

MICOTOXINAS: DIAGNOSTICO Y PREVENCION EN AVES DE CORRAL

(*Mycotoxins: Diagnosis and prevention in poultry*)

Dante J. Bueno¹, Mario Salvano², Julio O. Silva³,
Silvia N. González^{1,3} y Guillermo Oliver^{1*}

¹ Centro de Referencia para Lactobacilos (Cerela)-CONICET,
Chacabuco 145 (4000) Tucumán, Argentina

² Departamento de Biología Molecular, Fac. de Cs. Exactas, Fco-Qcas. y Naturales,
Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nacional 36- Km 601 (5800), Córdoba, Argentina

³ Departamento de Microbiología, Fac. Bioquímica, Química y Farmacia,
Universidad Nacional de Tucumán, Ayacucho 491 (4000), Tucumán, Argentina

Palabras claves: micotoxinas, aves, diagnóstico, prevención.

Key word: mycotoxins, poultry, diagnosis, prevention.

RESUMEN

La micotoxicosis es una intoxicación que puede afectar al hombre y los animales y proviene del consumo, inhalación o contacto de alimentos contaminados por micotoxinas. Estas son metabolitos tóxicos producidos por hongos principalmente de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y, en menor grado, *Alternaria* entre otros. Su presencia en granos y alimentos balanceados, tiene un alto impacto en la salud humana-animal y disminuye la calidad y precio de los mismos. Las más importantes para las aves son: aflatoxinas, ocratoxinas, zearalenona, toxina T-2, vomitoxina, citrinina y fumonisinas. Los efectos que producen en los animales pueden ser agudos (hepatitis, nefritis, hemorragias, necrosis del epitelio oral y entérico y muerte), crónicos (reducción en la producción) o la aparición de patologías asociadas a la disminución en la resistencia inmunológica. El inicio del problema puede relacionarse con una partida nueva de alimento, un cambio de proveedor o el uso de materias primas de baja calidad. La forma más adecuada de evitar las intoxicaciones es impedir la ingesta de alimentos contaminados por micotoxinas.

Las medidas de prevención para minimizar este problema en los alimentos pueden realizarse antes (pre cosecha), durante (cosecha) o después de la cosecha (post cosecha). El uso de adsorbentes o secuestrantes y/o levadura de cerveza en el alimento para aves, es una interesante propuesta para detoxificar los piensos contaminados. La utilización de especias, productos de ginseng, cafeína, alfalfa, colestiramina, bacterias y hongos para combatir esta intoxicación todavía deben

ser más estudiadas para su aplicación en aves. La mayoría de los países sólo cuentan con regulaciones principalmente para la presencia de aflatoxinas en los alimentos de uso animal y humano. Se espera que en un futuro próximo la legislación se extienda a las otras micotoxinas.

SUMMARY

The mycotoxicoses, which comes from the consumption, inhalation or contact of foods contaminated by mycotoxins, is an intoxication that can affect men and animals. They are toxic metabolites of fungi, mainly produced by *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and, in smaller degree, *Alternaria*, and others. These toxins, which are present in grains and balanced foods, decrease the quality and price of them and they have a high impact in animal and human health. The most important for the poultry are aflatoxins, ochratoxins, zearalenone, T-2 toxin, vomitoxin, and also citrinine and fumonisins. The effects that exert on animals can be acute effects (hepatitis, nephritis, hemorrhages, necrosis of the oral and enteric epithelium and death), chronic effects (reduction in the production) or the appearance of pathologies associated with the decrease in the immunologic resistance. The beginning of the problem can correspond to a new supply of food, a change of providers or with the use of raw materials of low quality. The most appropriate form of avoiding the intoxication is to avoid the intake of contaminated foods with mycotoxins. Prevention measures to minimize this problem in food can take place before harvest (preharvest), during (harvest) or after

harvest (postharvest). The use of adsorbents or sequestrants and/or malt yeast in the food of poultry appears to be an interesting tool to deintoxicate the contaminated matter. The use of spices, ginseng based products, caffeine, alfalfa, colestiramine, bacteria and fungi to attack this intoxication has to be further studied before they are applied on poultry. Most countries have regulations only designed for the presence of aflatoxins for men and animals foods. It is expected that rules can involve the other mycotoxins as well in a near future.

Contenido

Introducción

Micotoxinas de importancia en la avicultura

Impacto sobre la salud aviar

Diagnóstico: Métodos diagnósticos

Prevención y Control

Inhibidores de hongos

Detoxificación de alimentos contaminados por micotoxinas

Métodos de detoxificación

Uso de adsorbentes y otras sustancias

Regulaciones en los alimentos

Conclusiones

Referencias

INTRODUCCION

Los costos de alimentación representan el 70% de los gastos totales del productor avícola, por lo cual se hace necesario considerar la calidad de las materias primas para asegurar que todo aumento en la producción sea beneficiosa tanto para las economías nacionales como para el consumidor.

La micotoxicosis se define como la intoxicación del hombre y los animales causada por: el consumo, inhalación o contacto de alimentos contaminados con micotoxinas (10, 88, 92, 98, 120). Estas últimas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por hongos, cuyos principales géneros son: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y, en menor grado, *Alternaria* entre otros. Se presentan en una amplia variedad de sustratos como granos (maíz, cebada, trigo, sorgo, arroz, avena, etc.), maní, alimentos balanceados y frutas, pudiendo ser liberadas al medio o permanecer dentro de la estructura fúngica (7, 81, 88, 91, 92, 101).

La contaminación del alimento con micotoxinas así como las micotoxicosis en aves domésticas representan una situación compleja. La producción avícola se ve afectada severamente por un problema que tiene relevancia para la industria productora de granos, para las empresas encargadas de su almacenamiento y distribución y, sobre todo, para la industria de fabricación de alimentos

balanceados. Sin embargo, en el área de la agricultura, casi todas las micotoxinas son usadas como insecticidas (88). También, desde hace tiempo se conocen sus efectos antimicrobianos (5).

Al estudiar la acción de los alimentos contaminados por hongos toxicogénicos sobre el crecimiento de las aves de corral, sus metabolitos fúngicos pueden producirles estimulación, indiferencia, depresión o muerte (63).

Los hongos, como fuente de contaminación alimentaria, se registraron ya 5000 años AC en las intoxicaciones producidas por los alcaloides del cornezuelo del centeno, aunque lógicamente por ese entonces no se identificó la sustancia tóxica. En 1960, en Inglaterra se asoció por primera vez la presencia de micotoxinas en alimentos con una patología; en este caso el maní contaminado con aflatoxinas usado en la alimentación de pavos causó una severa epidemia que mató a 100.000 animales (84). La envergadura económica de lo sucedido, junto a la importancia del pavo en la comida tradicional de los feriados para los ingleses, motivó los primeros trabajos de investigación sobre micotoxinas.

Los hongos productores de toxinas se hallan ampliamente distribuidos en la naturaleza y pueden crecer en cereales y oleaginosas cultivadas, en granos y alimentos almacenados (44), empobreciendo las materias primas y reduciendo el precio de los mismos en los mercados. Para la industria de alimentación animal, este hecho es el primero y más importante efecto del crecimiento fúngico (81, 88, 101).

Las distintas especies de hongos, tienen necesidades diferentes en cuanto a temperatura (18-30°C), humedad (14-30% en el pienso, 75% o más en el ambiente) y requerimientos nutricionales (presencia de vitaminas y oligoelementos) (62, 122). Aunque el contenido de humedad de un pienso esté inicialmente entre los límites críticos, el alimento puede enmohecerse en un silo expuesto directamente a la luz solar, pues la humedad tiende a migrar hacia el lado de la sombra del silo, formando zonas aisladas más húmedas que proporcionan a los mohos condiciones favorables de crecimiento (117, 122).

Las esporas fúngicas son relativamente susceptibles al calor, de manera que la peletización de los alimentos avícolas tiende a reducirlas drásticamente, aunque no las eliminará, ya que puede ocurrir rápidamente una recontaminación posterior (63, 82, 117). Por ello, se considera que el proceso de peletización sólo juega un papel secundario en el control de los hongos (96).

Debido a diferentes requerimientos para la producción de micotoxinas, su aparición varía de acuerdo con la zona o región y época del año (101). Los países tropicales, por sus condiciones climáticas y su situación económica, están predestinados a sufrir daños por hongos.

gos productores de micotoxinas (91).

Si bien la evidencia de crecimiento fúngico no indica necesariamente presencia de micotoxinas (47, 88), la existencia de determinados hongos en los cultivos implica un riesgo potencial de aparición de las mismas (1, 81). Se considera que la presencia de una micotoxina aumenta la probabilidad de que haya otras, debido a que las condiciones que favorecen el desarrollo fúngico generalmente no predisponen sólo la presencia de un determinado tipo de hongo (91, 104, 122). A la vez, una especie de hongo puede producir diferentes tipos de micotoxinas, lo que agrava aun más el problema y en general, se observa un efecto sinérgico entre las toxinas. Por otro lado, dentro de un taxon productor de toxina, hay cepas que no la producen o sólo lo hacen en cantidades poco detectables (88, 91, 104).

MICOTOXINAS DE IMPORTANCIA EN AVICULTURA

Hasta el momento se conocen más de 500 micotoxinas, a las cuales se ha intentado clasificar de diferentes formas, ya sea por sus efectos biológicos, por los hongos que la producen o por su estructura química (81). El nombre de la mayoría de las micotoxinas está basado en los de los hongos productores; en algunos casos es el nombre químico, o puede estar relacionado con las manifestaciones clínicas propias de la toxina (27).

Las micotoxinas más importantes en las aves incluyen las aflatoxinas (AFs), ocratoxinas (Os), zearalenona (ZEA), citrinina, fumonisinas (Fs) y los tricotecenos toxi-

na T-2 y vomitoxina (DON) (27, 110) (Tabla 1). La producción de micotoxinas está intimamente relacionada con los climas húmedos, sin embargo, las AFs son características de regiones cálidas, la ZEA de zonas frías y los tricotecenos prevalecen en las templadas (99). Los pavos aparentan ser más susceptibles a ocratoxina A y AFs que los pollos (103, 106). A la vez, los pollos son extremadamente resistentes a los efectos de la ZEA (103). Por otro lado, la estabilidad térmica de las AFs, a diferencia de la citrinina, lleva a que el calentamiento de los productos disminuya la contaminación de la segunda, pero no de las primeras. La solubilidad de DON es mayor que la de AFs y Os, por lo que el lavado reduce sólo la contaminación de la primera (81). En general, el órgano blanco de las micotoxinas ingeridas por vía oral es hígado o riñón (110).

La formación de micotoxinas tiene su origen en las áreas de producción de granos, antes de la cosecha, durante el almacenamiento y después de la molienda del grano (13, 81, 101, 116, 122). Esto último, debido a que los gránulos de almidón ya no están protegidos por la cutícula externa que recubre al grano intacto, quedan expuestos al medio ambiente (116).

Los trabajos referidos a contaminación fúngica en alimentos de aves muestran que los destinados a pollos parrilleros, son los que presentan mayor porcentaje de contaminación, lo cual es consecuencia de la mayor proporción de granos en este tipo de raciones (102). Por otro lado, la identificación del nivel de especies contaminantes, provee información importante acerca de la biología y bioquímica de ellas incluyendo la producción de sus toxinas (28).

Tabla 1: Micotoxinas comúnmente encontradas en alimento para aves*

*Wyatt, R., 1984, modificado

MICOTOXINAS	HONGOS	TEJIDOS u ORGANOS BLANCO
Aflatoxinas (AFs) -B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ -	<i>Aspergillus (A. parasiticus, A. flavus, A. nomius), Penicillium sp</i>	Hígado
Ocratoxinas (Os)	<i>Aspergillus (ochraceus, carbonarius), Penicillium (P. viridicatum, P. cyclopium, P. palitans, P. verrucosum)</i>	Riñón
Zearalenona (ZEA)	<i>Fusarium (F. graminearum, F. tricinctum, F. culmorum, F. equiseti, etc.)</i>	Aparato reproductor
Toxina T-2	<i>Fusarium (F. tricinctum, F. roseum)</i>	Epitelios
Vomitoxina (DON)	<i>Fusarium (F. graminearum, F. culmorum)</i>	Aparato digestivo
Citrinina	<i>Penicillium (P. citrinum, P. viridicatum, P. expansum, P. spinulosum), Aspergillus</i>	Riñón, Hígado
Fumonisin (Fs) -A ₁ , A ₂ , B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₄ , C ₁ , C ₂ -	<i>Fusarium (F. moniliforme, F. proliferatum, F. nygamai)</i>	Riñón, Hígado

IMPACTO SOBRE LA SALUD AVIAR

La relevancia que puede llegar a tener la presencia de metabolitos fúngicos en los alimentos está relacionada con la toxicidad de los mismos, con la posibilidad de que ellos se acumulen en tejidos con efectos nocivos a largo plazo como oncogénesis y/o mutagénesis, con la importancia económica de los alimentos contaminados y con su proporción en la dieta de los hombres y animales (92).

Los animales intoxicados que sobreviven conservan en sus músculos, vísceras o subproductos, residuos tóxicos que son ingeridos por el hombre. Dichos productos se encuentran en diferentes concentraciones, siendo bajo el porcentaje, cuando se ingiere AFs (65, 90), aunque otros estudios destacan una fuerte correlación entre la presencia de AFs en alimento y en hígado, músculos o huevos (70, 74).

Debido a su hábito alimenticio, que incluye gran consumo de granos, los cerdos y las aves, son las especies domésticas afectadas con mayor frecuencia por intoxicaciones de origen fúngico (101). Además, los alimentos para ganado están relativamente libres de hongos en comparación a los alimentos para aves, debido al menor contenido de energía, a la presencia de melaza que luego de un adecuado secado muestra moderadas propiedades fungistáticas y a los elevados niveles de sal, que determinan una reducción del desarrollo de los hongos (106). De esta manera, los animales monogástricos son generalmente más susceptibles a la intoxicación micótica que los rumiantes (122).

Los síntomas y el curso de la intoxicación por micotoxinas dependen de la susceptibilidad del animal o planta, de la vía de entrada al organismo, de la edad y anatomía particular del animal invadido y la cantidad de alimento contaminado ingerido (58, 122).

El rango de daños abarca desde manifestaciones subclínicas, como la inmunosupresión, hasta la muerte de los animales (81). Las manifestaciones clínicas pueden presentar tres formas diferentes:

a) Intoxicación aguda por consumo de grandes cantidades de micotoxinas; pudiendo conducir a hepatitis, nefritis, hemorragias, necrosis del epitelio oral y entérico y muerte. El daño de los órganos afectados dependerán de las toxinas involucradas (101).

b) Intoxicación crónica debido a la exposición de niveles bajos de micotoxinas. Causa pérdidas de producción por disminución de crecimiento, de eficiencia reproductiva y de calidad del producto final; transcurriendo sin episodios agudos de enfermedad (93, 101). Está relacionada también con la posibilidad de causar mutagénesis u oncogénesis (10).

c) Enfermedades secundarias a micotoxicosis, con

aparición de patologías asociadas a la disminución en la resistencia inmunológica de los animales por consumo de niveles bajos de micotoxinas (ej. tifus, cólera, colibacilosis, coriza, enfermedad respiratoria crónica, hepatitis A, cueros de inclusión, gumboro, Marek, neumonía de la nacedoras, leucosis y coccidiosis) (10, 93, 101). La presencia de síndrome ascítico por micotoxicosis es poco claro en las aves (93, 113), pese a que éste no se discute en roedores (113).

DIAGNOSTICO

En general, el inicio del problema de micotoxicosis, coincide con una partida nueva de alimento con un cambio de proveedor o con el uso de materias primas de baja calidad (110).

El diagnóstico presuntivo de micotoxicosis considera: 1) la falta de causa aparente de enfermedad, 2) la ausencia de contagio de la enfermedad, 3) la asociación a determinado alimento, 4) la resistencia a tratamientos, 5) la periodicidad de los brotes estacionales, 6) el aspecto mohoso del alimento (101).

El diagnóstico definitivo se basa en el hallazgo de micotoxinas en el alimento, contenido estomacal o sus residuos y metabolitos en tejidos, sangre y orina (101).

Métodos de diagnóstico

En el diagnóstico es importante el aislamiento, identificación y cuantificación de las micotoxinas. Hay varios métodos para la detección de micotoxinas en los alimentos animales. Cabe aclarar que el número de metodologías confiables de detección y cuantificación disponibles en la actualidad es escaso respecto a la variedad de micotoxinas descritas (95, 117). Además, los resultados de laboratorio son variables, dependiendo en gran medida de la toma de muestra (7, 95), pues la distribución de las micotoxinas en el alimento no es uniforme (120). Por ello, es aconsejable tomar varias muestras de diferentes sitios y analizar cada muestra por separado (96, 120). Entre los métodos de detección de micotoxinas se destacan:

1) **Métodos clásicos físicoquímicos:** cromatografía en capa delgada (TLC), cromatografía de gases (GC/MS y GLC), cromatografía líquida a alta presión (HPLC) y cromatografía planar instrumental (HPTLC). Las limitaciones de estos métodos se centran en requerir muestras altamente purificadas, en necesitar instrumentación y procedimientos largos y costosos, y además, en utilizar a veces productos químicos peligrosos. También requieren personal de laboratorio adiestrado (120). El HPLC es mejor comparado con el TLC, tanto para la detección como para la cuantificación de micotoxinas (109), pero esta última es una técnica más económica. Recientemente, ha sido pre-

sentada una técnica, cualitativa o semicuantitativa, rápida para el análisis de AFs en granos, llamada AFLACROM, cuyo principio es un tipo de cromatografía directa (21).

2) **Métodos basados en la emisión de fluorescencia:** Las AFB₁, AFB₂ y ocratoxina A emiten fluorescencia azul al incidir sobre ellas luz UV, verde para el caso de AFG₁ y AFG₂ y azul verdosa para ZEA (62). Su uso es útil como una prueba preliminar, pero tiene muchas limitaciones, debido a la frecuencia de falsos positivos y negativos. Sólo puede ser usada para evaluar maíz partido, no es apropiada para granos enteros de ningún tipo. Además, debe usarse luz UV de onda larga, la de onda corta no es adecuada y únicamente identifica cualitativamente la contaminación por AFs (27, 84, 120).

3) **Técnicas de inmunoensayo:** utilizan anticuerpos específicos para cada tipo de micotoxina. Pueden detectar la mayoría de las micotoxinas en muestras complejas con una mínima purificación de las mismas. Existen dos técnicas básicas de inmunoensayo utilizadas:

3.a.- **Enzimoimmunoanálisis (ELISA):** se adapta muy bien al análisis en serie cuali-cuantitativo de gran número de muestras y permite incluir controles positivos durante el procedimiento, a diferencia de la Columna de Inmuno Afinidad (IAC) (12). La mayoría de los kits de ELISA comercialmente disponibles son de competición directa, aunque existen algunos de competición indirecta. La presentación en tarjeta hace que este método pueda ser utilizado por los veterinarios de campo, ya que se transporta con facilidad (114).

3.b.- **Columna de Inmuno Afinidad (IAC, cromatografía de afinidad monoclonal):** no se adapta muy bien para análisis en serie de muestras. No se pueden usar controles positivos dentro del ensayo de una misma muestra y se procesa, generalmente, sin incluir ningún tipo de control (12). Aventura a las anteriores en rapidez, sencillez y menor requerimiento de sustancias tóxicas, utilizando el mismo extracto para todas las determinaciones. Su limitante es el precio y está disponible comercialmente para la detección de AFs, ocratoxina A, ZEA, DON y Fs (78).

4) **Espectrofotometría:** tiene la ventaja de ser un método que consume menos tiempo que el HPLC (60).

5) **Reacción de la Polimerasa en cadena (PCR):** sirve para detectar *A. flavus* y *A. parasiticus* en granos. Se usan iniciadores (primers) basados en los códigos de regiones de vre-1, omt-1 (omt A) y apa-2 (afl R), que codifican para la síntesis de AFs (98).

6) **Pruebas biológicas** (especialmente para las AFs): muy poco usadas en la actualidad. Entre estas se destacan: el test de toxicidad en patitos de un día de edad (27, 68, 122), inhibición del crecimiento de *Corcyra ceohalonica*, test de toxicidad en embrión de pollo (122) y test de toxicidad en ratones (68).

PREVENCIÓN Y CONTROL

En general, se aconseja que los animales afectados por la micotoxicosis sean alimentados con dietas de buena calidad, con alto contenido protéico y energético y suplementadas con vitaminas. La administración de vitaminas en el agua permite una mejoría más rápida y un consumo más eficiente en relación con la administración en el alimento. En el caso de presentarse enfermedades infecciosas asociadas, se debe implementar el tratamiento con un antibiótico apropiado a niveles terapéuticos y no para promover el crecimiento. Esto último se debe a que las AFs tienden a acelerar la eliminación de ciertos antibióticos del sistema circulatorio (101, 108, 119).

Sin lugar a dudas, la forma más adecuada de evitar las intoxicaciones es ingerir alimentos libres de micotoxinas (81, 122). Hay que considerar que los hongos antes mencionados forman parte de la microbiota natural del aire y del suelo, por lo que resultan imposibles de eliminar (16, 88).

La realización de muestreos preventivos de micotoxinas en granos, antes de usarlos para la alimentación animal, puede ser útil para evitar las pérdidas en producción (7, 83, 118, 119). La segregación de los cereales analizados según el nivel de sus micotoxinas y/o sus hongos productores, es una interesante estrategia para darle destino al cereal contaminado. La dilución de cereales es una práctica a la que se debe acudir sólo en casos extremos, pero esta dilución se realizará en la planta de elaboración de alimentos, nunca en la planta de acopio, ya que si se mezcla un cereal con alta carga de hongos con otro de baja carga se termina bajando la calidad de este último (7). El éxito de este método depende del grado inicial de contaminación, de la dilución alcanzada y de la disponibilidad de una fuente de grano no contaminado (53, 103).

Las medidas de prevención se dividen teniendo en cuenta el período en que se realizan: antes, durante o después de la cosecha. El mayor esfuerzo en las fábricas de alimentos balanceados debe orientarse a la adquisición de granos de buena calidad y una vez adquiridos, el objetivo principal será el mantenimiento de esa calidad durante el almacenamiento y procesamiento hasta la distribución del producto. Si el grano obtenido fuera de baja calidad, el objetivo se centrará en minimizar los riesgos y daños a la industria animal (96).

Durante la precosecha se pueden utilizar variedades resistentes contra los hongos productores de micotoxinas y adquirir materias prima de proveedores que garantizan que sus granos tienen una baja contaminación (27, 91, 117). La utilización de métodos más modernos incluyen: reemplazar cepas toxigénicas por cepas no toxigénicas mediante biocompetitividad, incorporar genes específicos

antifúngicos en un determinado tejido vegetal e inhibir el proceso de biosíntesis de toxinas, estos últimos por ingeniería genética (88).

Durante la cosecha, es importante llevar a cabo la recolección en tiempo tan seco como sea posible y evitar los daños de origen mecánico (62, 91).

Durante la postcosecha, se deben eliminar los residuos y emplear productos fitosanitarios para el control de los hongos perjudiciales, insectos y parásitos (91). También tiene importancia el secado rápido de la cosecha, hasta una humedad relativa del grano menor o igual a 14% y de oleaginosas menor o igual a 7,5%, el establecimiento de un almacén seco y bien ventilado y las condiciones de transporte (7, 68, 91, 96, 99, 106). Además, se recomienda almacenar el alimento durante 10 días como límite máximo. El uso de adsorbentes específicos de humedad (no necesariamente de micotoxinas), como aditivos anticompactantes, puede solucionar el problema de almacenamiento en regiones húmedas. El producto al adsorber en su superficie el agua, impide el crecimiento de hongos y protege al grano almacenado (95, 96).

Para un manejo adecuado de los silos que se utilizan para almacenar el alimento, se aconseja (116):

- a) Inspeccionar las instalaciones de almacenamiento para asegurar la integridad de su estructura.
- b) Inspeccionar las uniones de la estructura de metal para asegurar su buen sellado, de manera tal que no pueda penetrar el agua.
- c) Inspeccionar el exterior del silo en busca de corrosión.
- d) Revisar el interior del silo cada vez que éste se carga de alimento.
- e) La estructura del embudo y la compuerta que se localizan en el fondo del silo deben ser desarmadas y limpiadas periódicamente.
- f) Desinfectar el interior del silo antes de su llenado. Esto se debe practicar varios días o tal vez una semana antes de recibir el alimento para que el silo esté perfectamente seco.
- g) Instalar dos silos por cada galpón, con la finalidad de limpiar uno mientras se alimenta a las aves con el contenido del otro.
- h) El alimento no debe ser almacenado en un silo durante más de 7-10 días.

Inhibidores de hongos

Los inhibidores de hongos afectan más la esporulación que el crecimiento micelial y no eliminan las micotoxinas ya existentes en el grano o alimento (7, 88, 111). Los más conocidos y usados son propionato de sodio, calcio o amonio, ácido sórbico, ácido ascórbico y el colorante violeta de genciana puesto que no se alteran durante el proceso de granulado (111). Cabe recordar que

estos inhibidores son fungistáticos y no fungicidas (9). El propionato de amonio tiene una doble acción antifúngica, ya que se disocia en contacto con la humedad de los granos en amoníaco y ácido propiónico dando una segura y prolongada acción pese a que el ácido propiónico puede sufrir pérdida por volatilidad (7). Además se ha demostrado que el violeta de genciana tiene efecto beneficioso adicional sobre el animal ya que además posee acción antihelmíntica y antibacteriana (111). Por otro lado, los derivados del ácido benzoico (ej. metilbenzoato, etil benzoato y o-hidroxibenzoato) podrían ser usados como fungicidas y antiaflatoxinas porque inhiben actividades enzimáticas del hongo (26).

Es preferible adicionar el inhibidor de hongos directamente al grano y no al producto terminado, debido a que los hongos productores de micotoxinas crecen mejor en granos de cereales y pueden sintetizar toxinas durante su almacenamiento. Además, en el alimento terminado, el desarrollo de hongos y la formación de micotoxinas están asociados a la fracción hidrocarbonada y en menor grado a los otros ingredientes (115). La concentración de inhibidor a adicionar depende de diversos factores, entre ellos, características del producto, condiciones de almacenamiento y contenido de humedad (27, 91). Cuanto mayor sea la biodisponibilidad de agua, mayores niveles de inhibidor se necesitarán para minimizar a los hongos y sus toxinas (94).

Los inhibidores fúngicos pueden perder su actividad con el uso continuo, pues aquellos hongos que son totalmente destruidos por la acción del inhibidor tienden a mutar originándose cepas resistentes. Así, para conseguir el mismo grado de control inicial, es necesario aumentar la cantidad de inhibidor usado cada año. Esto podría afectar la calidad nutricional de los alimentos que aminoácidos, vitaminas, enzimas y probióticos son muy susceptibles a los inhibidores de hongos (99).

Resulta más difícil proteger a las raciones para aves, especialmente por el alto contenido de maíz, granos que en presencia de humedad facilita el desarrollo fúngico. La ventaja es que estos alimentos son consumidos a los pocos días de su elaboración (106).

Detoxificación de alimentos contaminados con micotoxinas

Para que pueda ser usado un alimento contaminado con micotoxinas, sólo hay dos opciones: remoción o degradación de la toxina.

- Remoción de la toxina: es factible cuando la micotoxina está presente en porciones identificadas en el alimento que pueden ser removidas o cuando solventes como mezclas de ellos (etanol al 95%, acetona al 90%, isopropanol al 90%, etanol-hexano, metanol-hexano, etc.) pueden ser usados para extraer las toxinas, sin dejar residuos indeseados y sin alterar marcadamente la composición

alimento (27).

-Degradación de la toxina en compuestos menos o no tóxicos. La eficiencia del proceso depende de la micotoxina que se trate y/o del método utilizado.

Métodos de detoxificación

1).- Métodos físicos: de escaso uso en la producción avícola, ya que se basa en la esterilización de la materia prima. Su eficiencia depende del grado de contaminación y de la distribución de las micotoxinas en el grano, por lo que su aplicación práctica es limitada (53).

a) Calor: usando calor húmedo en autoclave, a vapor u horno (4, 122).

b) Radiaciones ionizantes: la irradiación de cultivos con una dosis de 1500 Gy (Gy=Gray, unidad de dosis absorbida medida en joule/kg de absorbente) disminuye el contenido de toxinas. La irradiación no tiene efecto directo sobre la capacidad productora de toxinas de *Aspergillus parasiticus*, tan solo disminuye el número de esporas viables y con ellos, la cantidad de AF producida (76).

c) Calor y radiaciones ionizantes: la combinación de ambas metodologías da mejores resultados que la técnicas aisladas (76).

d) Radiaciones UV de onda corta y larga: empleando radiaciones UV durante 2-3 minutos (122). Tiene poco poder de penetración y, por lo tanto, el grano debe ser agitado durante el tratamiento para que toda la superficie sea expuesta a la radiación.

2).- Métodos químicos: más usados que los anteriores. Pueden llevar a la pérdida de la calidad nutricional de los alimentos tratados. Se deben considerar tiempo, temperatura y humedad, además requiere un tratamiento de limpieza previo para facilitar las reacciones. Consume mucho tiempo y es caro (53).

a) Clorinación: hipoclorito de sodio, cloro gaseoso (89, 100).

b) Oxidación: ozono, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 3%, bisulfito de sodio, peroxidisulfato de amonio (45, 88, 89, 100, 122). El H_2O_2 tiene un débil efecto sobre las AFs agregadas al grano, a pesar de su fuerte acción sobre estas toxinas puras. Esto se debería a la actividad catalasa de la microbiota del grano y/o al efecto protector de los componentes del pienso sobre las AFs (98).

c) Agentes hidrolíticos. Ácidos: ácido sulfúrico (2%) y clorhídrico (100, 122). Alkalís: hidróxido de sodio o potasio (1%) y amoníaco (NH_3) (27, 54, 112, 122). Respecto a este último, se deja en reposo sobre el grano por un tiempo relativamente corto para después airearlo con el fin de remover los residuos de NH_3 . La disminución drástica del contenido de AF se debe a la formación de un nuevo compuesto llamado aflatoxina D (AFD), menos tóxi-

co que la AFB para la mayoría de los animales domésticos, incluyendo las aves. Estas últimas, a diferencia del cerdo, parecen tolerar pequeñas cantidades de NH_3 en las dietas. A pesar de informarse la buena efectividad del proceso, su uso aún no ha recibido aprobación oficial (112). La adición de NH_3 a la dieta bajo la forma de fosfato de monoammonio, no tiene efecto antiaflatoxina como el gas NH_3 (108). Una concentración final de NH_3 menor o igual a 0,5% en materia seca tiende a reducir el consumo de alimentos y la ganancia de peso, pero no causa un efecto adverso sobre la tasa de mortalidad, producción y calidad de los huevos, parámetros reproductivos y económicos (54).

3).- Métodos biológicos.

Probióticos: se definen como alimentos conteniendo microorganismos vivos que afectan beneficiosamente al animal mejorando el balance microbiano intestinal (39).

La microbiota protectora que se establece en el intestino es muy estable, pero puede estar influenciada por algunos factores dietarios y ambientales, siendo los tres más importantes; la excesiva higiene, la terapia con antibiótico y el estrés. En el estado juvenil el animal desarrolla su microbiota intestinal principalmente a partir de su madre por ruta directa o indirecta. Sin embargo, los métodos modernos de crianza animal suelen restringir el acceso de los hijos a sus madres y previenen la adquisición completa de las características microbianas. En el pollo de criadero, el huevo es sacado de la gallina y llevado a una incubadora limpia. De esta manera, no hay un contacto directo y el pollito adquiere su microbiota del ambiente de la incubadora (39).

Bacterias: se conocen desde hace varios años el uso de cepas probióticas en polvo soluble. Se administra por vía oral y contiene diferentes especies bacterianas específicas para aves, cuyo objetivo es el control adecuado de las bacterias enteropatógenas a través de la exclusión competitiva (*E. coli*, *Salmonella*, etc). También se ha informado la acción de *Streptococcus faecium* como promotor de postura (85). La posibilidad de que las bacterias lácticas u otras inhiban el crecimiento de hongos y/o la producción de micotoxinas ha sido estudiada extensamente, pero hasta el momento no existe ningún producto comercial con ese uso. Algunas bacterias han demostrado inhibir el crecimiento de hongos capaces de producir micotoxinas, reducir la producción y/o lograr metabolizar estos productos. Esto respondería a un crecimiento competitivo de la bacteria con el hongo, a metabolitos bacterianos inhibidores o a la combinación de esos factores (34). Entre las bacterias que inhiben el crecimiento de hongos productores de toxinas, se destacan cepas de *Lactococcus lactis* (87), *Bacillus pumilus* (75), *Leuconostoc mesenteroides* (97), *Lactobacillus casei* (33), *L.*

rhamnosus (18), *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. salivarius* y *L. plantarum* (17, 57), *Streptococcus thermophilus* (8), *Streptomyces halstedii*, *S. coelicor* (37), *Bacillus subtilis* (98).

La actividad antiaflatoxina ha sido descrita en cepas de *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, *B. pumilus*) (75, 98), *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*) (46, 48, 50, 56), *Lactococcus* (*L. lactis*) (9), *Flavobacterium aurantiacum* (23, 61) y *Bifidobacterium bifidum* (121). *F. aurantiacum* (NRRL B-184), demostró degradar AFB₁ a un producto soluble en agua (61). Además, esa bacteria administrada a patitos de 1 día de edad, que recibieron AFs, resultó eficaz en la detoxificación sin formar un producto tóxico (23). *Bacillus pumilus* también demostró inhibir la producción de ocratoxina A (75). Una cepa de *Eubacterium* sp. logró transformar el grupo epóxido de los tricotecenos, responsable de la actividad tóxica, a un dieno (11). Por otro lado, *Acinetobacter calaceticus* y *Butyrivibrio fibrisolvens*, parecen metabolizar ocratoxina A y toxina T-2, respectivamente (98, 107). A la vez, el fluido ruminal parece ser efectivo en la degradación de ocratoxina A, ZEA y toxina T-2 (57). Por su parte, cepas de *Streptomyces griseus* degradan ZEA a α zearalenol en un 40% y *S. rutgersenseus* hace lo propio con esa toxina llevándola a α -zearalenol (25%) y β -zearalenol (25%), ambos compuestos igualmente tóxicos (35). También se ha informado que un cultivo mixto de bacterias aisladas del suelo removió ZEA, al usarla como fuente de carbono (69).

Hongos. La levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*): además de su uso como promotor de crecimiento (71), ha demostrado revertir los efectos de las AFs en aves, a niveles de inclusión (0,1%) más bajos que de los adsorbentes. El posible mecanismo de acción sería la suplementación por parte de la levadura de enzimas que incrementan el uso del alimento o la quelación de la toxina, eliminándola del tracto gastrointestinal (30). Además, *S. cerevisiae* fue capaz de reducir los niveles de ocratoxina A, FB₁ y FB₂ (98). También, los manano-oligosacáridos, derivados de su pared celular, mostraron alto grado de antigenicidad, principalmente debido a sus componentes mananos y glucanos, al parecer de mejor acción secuestrante que las zeolitas y bentonitas (7). Un producto comercial, a niveles de inclusión de 0,125 a 0,05%, mostró ser eficaz en la unión con ZEA y AF (30).

Otros hongos tales como: *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus niger* y *Neurospora sitophila*, juegan un papel interesante en la desaparición de AF. Aparentemente no existen estudios en aves. *Rhizopus* spp. y *A. flavus* (no toxigénico), son capaces de degradar AFs y reducir su inherente toxicidad y potencial de mutagenicidad (98). *Rhizopus* transforma ZEA en un compuesto llamado 4- β D

glicopiranosido de ZEA (55). Por su lado, *A. niger* *in vitro*, transforma AFB₁ en aflatoxicol I, el cual luego pasa a aflatoxicol II (52, 64). Este no es un camino efectivo de detoxificación puesto que aflatoxicol tiene la misma potencia carcinogénica que AFB₁ y posee un 70% de la actividad mutagénica de la toxina original (64). Por otro lado, especies de *Trichoderma* spp. (*T. harzianum* y *T. viride*), demostraron capacidad para inhibir el crecimiento de *A. flavus* y *F. moniliforme* (20). Por su parte, *Candida tropicalis*, *Torulaspora delbruckii*, *Zygosaccharomyces rouxii* demostraron reducir ZEA a α y β zearalenol (98).

Uso de adsorbentes y otras sustancias

a) Adsorbentes o secuestrantes:

Los adsorbentes sirven tanto para la prevención como para el control de la micotoxicosis en las aves (118). Pueden ser empleados a gran escala y son específicos para la AF. Eventualmente, ocurre una acción secuestrante por parte de esos productos para otras toxinas (Toxina T-2 y DON) (31, 58). Algunos estudios mostraron la posibilidad de adsorción de minerales y otros nutrientes junto a las micotoxinas (29, 58), pero en general se asume que no existe unión significativa con otros componentes de la dieta (3, 118). Sin lugar a duda, el tamaño molecular y las propiedades fisicoquímicas de las micotoxinas afectan la eficiencia de adsorción (41). Para el caso de micotoxinas menos polares (tricotecenos, ZEA), donde los adsorbentes no serían muy efectivos, se suele agregar enzimas secretadas por la microbiota ruminal capaces de romper grupos funcionales importantes de la toxina, originando compuestos no tóxicos (53). Por otro lado, los organoaluminosilicatos, aluminosilicato con una molécula orgánica que recubre su superficie, se presentan como una nueva clase de adsorbentes que presentan muy buenas propiedades de adsorción de ZEA, ocratoxina A, FB₁ y, en menor grado, de AFs y tricotecenos (59).

El material adsorbente se une irreversiblemente a la toxina y el complejo micotoxina-adsorbente como tal es eliminado por las heces (2, 118). Generalmente, los adsorbentes no son fuentes de nutrientes y tampoco dejan residuos porque no se absorben. Por ello, se deben buscar productos de alta eficiencia con bajos niveles de inclusión para optimizar el resultado y evitar el efecto de dilución del valor nutricional de las materias primas contaminadas (58).

En estudios de laboratorio y de campo, la inclusión de 0,57% del adsorbente, logra una adsorción de 50-70% de las AFs *in vivo*. Al 1% puede obtenerse alguna ventaja adicional, pero resulta dudosa su justificación económica (118).

En los Estados Unidos, la utilización de los adsorbentes químicos indicados para unirse a las AFs en

el tracto gastrointestinal de los pollos, no ha sido aprobada por clasificarse más como una droga que como un "aditivo alimentario", con criterios distintos para su aprobación (32, 118). En general, en otros países no hay legislaciones que restrinjan su uso.

Hay numerosas sustancias naturales o sintéticas que tienen la capacidad, *in vivo* o *in vitro*, de unirse a las AFs. Muchas han resultado prometedoras en cuanto a su eficacia como adsorbentes de AFs en aves, pero pocas han sido investigadas *in vivo*. Por otro lado, existen diversos productos secuestrantes de micotoxinas en el mercado. En general, en éstos se recomienda una dosificación de 1 a 10 Kg/Ton (0,1-1%) en el alimento.

- **Zeolitas**, es un aluminosilicato de estructura tridimensional, conteniendo un sitio ocupado por iones y moléculas de agua, con una considerable libertad de movimiento que le permite intercambiar iones y deshidratarse reversiblemente. No todas tienen igual habilidad para proteger contra la micotoxicosis. Las zeolitas naturales son extraídas de rocas especiales y, entre ellas, se destacan: Chabazita, Clinoptilolita, Stilbita, Erionita, Mordenita, Heulandita. Las zeolitas sintéticas, en cambio, están purificadas químicamente. Entre ellas se encuentran: Faujasita, ZSM-5 y ZSA (zeolita sódica A) (31). La ZSA ha dado buenos resultados en la detoxificación de AFB₁ en dietas de aves, siendo *in vitro* mejor que ZCA A (zeolita cálcica A), ZSY (zeolita sódica Y) y ZSX (zeolita sódica X) (25, 72). Presentan diversas propiedades como el incremento en la ovoposición, espesor de la cáscara, peso específico del huevo, nivel de sodio, la utilización de calcio. Además, adsorben metales pesados, incrementan la acción de los coccidiostáticos, remueven el NH₃ y otros gases tóxicos y convierten el estiércol en fertilizante (31).

- **Minerales de arcilla**: filosilicatos (aluminosilicatos en capas planas).

1) **Bentonita**, se origina de la ceniza volcánica y consiste primariamente en montmorillonita. Su composición puede variar de un lugar a otro, principalmente por sus iones intercambiables Na⁺, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺ (80). Este adsorbente tiene una variedad de usos en áreas industriales, de ingeniería y agrícola, incluyendo la clarificación de bebidas y agua y la decoloración del aceite (49). Por otro lado, la bentonita sódica ha sido usada como agente secuestrante y lubricante en la producción de alimentos peletizados (80).

Trabajos en Argentina muestran la eficiencia de una bentonita comercial para reducir la toxicidad de AFB₁, pero no de Fs, en pollos parrilleros (73, 86). A la vez, hay buenos resultados con bentonita en la adsorción de toxina T-2, en ensayos realizados en rata, al reducir el tiempo de tránsito a lo largo del tracto gastrointestinal con un incremento de eliminación por heces (22).

Este secuestrante administrado a una concentra-

ción del 1% presenta una alta eficiencia adsorbtiva de AFs, con porcentajes promedios de adsorción superiores al 98% en la mayoría de los casos. El mecanismo por el cual se lleva a cabo esta adsorción es probablemente una fisisorción (unión física más débil que la unión química), debida a la formación de puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilos de la superficie más externa de la montmorillonita. La formación del complejo de adsorción entre las AFs y la montmorillonita, es un proceso que ocurre de manera rápida y permanente, no dependiente *in vitro* de la temperatura ni del pH (43, 80).

Por otro lado, se ha informado que tanto la bentonita como la zeolita pueden presentar efectos indeseables sobre el organismo animal, al afectar, principalmente, la fracción globulínica circulante (38).

2) **Caolín**, aluminosilicato de discutida efectividad adsorbente de AFs (66, 67).

3) **Sepiolita**, es un silicato cuyo efecto benéfico se debería a la protección de las enzimas digestivas con una estabilización y/o activación de las mismas (19). Demuestra una débil adsorción de ocratoxina A, FB₁ y DON *in vitro* (40, 41, 42), no así de AFB₁ (41).

4) **Otros: Atapulgita** (67, 79), **Vermiculita**, **Halloysita**, **Hectorita** e **Illita** (67).

- **Carbón activado** es usado para prevenir la absorción gastrointestinal de varios xenobióticos e incrementar su directa eliminación (79). La capacidad de adsorción del carbón activado varía ampliamente dependiendo del tipo de sustancia carbonífera y del proceso de activación (41). Se han obtenido resultados alentadores en la adsorción *in vitro* de AFB₁, ocratoxina A, DON, ZEA y FB₁ (15, 40, 41, 42). El límite de saturación de la ocratoxina A es cercano al observado para AFB₁, quizás por la similitud del tamaño molecular y de la hidrofobicidad de estas dos toxinas, sin embargo, sus propiedades iónicas son diferentes. El límite de saturación del carbón activado para DON es muy bajo y está relacionado con las propiedades fisicoquímicas de la toxina (41). El carbón activado adsorbe más AFB₁ que FB₁, debido a diferencias en la estructura molecular y el tamaño de las dos micotoxinas. La AFB₁ es una molécula más pequeña y simple que FB₁, esto hace que la primera alcance mejor los espacios internos de los poros del carbón activado. La adsorción de FB₁ puede ocurrir si hay suficientes espacios internos de los poros disponibles, de lo contrario la adsorción será escasa o nula (40). La eliminación óptima de micotoxinas requiere niveles de inclusión superiores al 5-10%, concentraciones capaces de unir nutrientes esenciales (53).

b) **Otros compuestos:**

- **Alfalfa**: parece ser eficiente en dietas con ZEA y T-2, aunque faltan estudios en aves (103).

-Colestiramina: se considera eficaz para reducir los efectos de ocratoxina A y ZEA en ratas. Es 4 a 6 veces más eficiente que las levaduras en la fijación de ZEA, pero su alto costo hace imposible su uso comercial (103).

-Otros: están en investigación diversas sustancias que mostraron actividad en estudios *in vitro*. Entre estas se destacan la cafeína (1,3,7 trimetilxantina), especias y productos de Ginseng (6, 14, 51). El problema con las especias es su alta y frecuente contaminación con hongos, debido a sus métodos de producción y sus orígenes tropicales. Por ej., *A. flavus* está presente en muchos tipos de especias, razón por la cual se recomienda estimular buenas prácticas agrícolas durante la producción de éstas y desarrollar programas de prevención (77). También, existen estudios que determinaron presencia de AF (77) y ocratoxinas A y B (105) en especias.

REGULACIONES EN LOS ALIMENTOS

Las pérdidas económicas por la comercialización de materias primas contaminadas son importantes, tanto para los países exportadores como para los importadores. Los niveles de tolerancia establecidos para las transacciones comerciales se tornan cada vez más estrictos a medida que pasan los años, demostrando que se ha tomado una mejor conciencia de los riesgos y consecuencias (81).

En general, las regulaciones sobre las micotoxinas han ido acompañadas de la sensibilidad de las técnicas empleadas. Sin lugar a dudas, las micotoxinas más reguladas son las AFs, consideradas cancerígenas grado 1. Por otro lado, los niveles aceptados en las raciones animales suelen ser bastantes más altos que en los alimentos para consumo humano.

En USA, los niveles de AFs, regulados por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA), no pueden superar las 20 ppb en alimento humano, ganado de engorda inmaduro, aves jóvenes, vacas lecheras y alimentos con destinos no definidos. También están regulados en un máximo de 100 ppb para ganado reproductor, cerdos y aves adultas. Venezuela, Guatemala, Jamaica, Canadá, Tailandia, Filipinas, Kenia y Egipto, entre otros, presentan lineamientos similares. Mientras tanto, en la Unión Europea los niveles aceptados de AFB₁ para raciones de aves es de 20 ppb, muy diferente a los 2 ppb en los cereales para consumo humano (36).

En el MERCOSUR, regulaciones técnicas impuestas por Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, establecieron como nivel máximo de AFs 20 ppb en granos o alimentos basados en ellos (24).

Para las otras micotoxinas hay pocos países que presentan legislaciones que controlen su presencia. Por ej., para ZEA, Brasil y Francia sugieren como valores máxi-

mos tolerables para maíz y alimentos a base del mismo 200 ppb (36).

CONCLUSIONES

Actualmente, el problema de la micotoxicosis no está solucionado, al contrario, cada vez son más las micotoxinas que se suman a la bibliografía. Para las aves, se han seleccionados siete micotoxinas de importancia, pero sin duda las AFs sobresalen sobre las otras. No se descarta que el ácido ciclopiazónico, la moniliformina y otras tantas, luego de mayores estudios, incrementen la lista anterior. Los impactos que están teniendo las micotoxinas sobre la salud humana y animal son bastantes preocupantes. Por suerte, el animal es el primer purificador de estas toxinas antes de llegar al hombre (salvo para el caso del consumo directo de granos), pero lo que queda en los músculos y huevos, todavía preocupan si se considera que corresponden a intoxicaciones crónicas.

Pese a todos los estudios que se están realizando, las medidas de prevención y control pueden disminuir (pero no eliminar) la carga fúngica y de micotoxinas. La dilución de cereales contaminados no debe dejar de considerarse que las micotoxinas se absorben y alcanzan porciones del ave que el humano consume. El uso de inhibidores de hongos, soluciona parcialmente el problema. Ahora bien, seleccionar una bacteria o un cultivo mixto con actividad antifúngica y antimicotoxina, parece ser un desafío para los microbiólogos especialistas en probióticos. Hasta el presente, los resultados indican que el uso de adsorbentes (especialmente aluminosilicatos) y/o una especie de *Saccharomyces cerevisiae*, junto a un componente de su pared (mananoligosacáridos), son los métodos más prácticos para tratar un alimento con micotoxinas. Por la diversidad de la estructura química de las micotoxinas, los secuestrantes son eficientes para detoxificar alimentos contaminados con AFs. El uso de enzimas microbianas de origen microbiológico ruminal, junto a adsorbentes parecen mejorar el espectro de acción ya que incluye micotoxinas menos polares, al igual que el uso de los organoaluminosilicatos. Además, deben investigarse nuevos productos para lograr porcentajes de inclusión semejantes a las levaduras de cerveza, que no altere los componentes reales de la dieta, mayor cobertura y un mínimo poder acomplejante de vitaminas, minerales, aminoácidos esenciales, medicamentos, etc. A su vez, sería importante que más países en un futuro próximo cuenten con legislaciones que regulen las concentraciones máximas de otras micotoxinas, diferentes de las AFs, con impacto tanto en salud animal como humana.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dra. Marcela C. Audisio por sus comentarios al leer el manuscrito original y al per-

sonal de las bibliotecas de CE.RE.LA., U.N.R.C., U.N.T. y de la EEA I.N.T.A. Pergamino, Argentina, por su amable atención y colaboración.

REFERENCIAS

1. Abarca, M.; Bragulat, M.; Castella, G. & Cabañes, F. (1994). Mycoflora and Aflatoxin- Producing Strains in Animal Mixed Feeds. J. Food Prot. 57:256-258
2. Abdel-Wahhab, M. & Nada, S. (1998). Effect of phyllosilicate clay and zeolite on the metabolic profile aflatoxin B₁ in sprague-dawley rats. Revue de Medecine Veterinaire:663
3. Abdel-Wahhab, M.; Nada, S. & Amra, H. (1998). Effect of aluminosilicates and bentonite on aflatoxin-induced developmental toxicity in the rats. Revue de Medecine Veterinaire:664
4. Amra, H.; Mahmoud, S.; Taha, A. & El-Azab, M. (1996). Destruction of aflatoxin B₁ and G₁ in bread making. Mycotoxin Research 12: 73-78.
5. Arai, T.; Ito, T. & Koyama, Y. (1967). Antimicrobial Activity of Aflatoxins. J. Bacteriology 93:59-64
6. Bahk, J. & Marth, E. (1983). Growth and Synthesis of Aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the Presence of Ginseng Products. J. Food Prot. 46:210-215
7. Bartoli, F. (1998). Principales efectos de las micotoxinas sobre la producción porcina y sus métodos de control en la elaboración de los alimentos. Rev. Conferencias 22º Congreso Argentino de Producción Animal, Córdoba, Argentina, Oct. 14-16
8. Batish, V.; Grover, S. & Lal, R. (1989). Screening Lactic Starter Cultures for Antifungal Activity. Cult. Dairy Prod. J. 24: 21-25
9. Batish, V.; Lal, R. & Grover, S. (1991). Interaction of *S. lactis* subsp. *diacetylactis* DRC-1 with *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus fumigatus* in milk. Cult. Dairy Prod. J. 26:13-14
10. Bennett, J. (1987). Mycotoxins, mycotoxicoeses, mycotoxicology and mycopathologia. Mycopathologia 100: 3-5
11. Binder, E.M.; Heidler, D.; Schatzmayr, G.; Thimm, N.; Fuchs, E.; Krska, R.; Binder J. (2000). Microbial detoxification of mycotoxins in animal feed. Proceedings X International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. Guarujá, Brasil, 21-25 May. p. 158
12. Bird, Ch. & Felman, R. (1996). Pruebas de inmunoensayo para la detección de micotoxinas. Alimentos Balanceados para Animales 3: 30-32
13. Birzele, B.; Backes, F.; Berleth, M.; Kramer, J. (1998). Mycoflora, DON and OTA contents of winter wheat in the years 1995 until 1997. Revue de Medecine Veterinaire: 527
14. Buchanan, R.; Hoover, D. & Jones, S. (1983). Caffeine Inhibition of Aflatoxin Production: Mode of Action. Appl. Environ. Microbiol. 46:1193-1200
15. Bueno, D.J.; Bardón, A.; Dimarco, L.; González, S.N.; Oliver, G. (2000). Interacción entre zearalenona y carbón activado. Libro de resúmenes VI Congreso Latinoamericano de Microbiología de Alimentos, B. As., Argentina.
16. Bueno, D.J.; Silva, J.O. & Oliver, G. (2000). Hongos presentes en una biblioteca: 6 meses de estudio. Libro de resúmenes XVII Jornadas Científicas Asociación de Biología de Tucumán, Tucumán, Argentina.
17. Bueno, D.; Silva, J.; González, S. & Oliver, G. (2000). Inhibition of *Aspergillus flavus* isolated from broiler chicken food. Proceedings The Prospects of Probiotics in Prevention and Therapy of Diseases of Young, High Tatras, Slovak Republic.
18. Bueno, D.J.; Silva, J.O.; González, S.N. & Oliver, G. (2000). Inhibición de *Aspergillus flavus* por *Lactobacillus casei* CRL 431 y *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1224. Libro de resúmenes IV Congreso Latinoamericano de Biotecnología, Bs. As., Argentina. pag.38
19. Cabezas, M.; Salvador, D. & Sinisterra, J. (1991). Stabilization-activation of pancreatic enzymes adsorbed on to a sepiolite clay. J. Chem. Tech. Biotech. 52: 265-274
20. Calistru, C.; MC Lean, M. & Berjak. (1997). In vitro studies on the potencial for biological control of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* by *Trichoderma* species. Mycopathologia 139:115-121
21. Camacho, F. (2000). AFLACROM: Técnica rápida para el análisis de aflatoxinas en granos. Libro de resúmenes III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología, Córdoba, Argentina, pag.22
22. Carson, M. & Smith, T. (1983). Role of bentonite in prevention of T-2 toxicosis in rats. J. Anim.Sci.57:1498-1506
23. Ciegler, A.; Lillehoj, E.B.; Perterson, R.E. & Hall, H.H. (1966). Microbial Detoxification of Aflatoxin. Appl. Microbiol. 14: 934-939
24. Código Alimentario Argentino, Actualización Acumulada. (1994). Tomo I y III. Marzocchi Ediciones
25. Chiacchiera, S.; Combina, M.; Magnoli, C.; Dalcero, A.; Miazzo, R.; Basaldella, E.; Kikot, A. (1997). Adsorción de aflatoxina B₁ sobre zeolitas. Proc. X Congreso Argentino de Fisicoquímica, Tucumán, Argentina, pag.70
26. Chipley, J. & Uraih, N. (1980). Inhibition of *Aspergillus* Growth and Aflatoxin Release by Derivatives of Benzoic Acid. Appl. Env. Microbiol. 40: 352-357
27. Daghir, N. (1998). Mycotoxins in Poultry Feeds. ed. Poultry Production in Hot Climates. The University Press, Cambridge.
28. Dalcero, A.; Magnoli, C.; Chiacchiera, S.; Palacios, G.; Reynoso, M. (1997). Mycoflora and incidence of aflatoxin B₁, zearalenone and deoxynivalenol in poultry feeds in Argentina. Mycopathologia 137:179-184
29. Dale, N. (1997). Secuestrantes de Micotoxinas: Se exige Más

Criterio. Industria Avícola, Oct.:36-37

30. Devegowda, G.; Aravino, B. I. R. & Morton, M.G. (1997). Inmunosupresión en aves causada por aflatoxina y su atenuación mediante *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-Sacc 1026) y manano-oligosacáridos (Mycosorb). Séptima Ronda Latinoamericana y del Caribe de Alltech. pp. 21-32

31. Dongare, M. & Sabde, D. (1996). Zeolite an unique material for poultry industry. Proc. XX World's Poultry Congress, New Delhi, India, 2:857-867

32. Ekperigin, H.E. (1998). Data needed by FDA's Center for Veterinary Medicine for evaluating the utility of substances proposed for use in binding aflatoxins in feeds. 19th Annual Meeting Abstracts PSA, USA, August 2-5.

33. El-Gendy, S.M. & Marth, E.H. (1980). Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* in the Presence of *Lactobacillus casei*. J. Food. Prot. 44:211-212

34. El-Nezami, H.S. & Ahokas, J.T. (1998). Lactic Acid Bacteria: An Approach for Detoxification of Aflatoxins. In ed. Lactic Acid Bacteria, edited by Salminen S. And von Wright, A.

35. El-Sharkawy, S.H.; Selim, M.I.; Afifi, M.S. & Halaweish, F.T. (1991). Microbial Transformation of Zearalenone to a Zearalenone Sulfate. Appl. Env. Microbiol. 57:549-552

36. FAO (1996). Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO, Food and Nutrition Paper. (1996). Worldwide Regulation for Mycotoxins 1995 A Compendium, pag. 45

37. Frandberg, E. & Schnurer, J. (1998). Antifungal activity of chitinolytic bacteria isolated from airtight stored cereal grain. Can J. Microbiol. 44: 121-127

38. Freire, R.B; Salvano, M.A.; Souza, M.M.S.; Patitucci, L.T.; Baldani, C.D.; Rosa, C.A.R., Miazzi, R., Chiacchiera, S.M., Dalcero, A. (2000). Análise físico-química de soros provenientes de aves alimentadas com ração contaminada com aflatoxina B₁ e tratada com bentonita ou zeolita. Libro de resúmenes III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología, Córdoba, Argentina, pag 88

39. Fuller, R. (1989). A Review Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378

40. Galvano, F.; Pietri, A.; Bertuzzi, T.; Bognanno, M.; Chies, L.; De Ange, A.; Galvano, M. (1997). Activated Carbons: In Vitro Affinity for Fumonisins B₁ and Relation of Adsorption Ability to Physicochemical Parameters. J. Food Prot. 60: 985-991

41. Galvano, F.; Pietri, A.; Bertuzzi, T.; Piva, A.; Chies, L. & Galvano, M. (1998). Activated Carbons: In Vitro Affinity for Ochratoxin A and Deoxynivalenol and Relation of Adsorption Ability to Physicochemical Parameters. J. Food. Prot. 61: 469-475

42. Galvano, F.; Pietri, A.; Fallico, B.; Bertuzzi, T.; Scire, S.; Galvano, M.; Maggiore, R. (1996). Activated Carbons: In Vitro Affinity for Aflatoxin B₁ and Relation of Adsorption Ability to Physicochemical Parameters. J. Food Prot. 59:545-550

43. Girona, A. & Giménez, E. (1997). Adsorción in vitro de aflatoxinas mediante la utilización de compuestos adsorbentes: Montmorillonita. Rev. Iberoam. Micolo. 14 :72-77

44. Golumbic, C. & Kulik, M. (1969). Aflatoxin, Scientific Background, Control and Implications. Ed. R.A. Goldblatt, New York, Academic Press.

45. González, M.; Maleno, J. & Muroz, C. (1991). Ozone action on *Aspergillus flavus* cultures and on feeds for broiler chickens. Rev. Salud Anim. 13:193-198

46. Gourama, H. & Bullerman, L.I.B. (1995). Inhibition of Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species. J. Food Prot. 58:1249-1256

47. Gourama, H. & Bullerman, L.I.B. (1995). Antimycotic and Antiaflatoxigenic Effect of Lactic Acid Bacteria: A Review. J. Food Prot. 58:1275-1280

48. Gourama, H. & Bullerman, L.I.B. (1997). Anti-aflatoxigenic activity of *Lactobacillus casei* pseudopiantarum. Intern. J. Food Microbiol. 34: 131-143

49. Grim, R. & Guven, N. (1978). Bentonites. Geology, mineralogy, properties and uses. Development in sedimentology 24. Elsevier Science Publishers, Amsterdam

50. Haskard, C.A.; Binnion, C.A.L. & Ahokas, J.T. (1999). Factors affecting the sequestration of a common food carcinogen (aflatoxin B₁) by probiotic bacteria. Abstracts 6th Symposium on Lactic Acid Bacteria, Veldhoven, the Netherlands, J 16

51. Hitokoto, H.; Morozumi, S.; Wauke, T.; Sakai, S. & Kurata, H. (1980). Inhibitory Effects of Spices on Growth and Toxin Production of Toxicogenic Fungi. Appl. Env. Microbiol. 39: 818-822

52. Horn, B. & Wicklow, D. (1983). Factors influencing the inhibition of aflatoxin production in corn by *Aspergillus niger*. Can J. Microbiol. 29:1087-1091

53. Horvath, E. (1998). Taking the threat out of mycotoxins. Feed Tech. 2:32-33

54. Hughes, B.; Barnett, B.; Jones, J. & Dick, J. (1979). Safety of Feeding Aflatoxin-Inactivated Corn to White Leghorn Layer-Breeders. Poult. Sci. 58:1202-1209

55. Kamimura, H. (1986). Conversion of Zearalenone to Zearalenone Glycoside by *Rhizopus* sp. Appl. Env. Microbiol. 52:515-519

56. Karunaratne, A.; Wezenberg, E. & Bullerman, L.I. (1990). Inhibition of Mold Growth and aflatoxin Production by *Lactobacillus* spp. J. Food Prot. 53:230-236

57. Kiessling, K.H.; Pettersson, H.; Sandholm, K. & Olsen M. (1984). Metabolism of Aflatoxin, Ochratoxin, Zearalenone, and Three Trichothecenes by Intact Rumen Protozoa, and Rumen Bacteria. Appl. Env. Microbiol. 47: 1070-1073

58. Krabbe, E. (1998). Micotoxinas: Como reduzir perdas. Avicultura Industrial Ano 88 n° 1053: 26-27

59. Lara, J.; Muñoz, J.; Rivera, L. & Medina, J.C. (2000). Organoaluminosilicatos como adsorbentes de micotoxinas. Libro de resúmenes III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología, Córdoba, Argentina, pag. 89

60. Line, J. & Brackett, R. (1995). Factors Affecting Aflatoxin B₁ Removal by *Flavobacterium aurantiacum*. J. Food Prot. 58 : 91-94

61. Line, J.E.; Brackett, R.E. & Wilkinson, R.E. (1994). Evidence for Degradation of Aflatoxin B₁ by *Flavobacterium aurantiacum*. J. Food Prot. 57:788-791
62. Luna, M. (1997). Micoflora e incidencia de micotoxinas en alimentos balanceados para aves y cerdos. Tesina Microbiólogo. UNRC, Río Cuarto, Argentina.
63. Lura, M.C. & Basílico, J.C. (1984). Capacidad toxicogénica de hongos contaminantes de alimentos para aves. La Industria Cárnica Latinoamericana 11:28-32
64. Maas, R.; Georgiou, N.; Polman, T.; Bol, J.; Fink-Gremmels, J. (1998). Aflatoxin B₁ bioconversion by *Aspergillus niger*. Revue de Medecine Veterinaire:572
65. Mabee, M. & Chipley, J. (1973). Tissue Distribution and Metabolism of Aflatoxin B₁ ¹⁴C in Broiler Chickens. Appl. Microbiol. 25:763-769
66. Maryamma, K.; Rajan, A.; Gangadharan, B. & Manmohan, C. (1991). In- vivo and in-vitro studies of aflatoxin B₁ neutralization. Indian J. Animal Sci. 61:58-60
67. Masimargo, N., Remacle, J. and Ramaut, J. (1978). The role of adsorption in the elimination of aflatoxin B₁ from contaminated media. Eur. J. Appl. Microbiol. 6:101-105
68. Mediavilla, E. (1984). Aflatoxicosis. In Enfermedades de las Aves. México, Ed. Trillas.
69. Megharaj, M.; Garthwaite, I. & Thiele, J.H. (1997). Total biodegradation of oestrogenic mycotoxin zearalenone by a bacterial culture. Letters in Appl. Microbiol. 24:329-333
70. Mérida, J.M. (1999). Determinación de aflatoxinas en hígado, músculo y huevos en gallinas ponedoras comerciales. Tesina Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Autónoma "Gabriel René Moreno; Santa Cruz de la Sierra, Bolivia
71. Miazzo, R.; Kraft, S. & Moschetti, E. (1995). Dos niveles de levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) como promotor natural de crecimiento en parrilleros. Rev. Arg. Prod. Anim. 15: 662-663
72. Miazzo, R.; Rosa, C.A.R.; De Queiroz Carvalho, E.C.; Magnoli, C.; Chiacchiera, S.; 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
73. Miazzo, R.; Salvano M.; Da Rocha Rosa C.A.; Magnoli C.; Bueno D.; Peralta M.F.; Chiacchiera S.; Dalcero A. (2000). Influence of sodium bentonite on combined effects of feeding aflatoxin and fumonisin in broiler chicks. Proceedings X International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. Guarujá, Brasil, pag. 196
74. Molina, M.V. (1999). Determinación de aflatoxinas en pechuga, muslo e hígado de pollos parrilleros. Tesina Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Autónoma "Gabriel René Moreno; Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.
75. Munimbazi, C. & Bullerman, L.I. (1998). Inhibition of aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 by *Bacillus pumilus*. Mycopathologia 140:163-169
76. Narvaiz, P.; Kothar, N.; Lescano, G. & Kaupert, N. (1988). Comparación de los efectos provocados por el calor y la irradiación sobre *Aspergillus parasiticus*. Rev. Arg. Microbiol. 20:155-162
77. Olsen, M.; Moller, T. & Salomonsson, A. (1998). Occurrence of aflatoxins and aflatoxin producing moulds in spices. Revue de Medecine Veterinaire:529
78. Pascale, M.; Avantaggiato, G. & Visconti, A. (1998). Application of immunoaffinity columns to the analysis of zearalenone, deoxynivalenol and ochratoxin A in cereals and biological fluids. Revue de Medecine Veterinaire:530
79. Ramos, A. & Hernández, E. (1992). Observaciones sobre el poder adsorbente de aflatoxinas por parte de silicatos naturales y sintéticos a pH similar al gástrico y al intestinal. Cienc. Vet. (Madrid) 5:139-144
80. Ramos, A.; Gremmels, J. & Hernández, E. (1996). Prevention of Toxic Effects of Mycotoxins by Means of Nonnutritive Adsorbent Compounds. J. Food Prot. 59: 631-641
81. Resnik, S. (1997). Micotoxinas. Rev. Arg. Prod. Anim. 17:221-225
82. Ribeiro, J.M.M.; Rosa, C.A.R.; Gatti, M.J.A.; Fraga, M.E.; Jacinto, M.I.M. (2000). Microbiota toxigena de milho em amostras pré e pós procesamiento em rações para aves. Libro de resúmenes III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología, Córdoba, Argentina
83. Riet Alvariza, F. (1997). Micotoxinas y micotoxicosis. Rev. Arg. Prod. Anim. 17:215-219
84. Rodricks, J. (1979). Micotoxinas y Micotoxicosis, cómo se manifiestan y combaten. Orientación Avícola, 31:36-43
85. Rondelli, S.; Martínez, O.; De Franceschi, M. & Cerdeira, J. (1994). Determinación de la eficacia del probiótico *Streptococcus faecium* como promotor de postura. Libro de resúmenes II Seminario Internacional de Ciencias Avícolas, CAPIA, Bs. As., Argentina, pag. 99
86. Rosa, C.A.R.; Miazzo, R.; Magnoli, C.; Salvano, M.; Chiacchiera, S.M.; Ferrero, S.; Saenz, M.; Carvalho, E.C.Q.; Dalcero, A. (2001). Evaluation of the Efficacy of Bentonite from the South of Argentina to Ameliorate the Toxic Effect of Aflatoxin in Broiler. Poult Sci 80:139-144
87. Roy, U.; Batish, V.K.; Grover, S. & Neelakantan, S. (1996). Production of antifungal substance by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CHD-28.3. Intern. J. Food Microbiol. 32: 27-34
88. Sala de Miguel, M. (1996). Micotoxinas-Actualización. Agroindustria. 91: 46-57
89. Samarajeewa, U.; Sen, A.; Cohen, M. & Wei, C. (1990). Detoxification of aflatoxins in food and feeds by physical and chemical methods. J. Food Prot. 53: 489-501
90. Sawhney, D.; Vadehra, D. & Baker, R. (1973). The Metabolism of ¹⁴C Aflatoxins in Laying Hens. Poul. Sci. 52:1302-1309
91. Schmidt, U. (1990). Las micotoxinas en los trópicos. Correo Fitosanitario. 1:12-15
92. Schulze, S. (1986). Micotoxinas y micotoxicosis. Memorias IV Jornadas de Actualización Porcina, Río Cuarto, Argentina
93. Singh, N.; Baxi, K. & Jand, S. (1996). Prevalence of different poultry diseases in relation to mycotoxins in poultry feed. Proc.

- XX World's Poultry Congress, New Delhi, India, 2:599-603
94. Smith, P.; Nelson, T.; Kirby, L.; Johnson, Z.; Beasley, J. (1983). Influence of temperature, moisture and propionic acid on mold growth and toxin production in corn. Poul. Sci. 62:419-423
95. Suárez, O. (1993). Problemas Encontrados en el Diagnóstico de Micotoxicosis: Muestreo, Métodos Analíticos y Referencias Científicas. Avicultura Prof. 11: 86-90
96. Suárez, O. (1999). Manejo de los Granos en las Fábricas de alimentos Balanceados y Uso de Adsorbentes de Micotoxinas. Memorias IV Seminario Internacional en Ciencias Avícolas, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, pp. 69-73
97. Suzuki, I.; Nomura, M. & Morichi, T. (1991). Isolation of lactic acid bacteria which suppress mold growth and show antifungal action. Milchwissenschaft 46: 635-639
98. Sweeney, M. & Dobson, A. (1998). Review Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. International J. Food Microbiol. 43:141-158
99. Tabajara, P. (1997). Hongos y Micotoxinas: Inhibidores. Memorias 3º Seminario Internacional en Ciencias Avícolas, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, pp. 134-137
100. Tabata, S.; Kammura, H.; Ibe, A.; Hashimoto, H. & Tamura, Y. (1994). Degradation of Aflatoxin by Food Additives. J. Food Prot. 57: 42-47
101. Tapia, O. (1986). Micotoxicosis en cerdos. Memorias IV Jornadas de Actualización Porcina, Río Cuarto, Argentina, pp. 39-58
102. Teira, L.; De Marco, N. & Bruzone, R. (1987). Determinación de aflatoxinas y hongos toxicogénicos en alimentos balanceados para aves. Libro de resúmenes I Congreso Latinoamericano Microbiología de Alimentos, Bs. As., Argentina, D12
103. Trenholm, H.L.; Charmley, L.L. & Prelusky, D.B. (1997). Agentes Secuestrantes de Micotoxinas. Séptima Ronda Latinoamericana y del Caribe de Alltech, pp.89-98
104. Tuten, R. (1989). El mundo misterioso de las micotoxinas. Industria Avícola 36:16-22
105. Vrabcheva, T.; Gareis, M.; Bresch, H.; Bodechtel, C.; Engel, G.; Majenus, P.; Rosner, H.; Wolff, J. (1998). Occurrence of Ochratoxin A and B in Spices and Herbs. Revue de Medecine Veterinaire: 533
106. Warden, W. (1969). Efecto de los mohos y de los alimentos dañados. Suplemento Progresos en Nutrición. 48: 177-180
107. Westlake, K.; Mackie, R.I. & Dutton, M.F. (1987). Effects of Several Mycotoxins on Specific Growth Rate of *Butyrivibrio fibrisolvens* and Toxin Degradation In Vitro. Appl. Env. Microbiol. 53:613-614
108. Wilson, H.; Manley, J.; Harms, R. & Damrom, B. (1978). The Response of Bobwhite Quail Chicks to Dietary Ammonium and an Antibiotic-Vitamin Supplement When Fed B₁ Aflatoxin. Poul. Sci. 57:403-407
109. Wyatt, R.D. (1983). Análisis de Micotoxinas. Avicultura Prof. Dic.: 153-154
110. Wyatt, R.D. (1984). Diagnóstico Diferencial de Micotoxicosis en Aves. Avicultura Prof. 2 : 120-122
111. Wyatt, R. D. (1985). Los Inhibidores de Hongos-La Pura Verdad (Parte 2). Avicultura Prof. 3:104-105
112. Wyatt, R.D. (1985). Detoxificación de los Granos Contaminados con Aflatoxinas. Avicultura Prof. 2:159-160
113. Wyatt, R.D. (1985). Relación Entre Micotoxicosis y Ascitis en Aves. Avicultura Prof. 2 : 162-163
114. Wyatt, R. D. (1986). Nuevo Método Para El Análisis De Aflatoxinas En El Alimento. Avicultura Prof. 4:92-93
115. Wyatt, R.D. (1987). Adición de Inhibidores del Crecimiento de Hongos a las Materias Primas. Avicultura Prof. 5:49
116. Wyatt, R.D. (1988). El buen manejo de los silos puede prevenir la formación de micotoxinas. Avicultura Prof. 6: 44-45
117. Wyatt, R.D. (1990). Fusariotoxicosis. Avicultura Prof. 7: 160-162
118. Wyatt, R.D. (1991). Adsorción de las Micotoxinas de la Dieta Mediante Compuestos Químicos. Avicultura Prof. 8:151-152
119. Wyatt, R.D. (1993). Formas prácticas para disminuir exitosamente las pérdidas por micotoxicosis I. Aflatoxicosis. Avicultura Prof. 11: 64-67
120. Wyatt, R.D. (1994). Métodos empleados para la detección de Micotoxinas. Memorias VIII Seminario Internacional de Patología Aviar, Georgia, U.S.A. Junio 6-10
121. Yoon, Y.H. & Back, Y.J. (1999). Aflatoxin B2 binding activity and antimutagenicity of *Bifidobacterium bifidum* HY strains of human origin. Abstracts 6º Symposium on Lactic Acid Bacteria, Veldhoven, the Netherlands, J 52
122. Zintzen, H. (1973). El problema de las aflatoxinas. Noticias y Resúmenes Roche, pag 12