferase L-aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase EC 2.6.1.1. *Clin. Chim. Acta* 80:F21.
- Jackson L.S., Bullerman L.B. (1999). Effect of processing on Fusarium mycotoxins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 459: 243-261.
- Jackson, L. S., Hlwyka, J. J., Senthil, K. R. Bullerman, L. B. (1996). Effect of thermal processing on the stability of fumonisins. En: Jackson, L. S., De Vries, J. W., Bullerman, L. B. Fumonisins in foods. Eds Plenum Press, New York, USA. pp 345-353.
- Jackson, M. A., and Bennet, G. A. (1990). Production of fumonisin B₁ bt *Fusarium moniliforme* NRRL 13616 in submerged culture. *Appl Environ. Microbiol.* 56: 2296-2298.

- Jindal, N., Mahipal S. K., Rottinghaus G. E. (1999). Occurrence of fumonisin B₁ in maize and poultry feeds in Haryana, India. *Mycopathologia*, 148: 37-40.
- Joseleau, J.P., Lefebvre, A. Ruel, K. (1999). Les glucides de paroi des levures aliment industrielles.
- Kale, S., Bennet J.W. (1992). Strain instability in filamentous fungi. En: Handbook of applied mycology. Vol. 5 : Mycotoxins in ecological systems. Bhatnagar D., Lillehoj E.B., Arora D.K. (eds.) Marcell Dekker, Inc, New York, USA. pp. 311-331.
- Kedera, C. J., Plattner, R. D., Desjardins, A. E. (1999). Incidence of *Fusarium* spp and levels of fumonisin B₁ in maize in western Kenya. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 41-44.
- Kellerman, T. S., Marasas, W. F. O., Thiel, P. G., Gelderblom, W. A. C. Cawood, M. E., Coetzer, J. A. W. (1990). Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B₁. *J. Vet. Res.* 57: 269-275.
- Kmet, J., Mahboubi, E. (1972). Esophageal cancer in the Caspian Litoral of Iran. Initial studies. *Science.* 175: 846- 853.
- Kubena, L. F., Edrington T. S., Kamps-Holtzapple C., Harvey R. B., Elissalde M. H., Rottinghaus G. E. (1995). Effects of feeding fumonisin B₁ present in *Fusarium moniliforme* culture material and aflatoxin singly and in combination to turkey poults. *Poult Sci.* 74:1295-303.
- Kubena, L. F., Harvey R. B., Phillips T. D., Clement B. A. (1993). Effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate on aflatoxicosis in broiler chicks. *Poult. Sci.*, 72: 651-657.
- Kubena, L. F., Edrington, T. S., Harvey, R. B., Buckley, S. A., Phillips, T. D., Rottinghaus, G. E., Casper, H. H. (1997). Individual and combined effects of fumonisin B₁ present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. *Poult. Sci.*, 76: 1239-1247.
- Lahnborg, G., Hedstrom, K. G., Nord, C. E. (1982) The effect of glucan a host resistance activator and ampicillin on experimental intrabdominal sepsis. *J. Reticuloendotelial Society.* 32:347-353.
- Lamprecht, S. C. Marasas, W. F. O., Alberts, J. F., Cawood, M. E., Gelderblom, W. A. C., Shephard, G. S. Thiel, P. G., Calitz, F. J. (1994). Phytotoxicity of fumonisins and TA-toxin to corn and tomato. *Phytopathology.* 84: 383-391.

- Ledoux, D. R., Broomhead N.J., Bermudez J.A., Rottinghaus E.G. (2003). Individual and combined effects of the fusarium mycotoxins fumonisin B₁ and moniliformin in broiler chicks. *Avian Dis.* 47:1368-1375.
- Ledoux, D. R., Brown T.P., Weibking S.T., and Rottinghaus G.E. (1992). Fumonisin toxicity in broiler chicks. *J. Vet. Invest.* 4:330-333.
- Ledoux, D. R., Rottinghaus, G. E., Bermudez, A. J., Alonso-Debolt, M. (1999). Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poult. Sci.* 78: 204-210.
- Lim, C.W., Parker, H.M., Vesonder, R.F., Haschek W.M. (1996). Intravenous fumonisin B₁ induces cell proliferation and apoptosis in the rat. *Nat. Toxins.* 4: 34-41.
- López-García, R., Park D.L. (1998). Effectiveness of postharvest procedures in management of mycotoxin hazards. En: *Mycotoxins in agriculture and food safety*. Eds. Sinha K.K., Bhatnagar D. Marcel Dekker, Inc. pp 407-433.
- Machen, M.D., Clement, B.A., Shepherd, E.C., Sarr, A.B., Pettit, R.E., Phillips, T.D. (1988). Absorption of aflatoxins from peanut oil by aluminosilicates. *Toxicologist.*, 8:265.
- Machinski Jr., M., Soares, L. M. V. (2000). Fumonisin B₁ and B₂ in Brazilian corn-based food products. *Food Addit. Contam.* 17: 875-879.
- Magnoli, C. (2002). Estudios sobre prevención y control de micotonina en alimentos balanceados para aves. *Tesis Doctoral*, UNR., Río Cuarto, Argentina.
- Manning, R. O., Wyatt, R. D. (1990). Effect of cold acclimation on broiler chicks resistance to acute aflatoxicosis. *Poult. Sci.* 69, 388-396.
- Maragos, C. M. (1995). Capillary zone electrophoresis and HPLC for the análisis of fluorescein isothiocyanate labeled fumonisin B₁. *J. Agric. Food Chem.* 43: 390-394.
- Marasas, W.F.O., Jaskiewicz K., Venter F.S., van Schalkwyk D.J. (1988). *Fusarium verticillioides* contamination of maize in oesophageal cancer areas in Transkei. *S. Afr. Med. J. S. A. Med.*, 74: 110-114.
- Marín, F. E., del Río G.J.C., Moreno R.C., Hernández R.J.O. (2003). Efecto comparativo de fumonisin y aflatoxina en el pollo de engorda. ANECA, *Memorias convención anual*, Boca del Río, Ver. Méx.
- Masimango, N., Remacle J., Ramaut J. (1978). The role of adsorption in the elimination of aflatoxin B₁ from contaminated media. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 6: 101-105.

- Masse, P. G., Weiser, P. (1994). Effects of dietary proteins and yeast *Saccharomyces cerevisiae* on vitamin B6 status during growth. *Ann Nutr Metab.* 38(3):123-131.
- Medina, H. S., Martínez, A. J. (1994). Detección de mohos y niveles de aflatoxinas y fumonisinas e maíz cultivado en Venezuela y su destrucción por amonificación. Anales del I Congreso latinoamericano de Micotoxicología. Río de Janeiro, Brazil. pp 81-82.
- Meredith FI, Torres O,R, Saenz de Tejada S, Riley RT, Merrill AH Jr. (1999). Fumonisin B₁ and hydrolyzed fumonisin B1 (AP1) in tortillas and nixtamalized corn (*Zea mays L.*) from two different geographic locations in Guatemala. *J Food Prot.* 62:1218-22.
- Merrill, A. H. Jr. (1991). Cell regulation by sphingosine and more complex sphingolipids. *J. Bioenerget Biomembr.* 23, 83-104.
- Merrill, A. H. Jr., Wang, E., Vales, T. R., Smith, E. R., Schroeder, J. J. Menaldino, D. S. Alexander, C., Crane, H. M., Xia, J., Liotta, D. C., Meredith, F. I., Riley, R. T. (1996). Fumonisin toxicity and sphingolipid biosynthesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 392, 297-206.
- Merrill, A. H. , Wang, E., Gilchrist, D. G Riley, R. T. (1993). Fumonisin and other inhibitors of *de novo* sphingolipid biosynthesis. *Adv. Lipid. Rest.* 26:215-234.
- Mgbodile, M. U., Holscher M., Neal R. A. (1975). A possible protective role for reduced glutathione in aflatoxin B1 toxicity: effect of pretreatment of rats with phenobarbital and 3-methylcholanthrene on aflatoxin toxicity. *Biochem Pharmacol.* 22:1125-32.
- Miazso, R, Rosa CA, De Queiroz Carvalho EC, Magnoli C, Chiacchiera SM, Palacio G, Saenz M, Kikot A, Basaldella E, Dalcero A. (2000). Efficacy of synthetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Poult Sci.* 79:1-6.
- Mirocha, C. J., Gilchrist, D. G., Shier, W. T., Abbas, K., Wen, Y., Vesonder, R. F. (1992). AAL toxins fumonisins (biology and chemistry) and host-specificity concepts. *Mycopathol.* 117: 47-56.
- Moss, M.O. (1996). Mycotoxins. Centenary review. *Mycol. Res.*, 100: 513-523.
- Mumpton, F. A., Fishman P.H. (1997). The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *J. Anim. Sci.* 45:1188-1203.
- Munimbazi, C., Bullerman, L. B. (1996). Molds and mycotoxins in food from Burundi. *J. Food Prot.* 59: 869-875.

- Murphy, M. E., King, J. R. (1990). Diurnal changes in tissue glutathione and pro-teins pools of molting and nonmolting white-crowned sparrows: the influ-ence of photoperiod and feeding schedule. *Physiol. Zoolog.* 63: 1118-1140.
- Murphy, P. A. Rice, L. G., Ross, P. F (1993). Fumonisin B₁, B₂ and B₃ conten of Iowa, Wisconsin and Illionis corn and screening. *J. Agric. Food Chem.* 41: 263-266.
- Murphy, P. A., Hendrich, S. P., Hopmans H. C., Lu, Z. Buseman, G., Munkvold, G. (1996). Effects of processing in fumonisin content of corn. En: Jackson, L. S., De Vries, J. W., Bullerman, L. B. Fumonisin in foods. Eds Plenum Press, New York, USA. pp 345-353.
- Nahm, K. H. (1995). Prevention of aflatoxicosis by addition of antioxidant and hydrated sodium calcium aluminosilicate to diet of young chicks. *Japanese Poult. Sci.* 32: 117-127.
- Nelson, P.E., Plattner R.D., Shackekford D.D., Desjardins A.E. (1992). Fuminisin B₁ production by *Fusarium* species other than *Fusarium moniliforme* in section Liseola and by some related Species. *App. Environ. Microbiol.* 58 (3):984-989.
- Oguz, H., Kurtoglu, V. (2000). Effect of clinoptilolite on performance of broiler chickens during exlpermental aflatoxicosis. *Br. Poult. Sci.*, 41 : 512-517.
- Oguz, H., Kurtoglu, V., Coskun, B. (2000). Preventive efficacfy of clinoptilolite in broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) exposure. *Res. Vet. Sci.*, 69 : 197-201.
- Onifade, A. A., Odunsi, A., Babatunde, G.M., Muma, E. (1999). Comparison of the supplemental effects of *Saccharomyces cerevisiae* and antibiotics in low protein and high fiber diets fed to broiler chickens. *Arch. Tierernahr.* 52: 29-39.
- Osweiler, G.D. (2000). Mycotoxins contemporary issues of food animal health and productivity. *Vet Clin. North. Am. Food Anim. Pract.*, 16:511-530.
- Osweiler, G.D., Ross, P.F., Wilson, T.M., Nelson, W. S.T., Carson, T.L., Rice, L.G., Nelson, H.A. (1992). Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisin in corn screenings. *J. Vet. Diagn Invest.* 4: 53-59.
- Park, J.J., Smalley E.B., Chu F.S. (1996). Natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins in field samples from the 1992 Wisconsin corn crop. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 : 1642-1648.

- Parlat, S. S., Yildiz, A. O., Oguz, H. (1999). Effect of clinoptilolite on performance of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during experimental aflatoxicosis. *Br. Poult. Sci.*, 40: 495-500.
- Pascale, M., Doko, M. B., Visconti, A. (1995). Determination of fumonisin in polenta by high performance liquid chromatography. *Atti 2do Congresso Nazionale de Chimica degli Alimenti, Giardini, Naxos, Italy* pp 1067-1071.
- Patel, S., Hazel, C. M., Winterton, A. G., Mortby, E. (1996). Survey of ethnic foods for mycotoxins. *Food Addit. Contam.* 13: 833-841.
- Peraica, M., Radic B., Lucic A., Pavlovic M. (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull. World Health Organ.*, 77: 754-766.
- Pérez, D. A. (1996). Adición de proteínas de soya al maíz. Centro de Asistencia Técnica, Asoc. Americana de soya. México, D.F.
- Perilla, N. S., Diaz, G. J. (1998). Incidence and levels of fumonisin contamination in Colombian corn and corn products. *Mycot. Res.* 14: 74-82.
- Peterson, G. L. (1997). A simplification of the protein assay method of Lowry et al., which is more generally applicable. *Annals of Biochemistry*, 58, 743-764.
- Phillips, T. D., Kubena, L. F., Harvey, R. B., Taylor, D. R., Heidelbaugh, N. D. (1988). Hydrated sodium calcium aluminosilicate: A high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry Sci.*, 67: 243-247.
- Phillips, T. D., Sarr, A. B., Grant, P.G. (1995): Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. *Nat. Toxins.*, 3: 204-213.
- Pietri, A., Bertuzzi, T., Peña, G. (1995). Fumonisin contamination of maize grown in Italy. En: *International Seminar on Fusarium: Micotoxins. Taxonomy and Pathogenicity*, Martina Franca. Italy. Abstract Book. p 18.
- Piñeiro, M. S., Silva, G. E., Scott, P. M., Lawrence, G. A., Stack, M. E. (1997). Fumonisin levels in Uruguay corn products. *J. AOAC Int.* 80: 825-828.
- Pittet, A., Parrisod, V., Schellenberg, M. (1992). Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in corn based products from the Swiss market. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1352-1354.

- Piva, G., Galvano, F., Pietri, A., Piva A. (1995). Detoxification methods of aflatoxins: a review. *Nutr. Res.* 5: 689-715.
- Plattner R.D., Weisleder D., Shackelford D.D., Peterson R., Powell R.G. (1992). A new fumonisin from solid cultures of *Fusarium verticillioides*. *Mycopathol.* 117: 23-28.
- Plattner, R. D., Norred, W. P., Bacon, C. W., Voss, K. A., Peterson, R., Shackelford, D, D., Weislander, D. (1990). A method of detection of fumonisin in corn samples associated with field cases of equine leukoencephalomalacia. *Mycology.* 82: 698-702.
- Postupolski J., Rybinska K., Szczesna M., Karlowski K., Ledzion E. (1999). The review of the European Union documents relating to contamination of aflatoxins in food. *Rocz. Panstw. Zaki-Hig.,* 50: 57-67.
- Prelusky, D, B., Rotter, B. A., Rotter, R.G. (1994). Toxicology of mycotoxins. En *Mycotoxins in grain-compounds other than aflatoxin.* Miller, J. D., Trenholm, H. L. Eds. Eagan Press, St. Paul, Minnesota, USA. pp. 359-403.
- Price W.D., Lovell, R.A., McChesney, D.G. (1993). Naturally occurring toxins in feedstuffs: Center for Veterinary Medicine Perspective. *J. Anim. Sci.,* 71: 2556-2562.
- Qiu, M., Liu, Xiumei. (2001). Determination of sphinganine, sphingosine and SA/SO ratio in urine of humans exposed to dietary fumonisin B₁. *F. Add. Cont.* 3:263-269.
- Quezada, T., Cuellar H., Jaramillo-Juarez F., Valdivia A. G., Reyes J. L. (2000). Effects of aflatoxin B₍₁₎ on the liver and kidney of broiler chickens during development. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 125:265-72.
- Quintana, J. A. (2003). Avitecnia, Manejo de las aves domésticas más comunes. Ed. Trillas, México D. F.
- Qureshi, M. A.; Hagler, W. M. (1992). Effect of fumonisin B₁ exposure on chicken macrophage functions in vitro. *Poult. Sci.* 71: 104-112.
- Ramos, A. J., Gremmels F., Hernández E. (1996). Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. *J. Food Prot.* 59:631-641.
- Ramos, A.J., Hernández, E. (1997). Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilication addition to feedstuffs. A review. *Anim. Feed Sci Technol.,* 65: 197-206.

- Rava, E. (1996). Mycotoxins in maize products of the 1994/95 marketing season. *Mycot. Res.* 12: 25-30
- Reyes, C. P. (1990). El maíz y su cultivo. Ed. A. G. T., México. D. F.
- Reyes, V. W. P., Landeros, R. P., Ramírez, A. A. Carvajal, M. M. (2002). Efecto del proceso de nixtamalización sobre los niveles de fumonisinas y la producción de hidrolizados en masa y tortillas. *Scientia-CUCBA.* 4: 173-182.
- Reyes, V., Ruelas M., Udave F.C.G. (1997). Detección de fumonisinas en masa y tortillas que se expenden en la Zona Metropolitana de Guadalajara. Memorias de la XIV Reunión Nacional de Microbiología, Higiene y Toxicología de Alimentos. Guadalajara Jalisco, México.
- Reyes, V.W.P. (1997). Producción de fumonisinas por cepas de *Fusarium moniliforme* aisladas de una localidad al sur del Estado de Jalisco. Memorias del Congreso Mexicano de Toxicología, realizado del 20 al 20 de mayo de 1997. UAM. México D.F.
- Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shephard, G.S., van Schalkwyk D.J. (1992). *Fusarium verticillioides* and fumonisin in corn in relation to human esophageal cancer in Traskei. *Phytopathol.*, 82: 353-357.
- Riley, R.T., Norred W.P., Bacon C.W. (1993b). Fungal toxins in foods recent concerns. *Anu. Rev. Nutr.*, 13: 167-189.
- Riley, R.T., An, N. H., Showker, J. L. Yoo, H. S., Norred, W. P. Chaberlain, W. J. Wang., E., Merrill, A. H. Motelin, G., Beasley, V. R., Haschek, W. M. (1993a). Alteration of tissue and serum sphinganine to sphingosine ratio: An early biomarker of exposure to fumonisin containing feeds in pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 118:105-112.
- Riley, R.T., Voss, K. A., Yoo, H. G., Gelderblom, W. A. C., Merrill, A. H. Jr. (1994). Mechanism of fumonisins toxicity and carcinogenesis. *J. Food Prot.* 57: 638-645.
- Ross, P. F., Ledet, A. E., Owens, D. L. Rice L.G., Nelson P.E., Osweiler G.D., Wilson T.M. (1993). Experimental equine leukoencephalomalacia, toxic hepatitis and encephalopathy caused by corn naturally contaminated with fumonisins. *J. Vet. Diagn. Inv.* 5:69-74
- Ross, P. F., Rice, L. G., Plattner, R. D., Osweiler, G. D., Wilson, T. M., Owens, D. L., Nelson, H. A., Richard, J. L. (1991a). Concentration of fumonisin B₁ en feeds associated with animal health problems. *Mycopathology.* 114: 129-135.

- Ross, P. F., Rice, L. G., Reagor, J. C., Osweiler, G. D., Wilson, T. M., Nelson, H. A., Owens, D. L., Plattner, R. D., Harlin, K. A., Richard, J. L., Colvin, B. M. Baton, M. I. (1991b). Fumonisin B₁ concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *J. Vet. Diagn. Invest.* 3 : 328-329.
- Ross, P.F., Nelson, P.E., Richard, J.L., Osweiler, G.D., Rice L.G., Plattner R.D., Wilson T.M. (1990). Production of fumonisins by *F. moniliforme* and *F. proliferatum* isolated associated with equine leukoencephalomalacia and pulmonary edema syndrome in swine. *Appl. Environ. Microbil.*, 56 : 3225-3226.
- Rother, J., van Echten, G., Schwarzmann, G., Sandhoff, K. (1992). Biosynthesis of sphingolipids dihydroceramide and not sphinganine is desaturated by cultures cells. *Biochem. Biophys. Resum. Commun.* 1: 14-20.
- Rotthinghaus, G. E., Coatney, C. E., Minor, H. C. (1992). A rapid sensitive thin layer chromatographic procedure for the detection of fumonisin B₁ and FB₂. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4: 326-329.
- SAGARPA. (2004). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Situación actual y perspectiva del maíz, 1990-2004.
- Sanchis, V., Abadias, M., Oncis, L., Sala, N, Vinas, I., Canela, R. (1994). Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in corn based products from the Spanish market. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2147-2148.
- Santin, E., Paulillo, A.C., Krabbe E.L., Macari M. (1999). Humoral immunity against Newcastle disease virus in broilers fed *S. cerevisiae* cell wall and aflatoxin. *J. Anim. Sci.* 79(1):301-308.
- SAS. Institute (1989-1996) SAS/STAT^{MR} User's guide: statistics. 1996 Edition. SAS Institute Inc, Cary, N.C. USA.
- Scott, P.M. (1997). Multi-year monitoring of Canadian grains and grains-based foods for trichothecenes and zearalenone. *Food Addit. Contam.*, 14: 333-339.
- Scott, P.M. (1998). Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins. *Revue. Med Vet.*, 149: 543-548.
- Scott, P.M., Lawrence, G. A. (1992). Liquid chromatographic determination of fumonisins with 4-fluoro-7-nitrobenzofurazan. *J. AOAC Int.* 75: 829-834.
- Scudamore, K.A., Chang, H. K. (1993). Occurrence of fumonisin mycotoxins in maize and millet imported into United Kingdom. En: Scudamore, K. A. Occurrence and significance of mycotoxins. Ed. Central Sci. Lab. Slough, Uk. pp 186-189.

- Scudamore, K.A., Hetmanski M.T., Chan H.K., Collins S. (1997). Occurrence of mycotoxins in raw ingredients used for animal feeding stuffs in the United Kingdom in 1992. *Food Addit. Contam.*, 14: 157-173.
- Scudamore, K.A., Nawaz S., and Hetmanski M.t. (1998). Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: II determination of mycotoxins in maize and maize products. *Food Addit. Contam.*, 15: 30-55.
- Seo, J.A., and Lee Y.W. (1999). Natural occurrence of the series of fumonisins in moldy corn. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 1331-1334.
- Shephard, G. S., van der Westhuizen L., Thiel P. G. Gelderblom W. C. A., Marasas W. F. O., van Schalkwyk, D. J. (1996b). Disruption of sphingolipid metabolism in non-human primates consuming diets of fumonisin-containing *Fusarium moniliforme* culture material. *Toxicol.* 34: 527- 534. En: Sphinganine/Sphingosine ratio in plasma and urine as a possible biomarker for fumonisin exposure in humans in rural areas of Africa van der Westhuizen L., Brown, N. L., Marasas W. F. O., Swanevelder S., Shephard, G. S. (1999).. *Food and Chem. Toxicol* 37: 1153-1158.
- Shephard, G.S., Sydenham, E.W., Thiel P.G., Gelderblom, W. A. C. (1990). Quantitative determination of fumonisins B₁ and B₂ by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Liq. Chromatogr.* 13:2077-2080.
- Shephard, G. S., Thiel, P. G., Stockenstrom, T. S., Sydenham, E. W. (1996). Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *J. AOAC Intern.*, 79: 671-687.
- Shephard, G. S., Thiel, P. G., Sydenham, E. W., Vleggaar, R., Alberts, J. F. (1994). Determination of the mycotoxin fumonisin B₁ and identification of its partially hydrolyzed metabolites in the faces of non human primates. *Food. Chem. Toxicol.*
- Shetty, P.H., Bhat R.V. (1997). Natural occurrence of fumonisin B₁ and its co-occurrence with aflatoxin B₁ in Indian sorghum, maize and poultry feeds. *J. Agric. Food Chem.* 45: 2170-2173.
- Shier, W. T., Abbas, H. K., Mirocha, C. J. (1991). Toxicity of the mycotoxins fumonisins B₁ and B₂ an *Alternaria alternata* f. sp. *Lycopersici* toxin (AAL) in cultured mammalian cells. *Mycopathol.* 116: 97-104.
- Sinha, K. K. (1998). Detoxification of mycotoxins and food safety. In: *Mycotoxins in agriculture and food safety*. Dinha K.K., Bhatnagar D. Ed. Marcel Dekker, Inc. pp. 381-405.

- Smith, E. R., Merrill, A. H. Jr. 1993. Altering *de novo* sphingolipid biosynthesis affects phospholipid profiles in J774 macrophages. *FASEB J.* 7:A173 (Abstract). En Riley, R. T., Voss, K. A., Soo Yoo. H., Gelderblom, W. C. A., and Merrill, A. 1994b. Mechanism of Fumonisin toxicity and carcinogenesis. *J. Food Prot.* 6:528-535.
- Sohn, H.B., Seo J.A., and Lee Y.W. (1999). Co-occurrence of Fusarium mycotoxins in mouldy and healthy corn from Korea. *Food Addit. Contam.* 16: 153-158.
- Smith, J. E. Moss M. O. (1985). *Mycotoxins: Formation, analysis and significance.* New York: John Wiley., Sons pp. 1-143.
- Solfrizzo, M., Chulze, S. N., Mallmann, C., Visconti, A., De Girolamo, A., Rojo, F., Torres, A. (2004). Comparison of urinary sphingolipids in human populations with high and low maize consumption as a possible biomarker of fumonisin dietary exposure. *Food Addit Contam.* 21: 1090-1095.
- Solfrizzo, M., Avataggiato, G., Visconti, A. (1997a). Rapid method to determine sphinganine/sphingosine in human and animal urine as a biomarker for fumonisin exposure. *J. Chromat. B.* 692: 87-93.
- Solfrizzo, M., Torres, A. Avataggiato, G., De Girolamo, A., Reynoso, M., Rojo F, Chulze, S., Visconti A. (2000). Sphinganine to sphingosine ratio, a biomarker that display animal exposure to fumonisins and potentially useful to evaluate human exposure to these mycotoxins. III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. Sociedad Latinoamericana de Toxicología. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Solfrizzo, M., Avataggiato, G., Visconti, A. (1997b). In vivo validation of the sphinganine/sphingosine ratio as a biomarker to display fumonisin ingestion. *Cereal Resear. Communic.* 25: 437-442.
- Solovey, M.M., Somoza, C., Cano G., Pacin, A., Resnik S.A. (1999). A survey of fumonisins, deoxynivalenol, zearalenone and aflatoxins contamination in corn-based food products in Argentina. *Food Addit. Contam.*, 16: 325-329.
- Spring, P., Wenk, C., Dawson, K. A., Neman, K. E. (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the cecal of salmonella-challenged broiler chicks. *Poult. Sci.* 79(2):205-211.
- Stack, M. E., Eppley, R. M. 1992. Liquid chromatographic determination of fumonisin B₁ and B₂ in corn products. *J. AOAC. Int.*, 75:834-837.
- Stanley, V. G., Ojo, R., Woldesenbet, S., Hutchinson, D. H., Kubena, L. F. (1993). The use of *Saccharomyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. *Poult. Sci.* 72, 1867- 1872.

- Stevens, V., Tang, J. (1997). Fumonisin B₁-induced sphingolipid depletion inhibits vitamin uptake via the glycosylphosphatidylinositol-anchored folate receptor. *J. Biolog Chem.* 29: 18020-18025.
- Sundheim, L., Schjoth, J., Kosiak, B., Forthum, E., Visconti, A. (1995). Fumonisin in stored maize in Zambia. International Seminar on Mycotoxins Taxonomy and Pathogenicity. Abstract Book. p. 15.
- Sydenham, E. W., Shephard, G. S., Stockenstrom, S., Rheeder, J. P., Marasas W.F.O., van der Merwe, M. J. (1997). Production of fumonisin B analogues and related compounds by *Fusarium glubosum*, a newly described species from corn. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4004-4010.
- Sydenham, E. W., Gelderblom, W. A. C., Thiel, P.G., Marasas, W. F. O. (1990). Evidence for the natural occurrence of fumonisin B₁, a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme*, in corn. *J. Agric. Food Chem.* 38:285-290.
- Sydenham, E. W., Marasas, W. F. O., Shephard, G. S., Thiel, P.G., Hirooka, E. Y. (1992). Fumonisin concentration in Brazilian feed associated with field outbreaks of confirmed and suspected animal mycotoxicosis. *J. Agric. Food Chem.* 40: 994-997.
- Sydenham, E. W., Shephard, G. S., Gelderblom, W. A. C., Thiel, P. G., Marasas, W. F. O. (1993b). Fumonisin: Their implications for human and animal health. En: Scudamore, K. A. Occurrence and significance of mycotoxins. Ed. Central Sci. Lab. Slough, Uk. pp 42-48.
- Sydenham, E. W., Shephard, G. S., Thiel, P. G., Marasas, W. F. O., Stockenstrom, S. (1991). Fumonisin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 39:2014-2018.
- Sydenham, E. W., Shephard, G. S., Thiel, P. G., Marasas, W. F. O., Rheeder, J. P., Peralta Sanhueza, C. E., González, H. H., Resnik, S. (1993a). Fumonisin in Argentinian field trial corn. *J. Agric. Food Chem.* 41: 891-895.
- Sydenham, E. W., Stockenstrom, S., Thiel, P. G., Shephard, G. S., Kooch, K. R., Marasas, W. F. O., (1995). Potential of alkaline hydrolysis for the removal of fumonisin from contaminated corn. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1198-1201.
- Tanaka, T., Yamagushi, J. (1972). Dry matter production, yield components and grain yield of the maize plant. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.* 57: 71-132.

- Task, Force Report. (1989). Micotoxins Economic and Health Risks. Council for Agricultural Science and Technology., Iowa No. 116. 11-69.
- Thiel, P. G., Marasas, W. F. O., Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Gelderbolm, W. A. C. (1991a). Survey of fumonisin production by *Fusarium species*. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 1089-1093 .
- Thiel, P. G., Shephard, G.S., Sydenham, E.W., Marasas, W. F. O., Nelson, P. E., Wilson, T. M. (1991b). Levels of fumonisins B₁ y B₂ in feeds associated with confirmed cases of leukoencephalomalacia. *J. Agric. Food Chem.* 39:109-111.
- Tietz, N. W. (1999). Clinical guide to laboratory test, 3rd ed. Saunder Co.
- Torres, A.; Reynoso M.M.; Rojo, F.; Ramírez, M.L.; Chulze, S. (2001). *Fusarium* (section *Liseola*) and its mycotoxins in maize harvested in the North area of Argentina. *Food Additives and Contaminants* 18: 836-843.
- Tseng, T-C., Liu, C-Y. (1997). Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in corn based foodstuffs in Taiwan market. *Mycopathology.* 137: 57-61.
- Turner, P. C., Nikiema, P., Wild, C. P. (1999). Fumonisin contamination of food: progress in development of biomarkers to better assess human health risks. *Mutation Research.* 443: 81-93.
- Ueno, Y., Aoyama, S., Sugiura, Y., Wang, D. S., Lee, U. S., Hirooka, E. Y., Hara, S., Karki, T., Chen, G., Yu, S-Z. (1993). A limited survey of fumonisins in corn based products in Asian countries. *Mycot. Res.* 9:27-34.
- Ueno, Y., Lijima, K., Wang, D. S., Sugiura, Y., Sehijima, M., Tanaka, T., Chen, G., Yu, S-Z. (1997). Fumonisin as a possible contributory risk factor for primary liver cancer: a 3 year study of corn harvested in Haimen, China, by HPLC and ELISA. *Food Chem. Toxicol.* 35: 1143-1150.
- Ung-Soo, L., Myong-Yur, L., Kwang-Sop, S., Yun-Sik, M. Chae-Min, C. Ueno, Y (1994). Production of fumonisin B₁ and B₂ by *Fusarium moniliforme* isolated from Korean corn kernels for feed. *Mycot Res.* 10: 67-72.
- Unión Nacional de Avicultores. (2003). <http://www.una.com.mx>.
- Usleber, E., Straka, M., Terplan, G. (1994). Enzyme immunoassay for fumonisin B₁ applied to corn-based food. *J. Agric. Food. Chem.* 42: 1392-1396.

- Valdivia, A.G., Martínez, A., Damián, F.J., Quezada, T., Ortiz, R., Martínez, C., Llamas, J., Rodríguez, M.L., Yamamoto, L., Jaramillo, F., Loarca-Piña, M.G., y Reyes, J.L. (2001). Efficacy of N-Acetylcysteine to reduce the effects of aflatoxin B₁ intoxication in broiler chickens. *Poultry Science*, 80: 727-734.
- van Egmond, H. P. (1995). Mycotoxins: regulation, quality assurance and reference materials. *Food Addit. Contam.*, 12: 321-330.
- van Resumberg, S. J. (1985). Recent studies on the etiology of oesophageal cancer. *S. Afr. Cancer Bull.* 29: 22-31.
- Vijoën, J. H., Marasas, W. F. O., Thiel, P. G. (1993). Fungal infection and mycotoxin contamination of commercial maize. En: Taylor, J. R., Randall, P. G., Vijoën, J. H. *Cereal Science and Technology. Impact on a changing Africa*. Eds. CSIR: Pretoria, S. A. pp. 837-853.
- Viquez, O. M., Castell-Perez, M. E., Shelby, R. A. (1996). Occurrence of fumonisin B₁ in maize grown in Costa Rica. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2789-2791.
- Visconti, A. (2001). Fumonisin levels in corn and corn products-global perspectives. En: Scott, P. M. (2001). *Fumonisin Risk Assessment Workshop. Food Addit. Contam.* 18 (3): 190-191.
- Visconti, A., Doko. (1994). Survey of fumonisin production by *Fusarium* isolates from cereals in Europe. *J. AOAC Int.* 77:546-550.
- Visconti, A., Marasas, W. F. O., Miller, J. D y Riley, R. 1999. Tercera conferencia internacional mixta FAO/OMS/PNUMA sobre micotoxinas.
- Voss, K. A., Chamberlain, W. J., Bacon C. W., Tiley, R. T., Norred, W. P. (1995). Subchronic toxicity of fumonisin B₁ to male and female rats. *Food Addit and Contam.* 12: 473-478. En: Sphinganine/Sphingosine ratio in plasma and urine as a possible biomarker for fumonisin exposure in humans in rural areas of Africa. Van der Westhuizen L., Brown, N. L., Marasas W. F. O., Swanevelder S and Shephard, G. S. (1999). *Food and Chem. Toxicol.* 37: 1153-1158.
- Voss, K. A., Plattner, R. D., Bacon, C. W., Norred, W. P. (1989). Comparative studies of hepatotoxicity and fumonisin B₁ and FB₂ content of water and chloroform/methanol extract of *Fusarium moniliforme* strain MCR 826 culture material. *Mycopathol.* 112:81-92.
- Voss, K. A.; Chamberlain, W. J.; Bacon, C. W., Norred, W. P. (1993). A preliminary investigation on renal and hepatic toxicity in rats fed purified fumonisin B₁. *Nat. Tox.* 1: 222-228.

- Wang, E.; Riley, R.T.; Meredith, F.I.; Merrill, A.H. Jr. (1999). Fumonisin B₁ consumption by rats causes reversible, dose-dependent increases in urinary sphinganine and sphingosine. *Journal of Nutrition*. 129: 214 – 220.
- Wang D.S., Liang Y.X., Chau N.T., Dien L.D., Tanaka T., Ueno Y. (1995). Natural co-occurrence of Fusarium toxins and aflatoxin B₁ in corn for feed in North Vietnam. *Nat. Toxins.*, 3:445-449.
- Wang, D.S., Sugiura, Y., Ueno, Y., Buddhanont, P., Suttajit, M. (1993). A limited survey of fumonisins in corn from Thailand. *Thai. J. Toxicol.* 9:42-46.
- Wang, E., Norred, C. W., Bacon, R. T., Riley, R. T., Merrill, A. H. Jr. (1991). Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins: Implications for diseases associated by *Fusarium moniliforme*. *J. Biol. Chem.* 266: 14486-14490.
- Wang, E., Ross, P. F., Wilson, T. M., Riley, R. T., Merrill, A. H. (1992). Increases in serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies given feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Nutr.*, 122:1706-1716.
- Ware, G. M., Umrigar, P. P., Carman Jr., A. S., Kuan, S. S. (1994). Analytical letters, evaluation of fumoni-test immunoaffinity columns. 27: 693-715.
- Weibking, T. S., Ledoux, D. R., Bermudez, A. J., Turk, J. R., Rottinghaw, G. E. (1993). Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisin B₁ on the young broiler chick. *Poultry Sci.*, 72: 456-466.
- Westhuizen, L., Brown, N., Marasas, F., Swanevelder, S., Shepard, G. (1999). Sphinganine/Sphingosine Ratio in Plasma and Urine as a Possible Biomarker for Fumonisin Exposure in Humans in Rural Areas of Africa. *Food Chem Toxicol.* 37: 1153-1158.
- Wilcox, T. (2001). Epidemiological studies regarding human fumonisin exposure. En: Fumonisin risk assessment workshop. (2001). *Food Addit. Contam.* 18: 196-197.
- Wilson, T. M., Ross, P. F., Owens, D. L., Rice, L. G., Jenkins, S. J. Nelson, H. A. (1992). Experimental production of ELEM a study to determine the minimum toxic dose in ponies. *Mycopathology.* 117:115-120.
- Wilson, T. M., Ross, P. F., Rice, L. G., Osweiler, G. D., Nelson, H. A., Owens, D. L., Plattner, R. D., Reggiardo, C., Noom, T. H., Pickrell, J. W. (1990). Fumonisin B₁ levels associated with a epizoot of equine leukoencephalomalacia. *J. Vet. Diag. Invest.* 2:213-216.

- Yan, C. S., (1980). Research on oesophageal cancer in China: a review. *Cancer Res.* 40: 2633-2644.
- Yoo, F. L. (1977). Mechanism of aflatoxin B₁ inhibition of rat hepatic nuclear RNA synthesis. *J Biol Chem.* 252:3245-51.
- Yoo, H. S., Norred, W. P. Wang, E., Merrill, A. H., Riley, R. T. (1992). Fumonsin inhibition of the novo sphingolipids biosynthesis and citotoxicity and correlated in LLC-PK cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114:9-15.
- Yoshizawa T., Yamashita A., (1995) Occurrence of *Fusarium* mycotoxins in Southeast Asia. International Seminar on *Fusarium*: Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity. Martina Franca. Italy. Abstract Book p. 10.
- Yoshizawa, T., Yamashita A., Chokethawrn N. (1996). Occurrence of fumonisins and aflatoxins in corn from Thailand. *Food Addit. Contam.* 13: 163-168.
- Yoshizawa, T., Yamashita A., Luo, Y. (1994). Fumonisin occurrence in corn from high and low risk areas for human oesophageal cancer in China. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1626-1629.



ANEXO 1



**ENCUESTA
"ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A FUMONISINAS"**

NOMBRE: _____ EDAD _____
 SEXO _____ PESO _____ LUGAR DE RESIDENCIA: _____
 TELEFONO: _____ E-MAIL: _____

HABITOS ALIMENTICIOS:

Cuántas comidas realiza por día?

1 vez () 2 veces () 3 veces () más de 3 veces ()

Consumo de productos de maíz:

Tortillas Bajo: < 4 () Medio: 4 - 10 () Alto: > 10 ()

Frituras (doritos, nachos, etc) Si () Cantidad por semana: _____ No ()

Pozole: Si () Cantidad por semana: _____ No ()

Tostadas: Si () Cantidad por semana: _____ No ()

Tamales: Si () Cantidad por semana: _____ No ()

Elotos: Si () Cantidad por semana: _____ No ()

Cereales (Corn Flakes, Corn Pops, etc) Si () Cantidad por semana: _____ No ()

Consumo de Café: Si () Cantidad por semana: _____ No ()

ANTECEDENTES CLINICOS:

Diabetes () Hipertensión () Artritis () Tuberculosis () Osteoporosis ()

Hepatitis () Epilepsia () Otras: _____

Actualmente recibe algún tratamiento médico?

Si () Cual: _____ No ()

Fuma: Si () < 5 (), 5-10 () o > 10 () No ()

Consumo bebidas alcohólicas: Si () No ()

Diario () Semanal () Ocasional ()

< 3 copas () > 3 copas ()

Estaría dispuesto a proporcionar 1 muestra de orina para la investigación:

Si () No ()

Fecha: _____