

LA PROBLEMÁTICA DE MICOTOXINAS EN LA PRODUCCIÓN PORCINA



Douglas Zaviezo Ph. D.
Special Nutrients

Seminario Técnico
Facultad de Agronomía de Zavalla
Agosto 2015 - Argentina

Hongos y Micotoxinas



- La contaminación fúngica de granos y semillas oleaginosas comienza en el campo y los niveles de micotoxinas cambian cada año. Niveles altos:
sequía - exceso de lluvia - daño de insectos
- Durante el almacenaje humedad ($> 14\%$ granos $> 10\%$ oleaginosas), insectos, roedores y el tiempo de almacenaje aumenta la proliferación de hongos y micotoxinas.

Contaminación de hongos y micotoxinas



En el campo



Cosecha



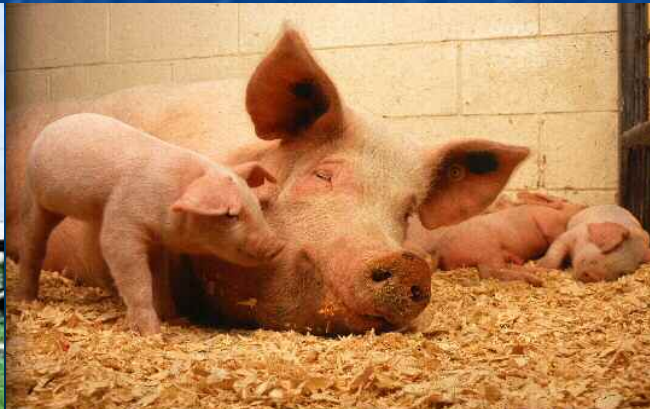
Transporte y almacenaje



Fabricación de alimento



Suministro del
alimento



Micotoxinas : del grano al comedero



Presencia de Micotoxinas

Origen Muestra	Muestras Positivas
----------------	--------------------

Maíz	30 %
------	------

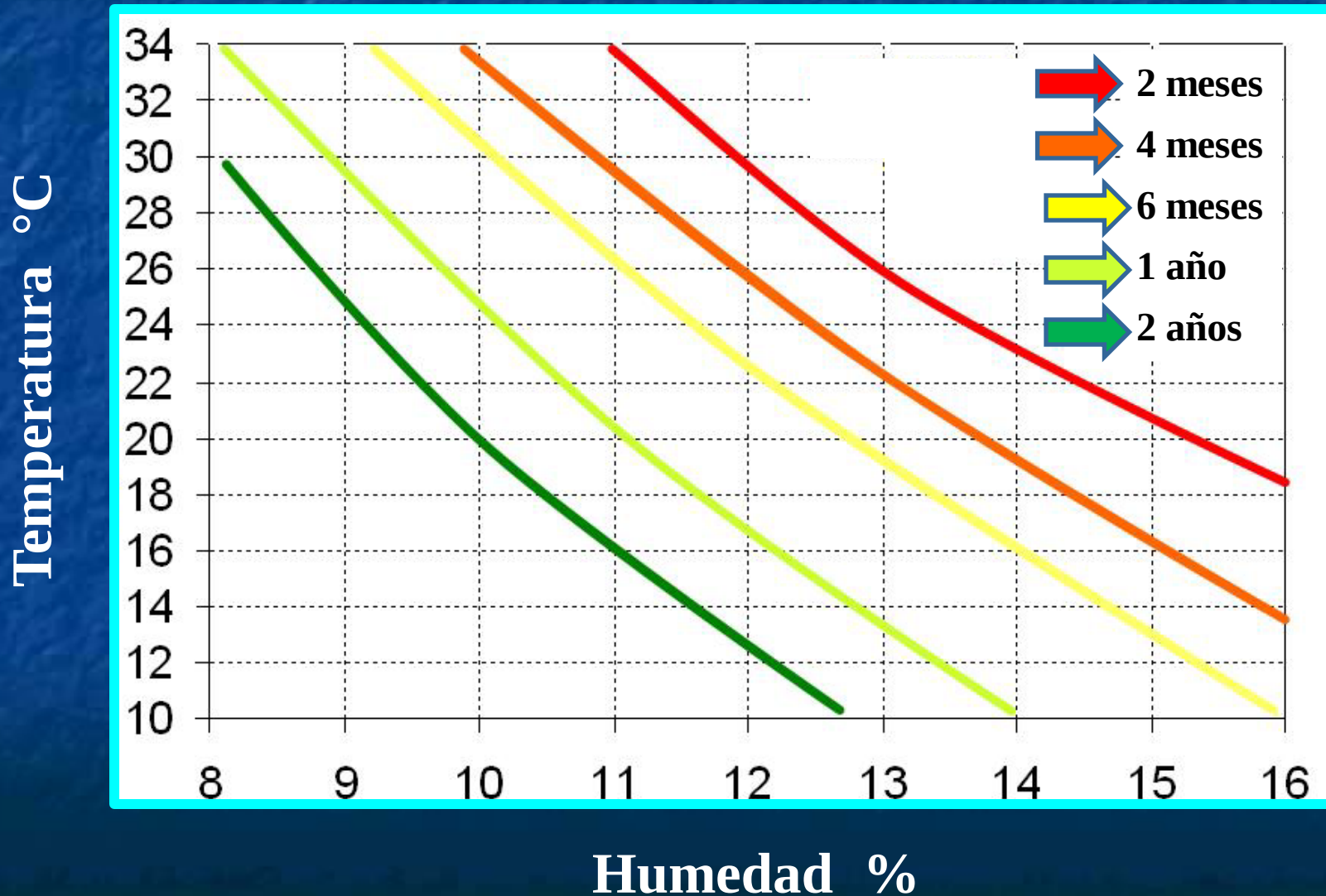
Alimento en fábrica	52 %
---------------------	------

Alimento en comedero	91 %
----------------------	------



North Carolina State University 2000

Tiempo de almacenaje de granos en relación a las condiciones de temperatura y humedad



Maíz contaminado con hongos



Uso del germen como fuente de nutrientes

Comparación del valor energético del maíz contaminado con hongos



Materia Prima	Energía metabolizable (kcal / kg)	Proteína %	Grasa %	Fibra %
Maíz normal	3410	8.9	4.0	3.1
Maíz con hongos 2 meses 25°C *	3252	8.3	1.5	3.4

* Energía metabolizable antes de la aparición de hongos **3344 kcal/kg**

Efecto de la densidad en la Energía Metabolizable del Maíz



Clasificación del maíz	Densidad lb/bu	Densidad kg/hl	TMEn Relativa %
US 1	56 - 58	72.1 - 75	100
US 2	54	69.5	99.5
US 3	52	67.0	98.5
US 4	49	63.1	98.0
US 5	46	59.3	93.0

Adaptado de Dale, 1994 y Manzke *et al*, 2011

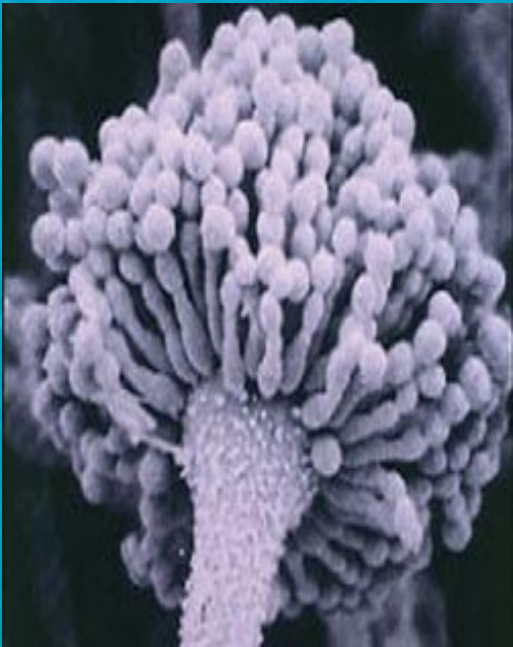
Hongos y la calidad del alimento



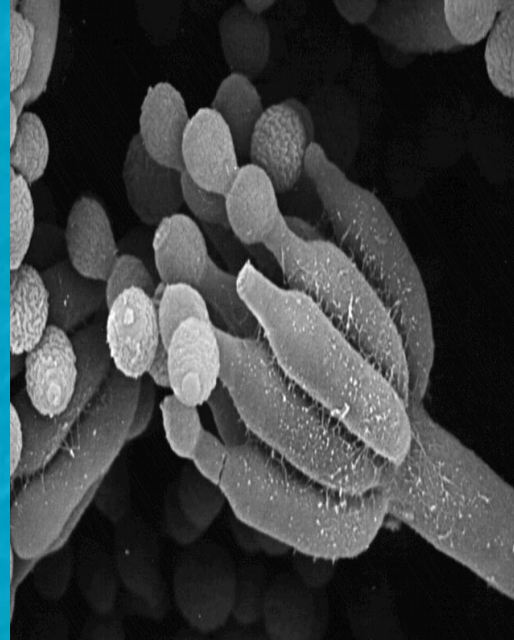
Los hongos que contaminan las materias primas y alimentos les extraen nutrientes empobreciendo su calidad nutritiva



Géneros de hongos productores de micotoxinas



Aspergillus spp.



Penicillium spp.



Fusarium spp.

Hongos

Micotoxinas



Aspergillus flavus

Aspergillus parasiticus

Penicillium sp.

Aspergillus ochraceus

Fusarium roseum

Fusarium tricinctum

Fusarium moniliforme

Fusarium graminearum



Acido ciclopiazónico

Aflatoxinas

Citrinina

Ocratoxinas



Tricotícenos

Toxina T-2

DAS diacetoxiscirpenol

DON dioxinivalenol

Zearalenona

Fumonisina

Análisis de Micotoxinas



- **HPLC**

- **Preciso**
- Especifico
- Mínimos detectables bajos
- **Método oficial**

Costosos

Lentos

No permite multidetección

No analiza simultáneamente

- **ELISA**

- **Rápido**
- **Menor costo**
- Análisis simultaneo
- Mínimos detectables adecuados

Purificación de extractos

Riesgos de falsos positivos

Menos preciso

Orientativo

Análisis de Micotoxinas



■ Problemas con Resultados de Análisis

Errores de los análisis:	92.7 %	error de muestreo
	7.2 %	error de submuestra
	0.1 %	error de análisis

■ Distribución de las Micotoxinas

- La distribución de las micotoxinas no es uniforme
- Extremadamente difícil obtener muestras representativas

Medidas de Micotoxinas



ppm = 1 : 1 000 000 mg/kg g/ton

ppb = 1 : 1 000 000 000 µg/kg mg/ton



100 granos maíz = 35 gramos

1 000 000 000 granos = 350 toneladas

Tamaño muestra = $\sqrt{20 \times \text{ton}}$

$\sqrt{20 \times 350} = 84 \text{ kg}$

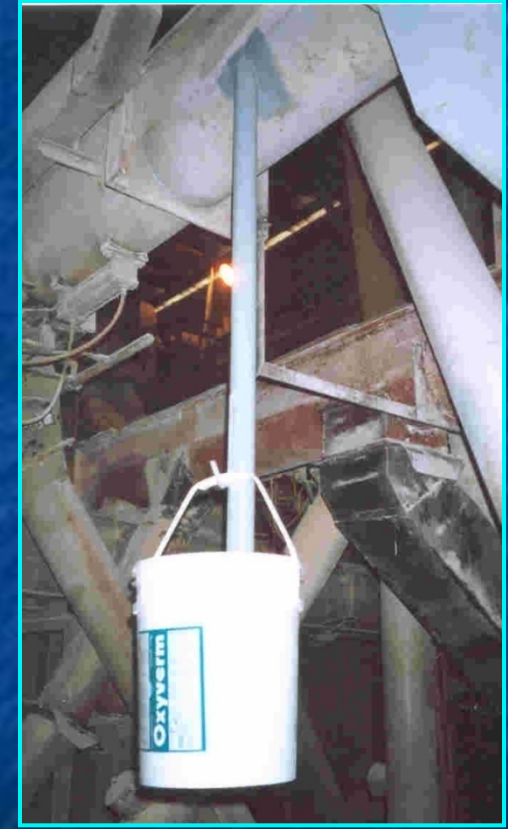
Técnicas de Muestreo



Técnica de Muestreo



Muestras del material en movimiento y molido



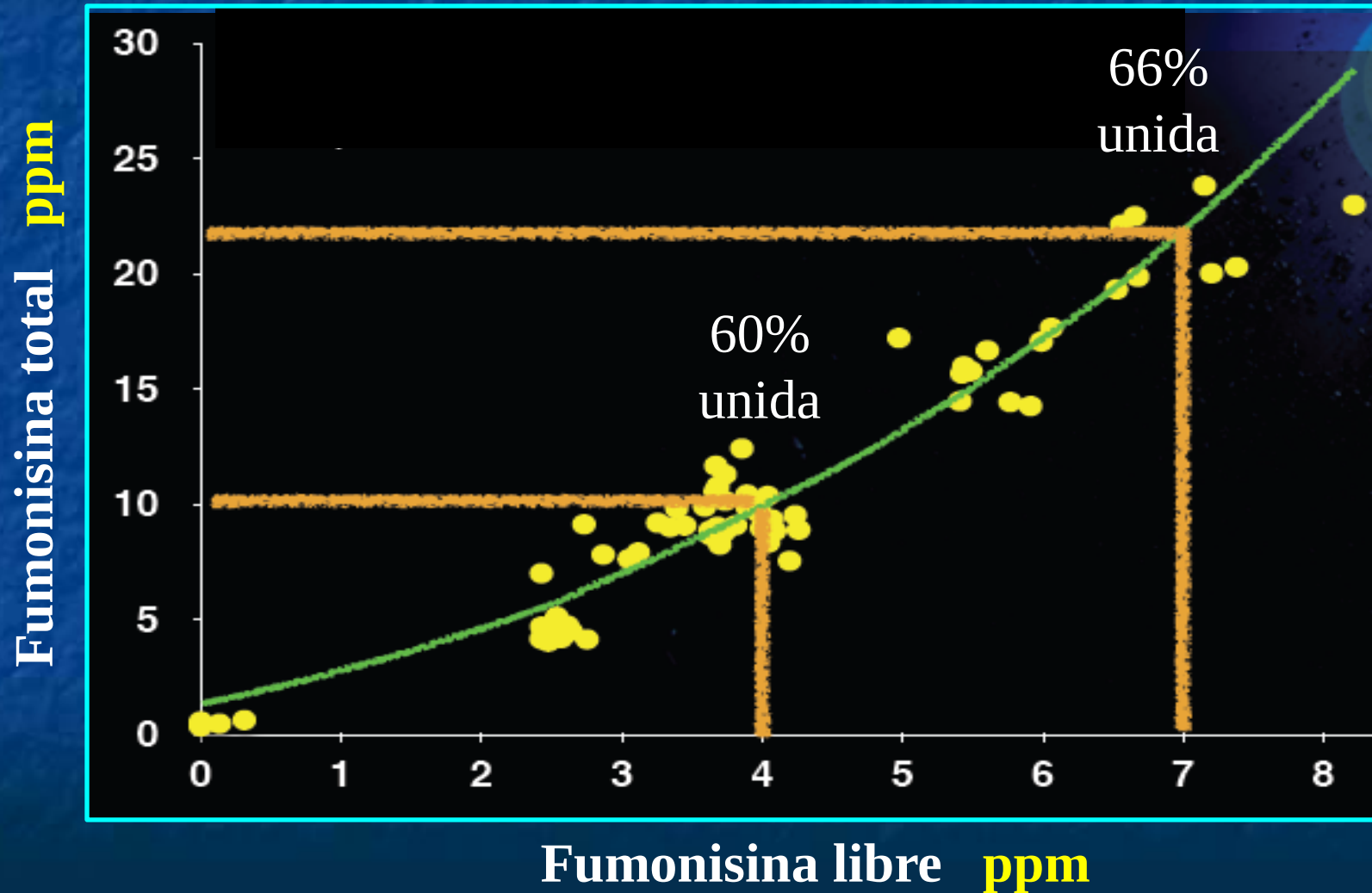
Fabricación de 100 ton/día muestra mínima 45 kg
y preparación de submuestra de 1 kg para análisis

Micotoxinas conjugadas o enmascaradas



- Son micotoxinas unidas a un **azúcar (glucosa)**, ácidos grasos o aminoácidos que no son detectadas en los análisis.
- Ocurre como una defensa de los vegetales, especialmente con **fumonisina, zearalenona y DON**
- Del total de estas micotoxinas entre el **30 al 70%** están en forma conjugada; detectables solo con un tratamiento de la muestra (enzimas - ácido) o con una combinación de HPLC y espectrofotómetro de masa

Relación entre fumonisina libre y total en muestras de maíz de Brasil (Lamic 2015)



Que niveles de micotoxinas son preocupantes en cerdos



Micotoxina	Regulaciones Recomendaciones UE y EUA	Niveles Problemas de Campo
Aflatoxina	< 20 ppb	5 ppb
Zearalenona	< 500 ppb	100 ppb
Toxina T-2	< 500 ppb	100 ppb
Fumonisina	< 5000 ppb	1000 ppb
Vomitoxina (DON)	< 1000 ppb	200 ppb
Ocratoxina	< 20 ppb	5 ppb

Limites máximos de micotoxinas recomendados para cerdos por LAMIC



CERDOS	AFLA ppb	OCRA ppb	FUM ppb	ZEA ppb	DON ppb	T-2 ppb	DAS ppb
Inicial	0	0	100	5	0	0	0
Crecimiento	1	2	100	5	100	20	100
Terminación	3	3	500	0	100	20	100
Reproducción	5	5	1000	0	200	50	200

Micotoxicosis



- Tipo de micotoxinas
- Cantidad de micotoxinas
- Combinación de micotoxinas
- Edad del animal
- Especie de animal
- Tiempo de exposición
- Nutrición y salud del animal
- Interacciones directas e indirectas



BAJO NIVEL DE MICOTOXINAS



INMUNOSUPRESION

Aumenta
reacción a las
vacunas

Pobre respuesta
a la vacunación

Exceso de uso
de antibióticos a
nivel de granja

Crecimiento
desuniforme

Pobre
desempeño

Micotoxinas e Inmunodepresión



- Las micotoxinas que mas afectan el sistema inmune de los cerdos son: **aflatoxinas, fumonisinas y tricoticonos**
- Aumentan la susceptibilidad de los cerdos a una variedad de agentes infecciosos, incluyendo bacterias y virus.
- Afectan la resistencia a las enfermedades a través de una alteración de los mecanismos de defensa.
- Comprometen la capacidad protectora de los programas de vacunación.
- Mayores costos por incremento en el uso de medicamentos

Micotoxinas e inmunosupresión en cerdos



Aflatoxinas

- Afectan la respuesta inmune
- Demora en la respuesta inmune
- Formación inadecuada de anticuerpos
- Supresión de la formación de anticuerpos

Micotoxinas e inmunosupresión en cerdos



Toxina T-2 y DAS

- Afecta la producción de anticuerpos.
- Destrucción de linfocitos B y T

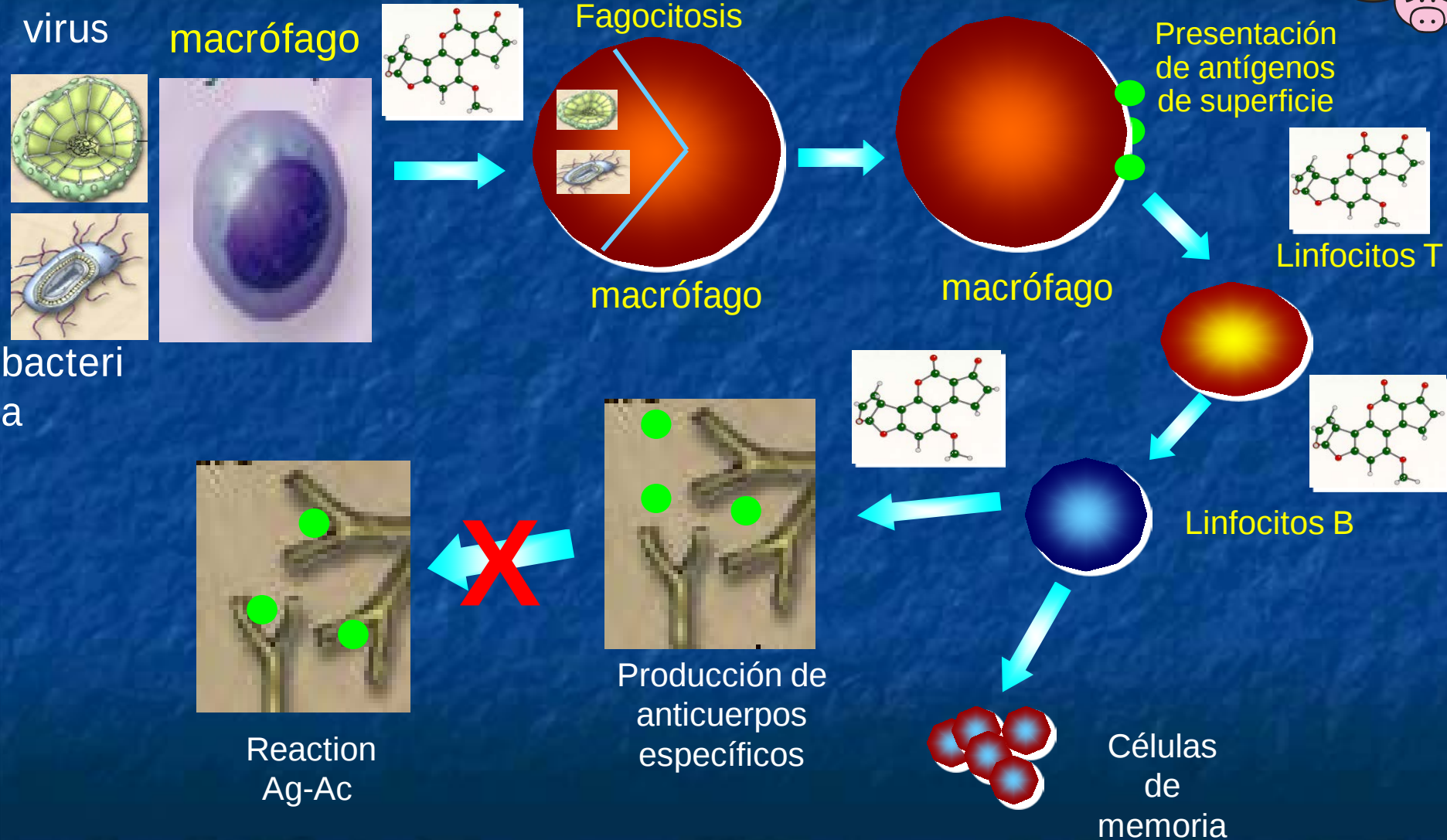
DON - Vomitoxina

- Afecta producción de inmunoglobulinas

Fumonisin

- Reducción de la formación de linfocitos.
- Correlación con incidencia de PRRS y PMWS (circo virus)

Respuesta Inmune



ALTO

NIVEL DE MICOTOXINAS



INMUNODEPRESION

Aumenta
reacción a las
vacunas

Pobre respuesta
a la vacunación

Exceso de uso
de antibióticos a
nivel de granja

Crecimiento
desuniforme

SINTOMAS VISIBLES

Pobre
desempeño

Aflatoxina



**Hepatomegalia
(aumento tamaño del hígado)**



Vesícula Biliar afectada



Hígado friable



Hígado graso

Aflatoxina M1 en leche



La aflatoxina B1 en el alimento consumido por la madre es eliminada por la leche como aflatoxina M1 afectando a la progenie



Ocratoxina



Riñones hemorrágicos
y congestionados



Toxina T-2 / DAS



Lesión oral

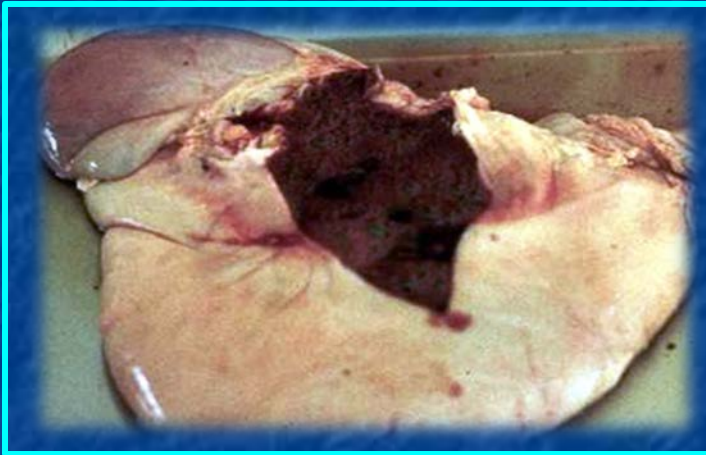


Necrosis de lengua

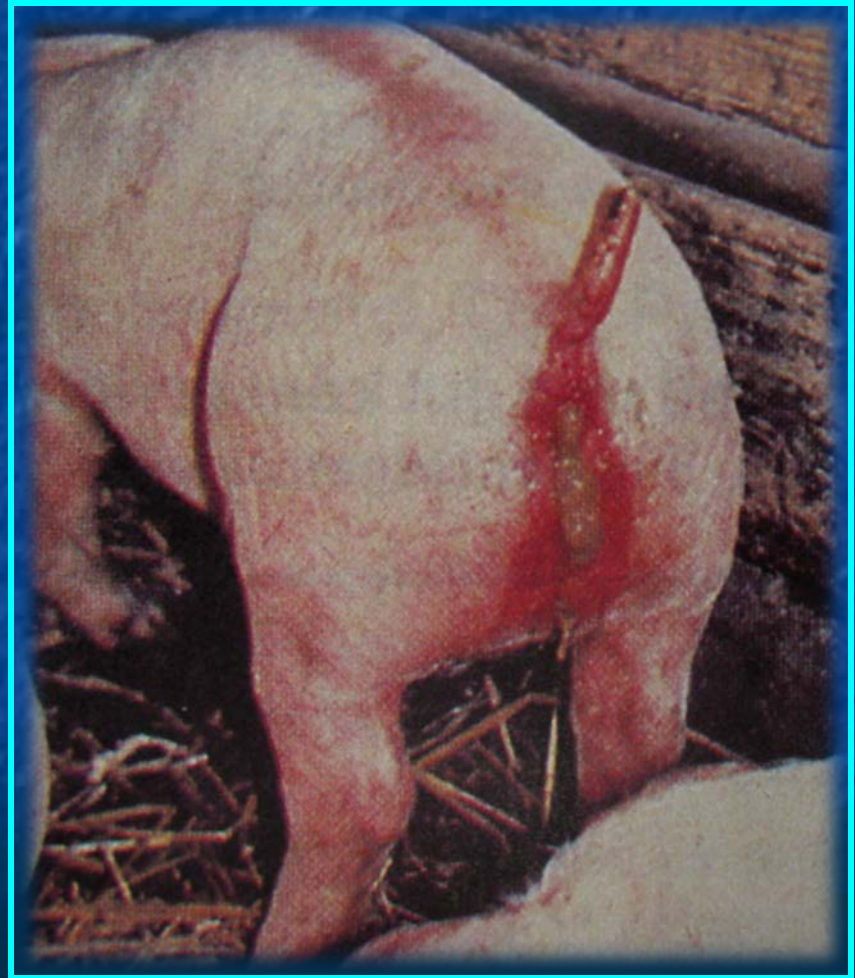
Toxina T-2 / DAS



Ulceraciones estomacales



Hemorragia intestinal



Efecto de la fumonisina en lechones



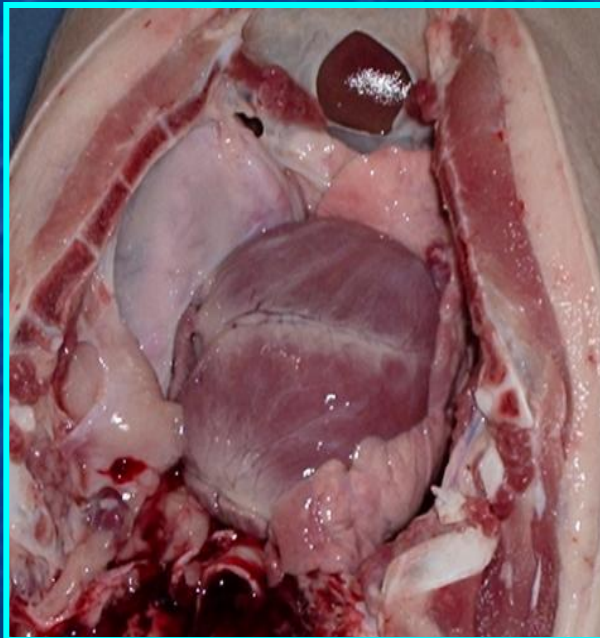
Fumonisina



Aumento del tamaño de pulmones - corazón - hígado



Edema pulmonar



Corazón anormal



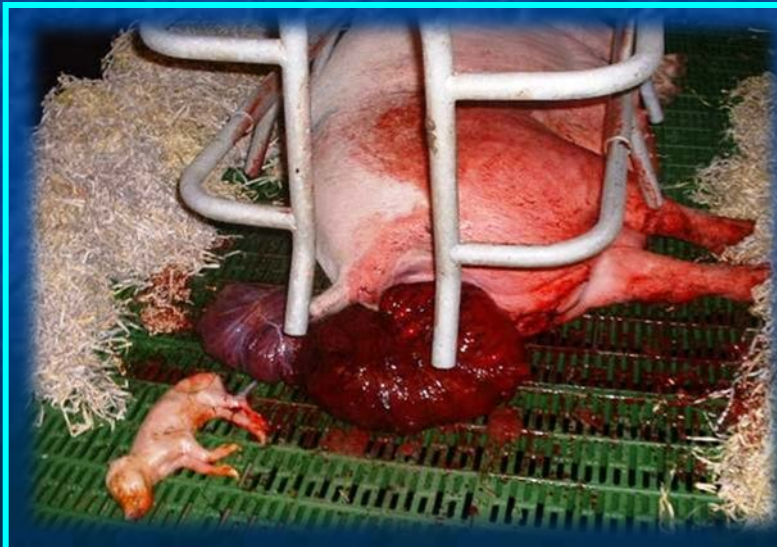
Daño hepático

Predisposición a enfermedades respiratorias

Zearalenona



Zearalenona



Efecto estrogénico de la zearalenona en el crecimiento del útero



Efecto de la contaminación natural de zearalenona en la preñez de un plantel de 2000 madres



■ ZEA 150 ppb ■ ZEA 150 ppb + AAM



DON - Vomitoxina



Afecta centro de control del apetito a nivel cerebral

- La vomitoxina inhibe la síntesis proteica en el hígado
- Aumentan los aminoácidos circulantes en sangre
- Aumento del triptófano en el cerebro aumenta serotonina
- Altos niveles de serotonina producen percepción de saciedad

DON - Vomitoxina



DON - Vomitoxina



Disminución del tamaño del hígado



Control

6 ppm DON

Ergotoxinas y/o Fumonisina + Toxina T-2 o Endotoxinas ?



Necrosis
de rabos
y orejas



Alternativas prácticas de solución



Las alternativas prácticas de solución se limitan a

- Limpieza del grano y cuidados de almacenaje
- Inhibidores de hongos
- Aditivos anti-micotoxinas (AAM)

Prevención y control de micotoxinas



Limpieza del grano



Prevención y Control de Micotoxinas



■ Inhibidores de hongos

Acidos orgánicos o sus sales (acido propiónico)

Tratamiento al grano y/o al alimento

Corrosivos

■ Adsorbente de micotoxinas

Efectivo

Amplio espectro

Utilización a la dosis correcta

Prevención y Control de Micotoxinas



Resulta un gran desafío tanto para los técnicos como para los productores identificar los secuestrantes de micotoxinas mas efectivos, capaces de adsorber una o mas micotoxinas a una dosis de inclusión relativamente baja.

Bases para seleccionar un adsorbente efectivo de micotoxinas



■ Demostración de su eficacia *in vitro*

- ❖ Capacidad neta de adsorción (adsorción - desorción) con cambio de pH usando metodología HPLC.
- ❖ Indicación de dosis del producto y nivel de micotoxina.

ADSORBANT ANALYSIS RESULTS CERTIFICATE



Sample Receipt Date: March 7, 2005

Client Address:

Trilogy Invoice Number: 11583

Trilogy Sample ID: 11079-1

	<u>Zearalenone</u>	<u>Ochratoxin</u>	<u>Fumonisin</u>
% Absorption	100.0	96.7	87.2
	100.0	93.3	95.8
	<u>100.0</u>	<u>98.5</u>	<u>95.5</u>
% Absorption Average	100.0	96.2	92.8
% Desorption	0.0	2.9	2.1
	0.0	2.7	4.3
	<u>0.0</u>	<u>5.4</u>	<u>5.0</u>
% Desorption Average	0.0	3.7	3.8
% Efficiency	100.0	92.5	89.0

Adsorción en triplicado

Desorción en triplicado

Adsorción Neta

Nivel de Adsorbente

Nivel de micotoxina

Inclusion Rate = 1.0. kg/ton
3000 ppb toxin concentration
pH = 5.0

Results Approved by:

Bruce Malone

If you have any questions regarding these sample results please do not hesitate to contact us. We will be happy to review methodology and assist with result interpretation. Sample results reported above are for the sample submitted only. They are not a guarantee of the condition of the larger sample from which these samples were purportedly taken. Received samples will be retained for 30 days unless a written request is made.

Trilogy Analytical Laboratory, Inc.
111 West Fourth St. ♦ Washington, MO 63090
Phone: 636-239-1521 ♦ Fax: 636-239-1531

Bases para seleccionar un adsorbente efectivo de micotoxinas

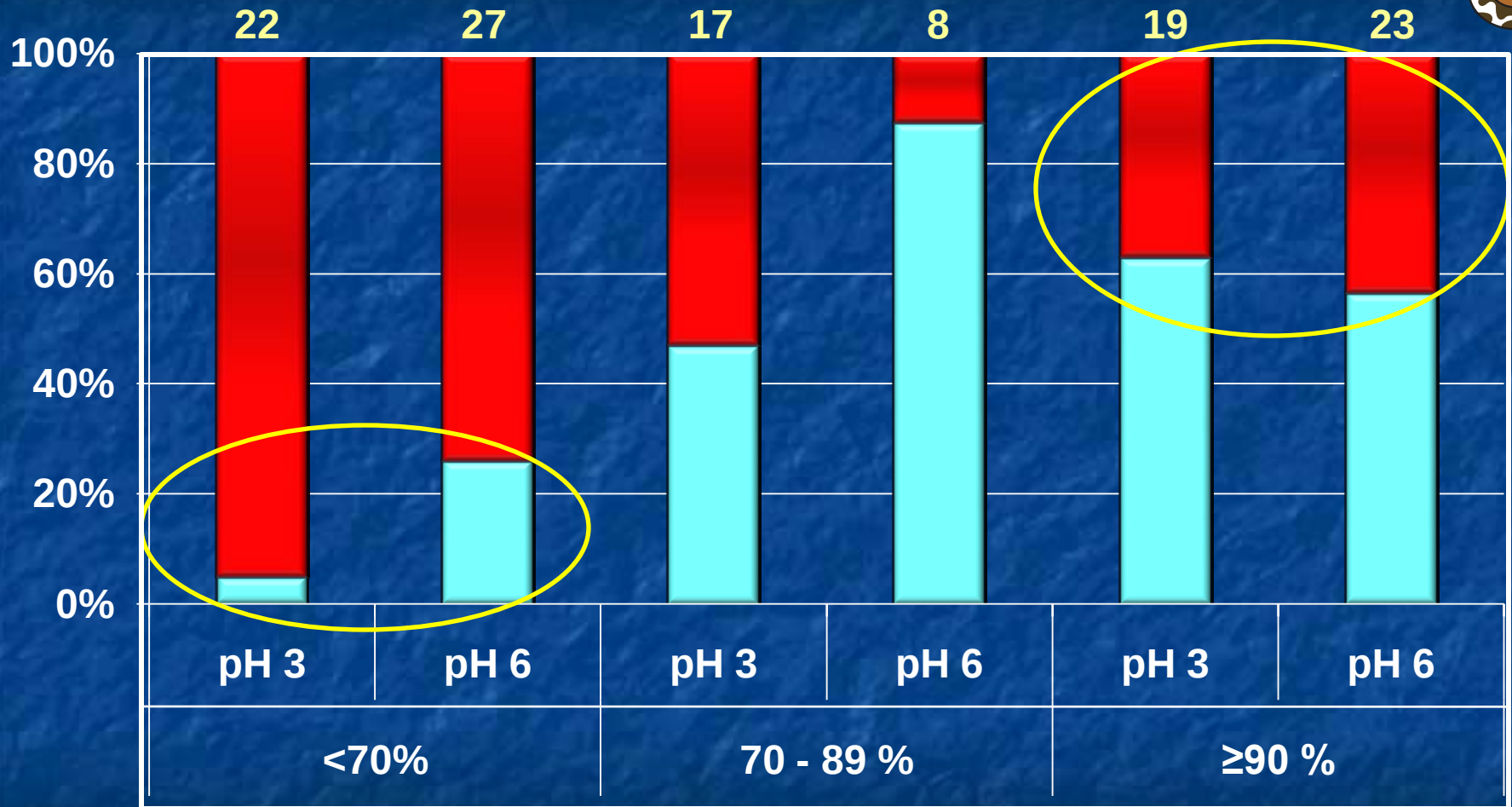


■ Demostración de su eficacia *in vivo*

- ❖ Mejora estadísticamente significativa en el desempeño productivo y/o en la prevención significativa de los daños de las micotoxinas en el o los **órganos sensibles**.
- ❖ Indicación de la dosis del producto y el nivel de micotoxina.
- ❖ Evidencias que el producto no tiene efectos perjudiciales en los animales.

Evaluación de efectividad *in vitro* e *in vivo* de AAM

Mallmann and Dilkin 2011



% adsorción *in vitro*

% AAM aprobados *in vivo*

% AAM rechazados *in vivo*

Organos susceptibles que deben ser evaluados en cerdos



MICOTOXINA	ORGANO SUSCEPTIBLE	DAÑO
Aflatoxina	Hígado	Aumentado, graso, friable. Biomarcador - AFM₁ leche
Ocratoxina	Riñones	Aumentado, congestionado.
T-2 / DAS	Boca y lengua	Necrosis, úlceras, erosiones.
Zearalenona	Organos reproductivos de las hembras	Aumentado, vulvovaginitis
Deoxinivalenol	Hígado	Reducido
Fumonisina	Pulmones - corazón - hígado en cerdos	Aumentado Biomarcador - esfingolípidos

Importancia de los Organos Sensibles



- Los órganos sensibles reflejan el daño específico de la micotoxina.
- Algunos secuestrantes de micotoxinas basan su efectividad solamente en un efecto positivo en el desempeño o en respuesta inmune, que se obtiene principalmente por la presencia de enzimas, bacterias, levaduras y/o inmuno-estimulantes en la composición de esos productos.

Unidad experimental para cerdos





EVALUATION OF THE EFFICACY OF A COMMERCIAL PURIFIED PHYLOSILICATE TO REDUCE THE TOXICITY OF ZEARALENONE IN GILTS

R. J. Malone, K. Bond, C. K. Maune and D. Zaviezo

Journal of Animal Science Vol. 85 Suppl. 1 pp 67 2007

Eficacia de un AAM en el desempeño de cerditas con zearalenona de 24 a 54 días de edad



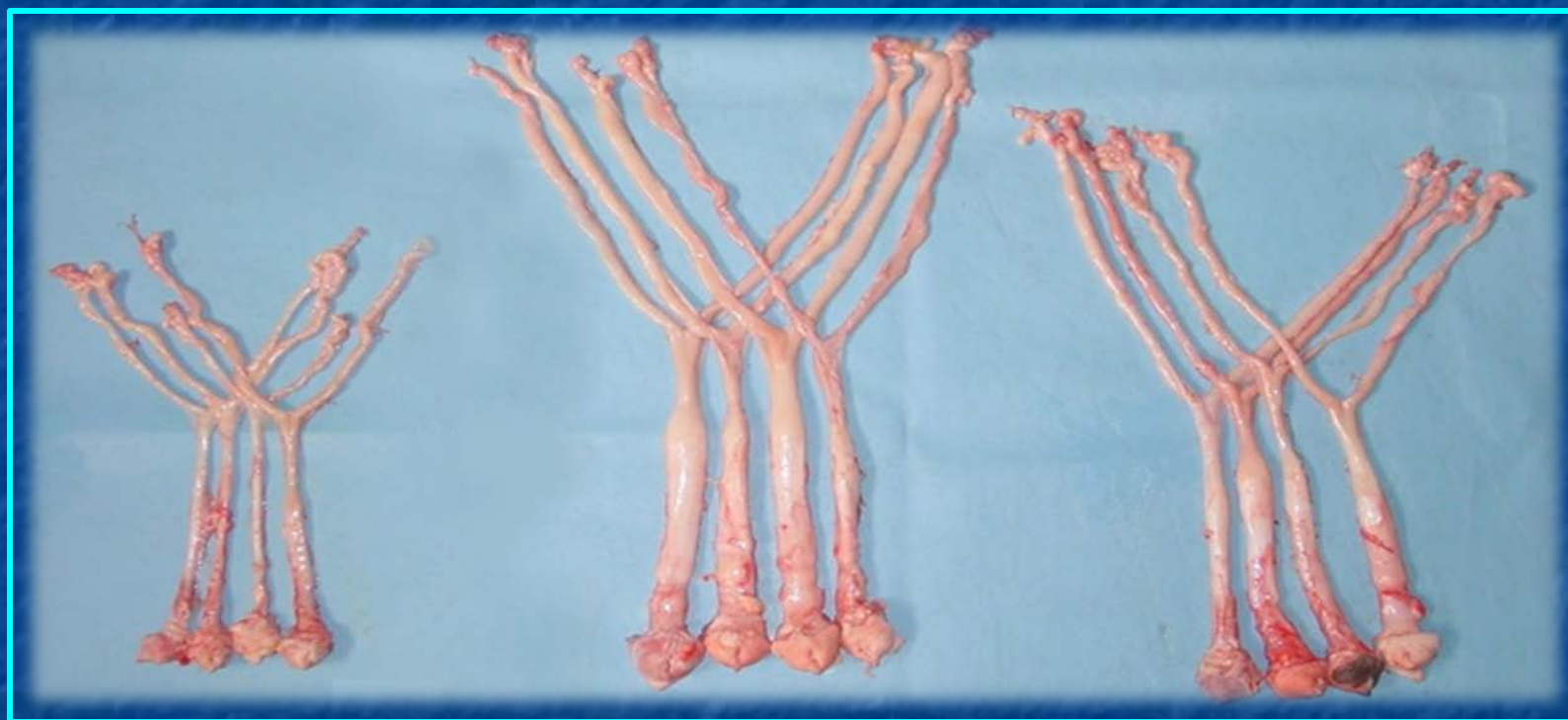
TRATAMIENTO	Ganancia de Peso kg	Consumo Alimento kg	Conversión Alimenticia
CONTROL	13.8 a	31.8 a	2.30 a
750 ppb Zearalenona	13.7 a	32.0 a	2.33 a
750 ppb Zearalenona + 1 kg/ton AAM	14.4 a	33.2 a	2.30 a

a Valores en la misma columna con diferente letra difieren significativamente ($P < 0.05$)

Eficacia de AAM en órganos reproductivos de cerditas con zearalenona de 24-54 días de edad



g / 100 g de Peso Vivo x 1000



37.1 a
Control

73.5 b
750 ppb ZEA

55.8 c
**750 ppb ZEA
+ 1 kg/ton AAM**



**EVALUATION OF THE EFFICACY
OF A COMMERCIAL PURIFIED
PHYLOSILICATE TO REDUCE
THE TOXICITY CAUSED BY
ZEARALENONE + DON IN GILTS**

**Kraig Bond - Carrie K. Maune - John R. Stoltz
Ryan J. Malone and Douglas Zaviezo**

Journal of Animal Science Vol. 87 Suppl. 2 pp 440

Eficacia de AAM en el desempeño de cerditas después de consumir por 21 días ZEA + DON



TRATAMIENTO	CONSUMO ALIMENTO kg	GANANCIA PESO kg	CONVERSION Consumo + Desperdicio
Control	6.76 a	2.94 a	4.77 a
1.2 ppm ZEA+ 6 ppm DON	2.39 b	1.04 b	12.82 b
1.2 ppm ZEA+ 6 ppm DON + 1 kg/ton AAM	5.11 a	2.22 a	5.53 a

a, b Valores en la misma columna con diferente letra difieren significativamente ($P < 0.05$)

Eficacia de AAM en el tamaño de los órganos reproductivos de cerditas con zearalenona



g / 100 g de Peso Vivo x 1000



53.9 a

Control

No zearalenone

104.5 c

1.2 ppm ZEA

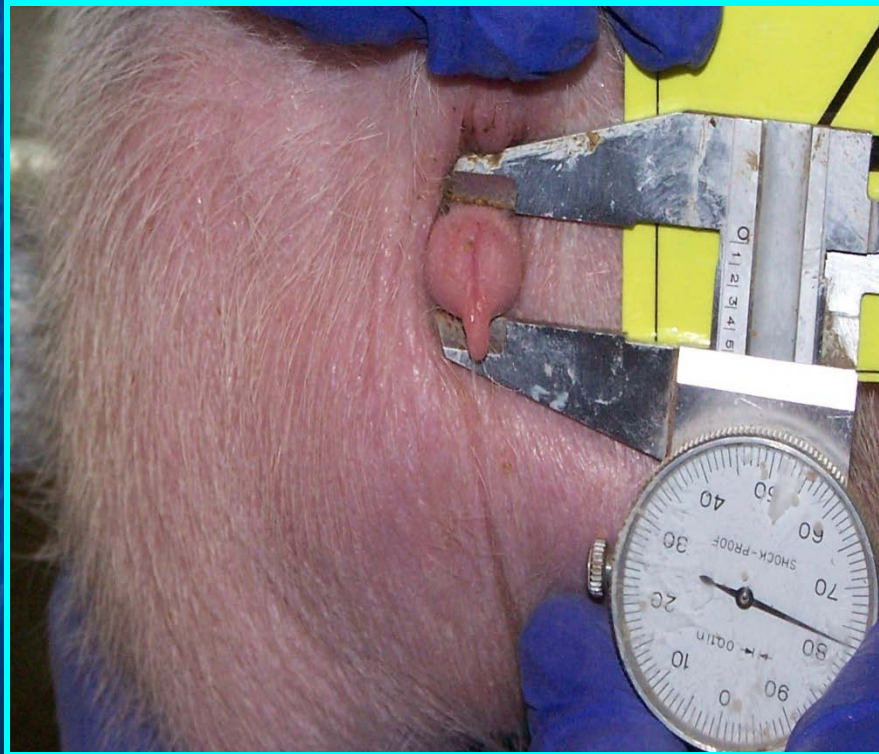
89.5 b

**1.2 ppm ZEA
+ 1 kg/ton AAM**

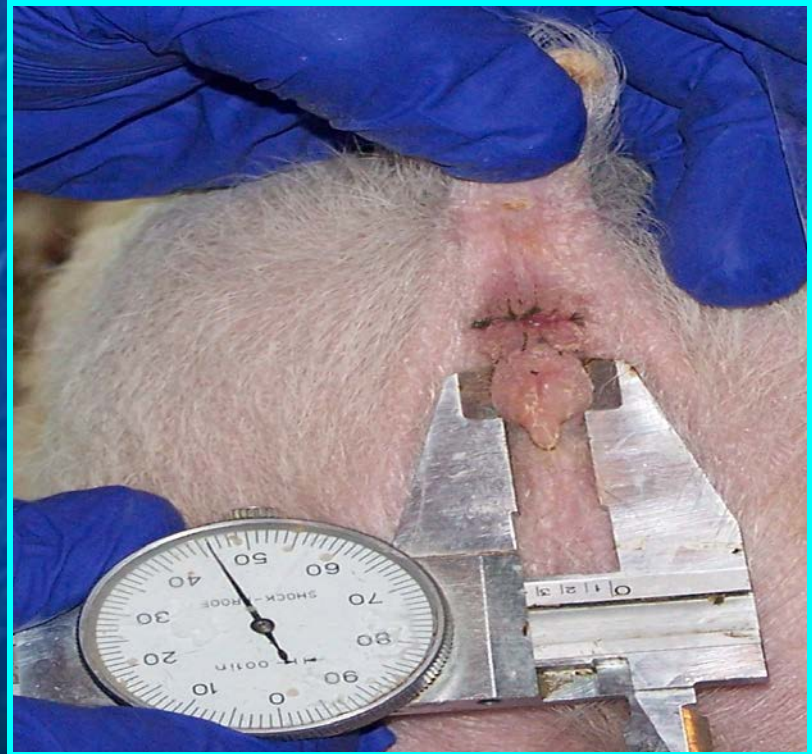
Medidas de la Vulva



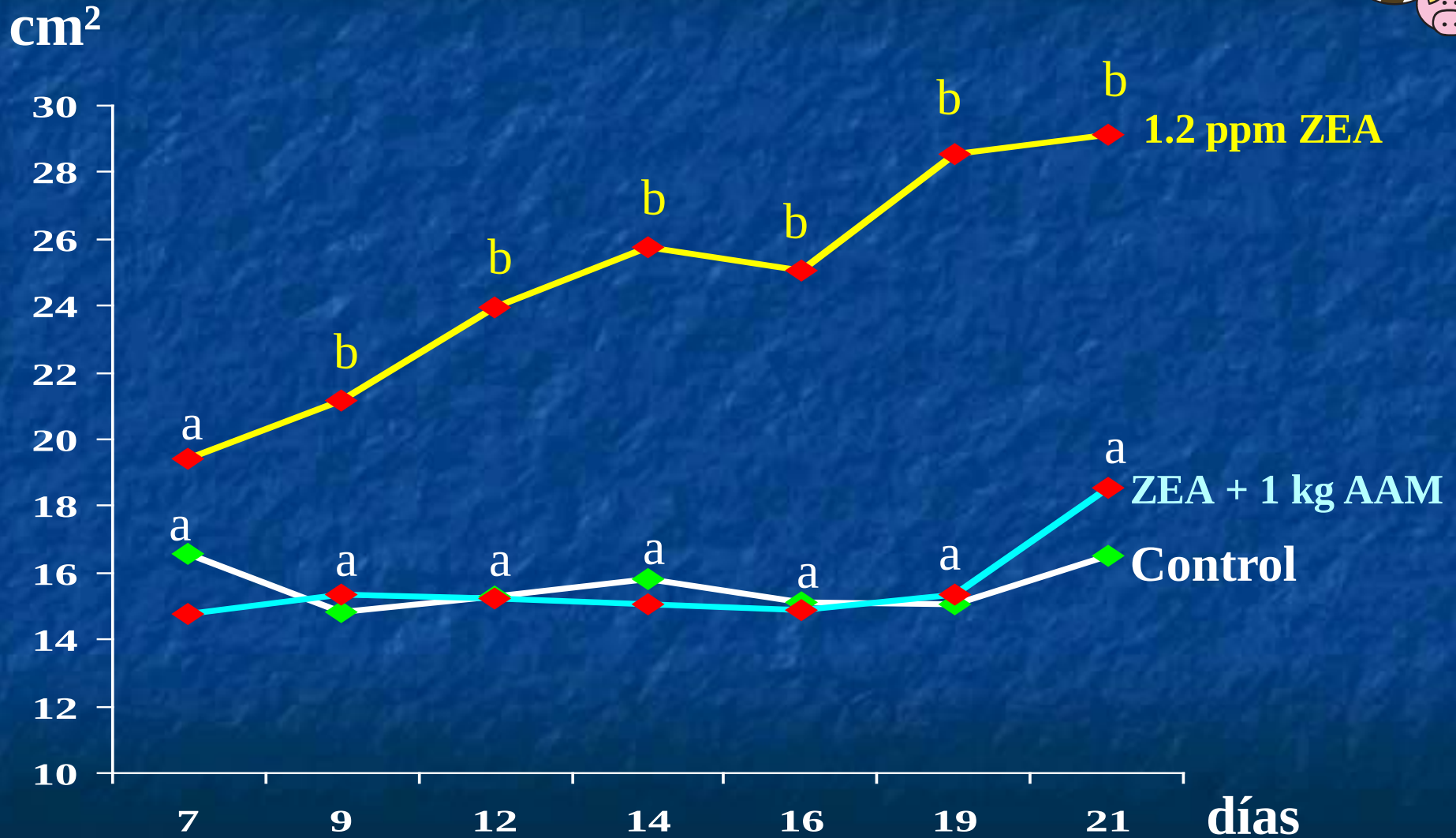
Alto



Ancho



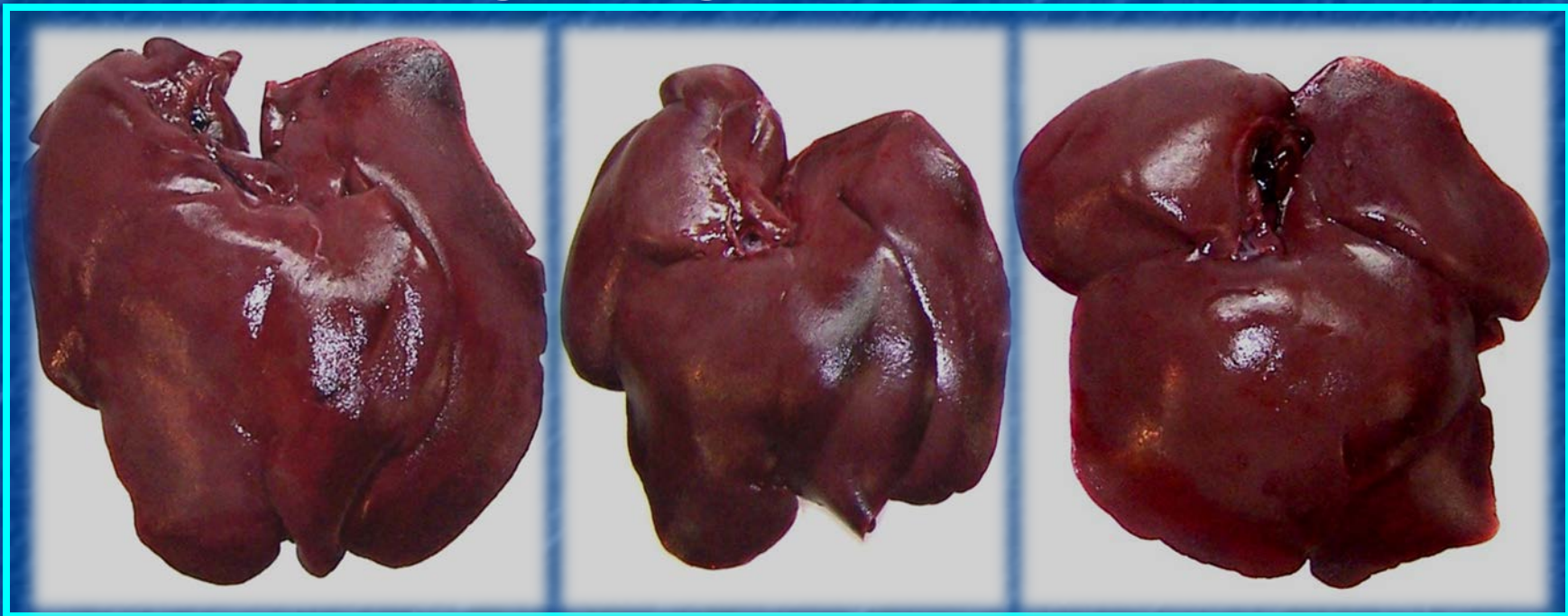
Eficacia de un AAM en el tamaño de la vulva de cerditas alimentadas con zearalenona



Eficacia de un AAM en el tamaño del hígado de cerditas alimentadas con vomitoxina (DON)



g / 100 g de Peso Vivo



3.76 a

**Control
Sin DON**

2.89 c

6.0 ppm DON

3.12 b

**6.0 ppm DON
+ 1 kg/ton AAM**



EFFICACY OF A COMMERCIAL PURIFIED PHYLOSILICATE IN PREVENTING FUMONISIN TOXICITY IN FINISHING PIGS

**C. A. Mallmann, P. Dilkin, L. Giacomini, R.H. Rauber,
D. Zaviezo and J. Garcia-Sirera**

Journal of Animal Science Vol. 87 Suppl. 2 pp 250 2009

Eficacia de un AAM en el desempeño de cerdos de 58 kg alimentados con fumonisina por 56 días



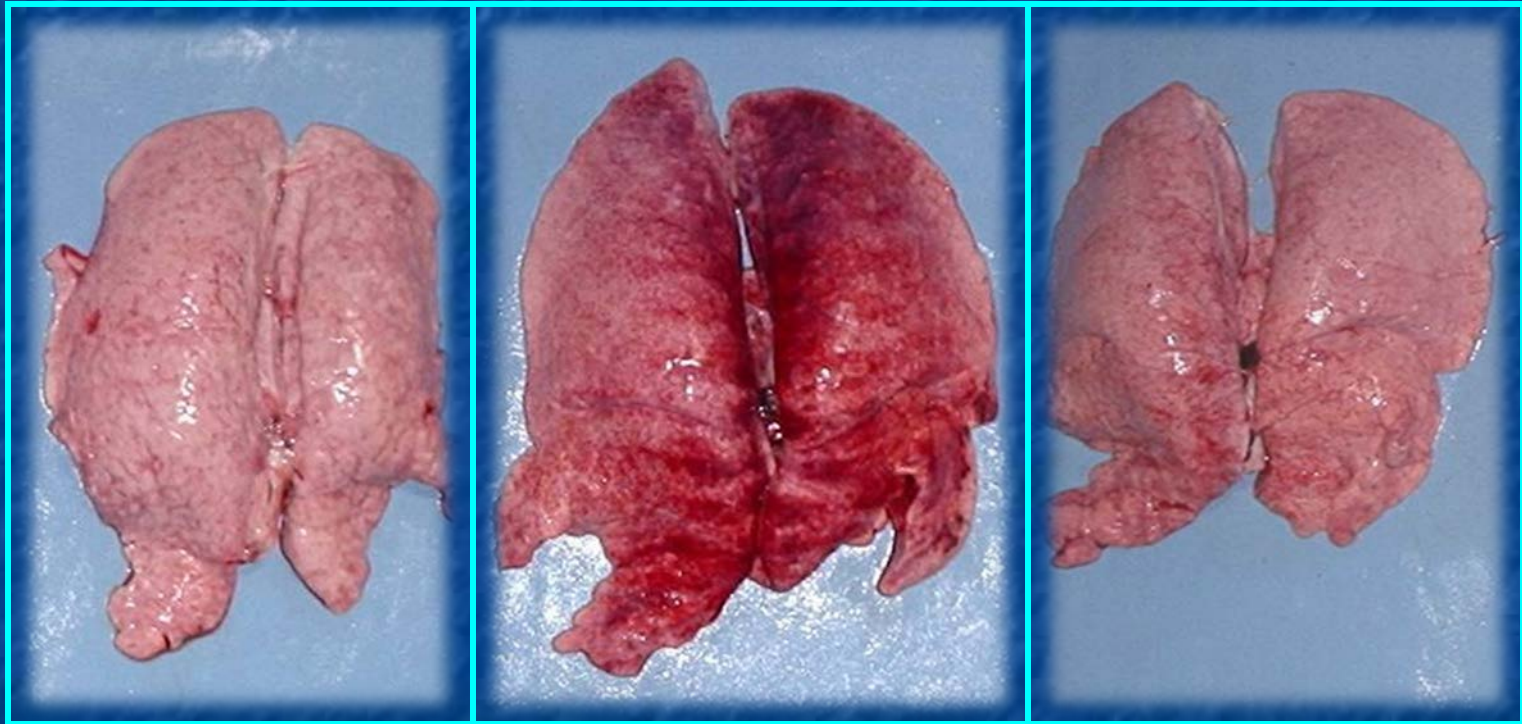
TRATAMIENTO	Ganancia Diaria de Peso g	Consumo Diario Alimento g	Conversión Alimenticia
Control	1076 a	2979 a	3.23 a
Fumonisina	996 b	2810 b	3.46 b
FUM + AAM	1084 a	2948 a	3.21 a

a,b Valores en la misma columna con diferente letra difieren significativamente ($P < 0.05$)

Eficacia de un AAM en el tamaño y condición del pulmón de cerdos alimentados con fumonisina



g /1000 g de Peso Vivo



6.17 a
Control

9.69 b
Fumonisina

6.68 a
FUM + AAM

Eficacia de un AAM en el tamaño y condición del corazón de cerdos alimentados con fumonisina



g /1000 g de Peso Vivo



3.75 a
Control



4.87 b
Fumonisin



3.75 a
FUM + AAM

Eficacia de un AAM en el tamaño y condición del hígado de cerdos alimentados con fumonisina



g /1000 g de Peso Vivo



18.4 a
Control



20.9 b
Fumonisin



18.6 a
FUM + AAM

Realidades sobre los AAM



- Todos los **AAM** que existen en el mercado tienen arcillas.
- No existe ningún estudio científico *in vivo* demostrando la eficacia de un producto que solo contenga enzimas, bacterias o levaduras.
- Todos los **AAM** comerciales con estudios científicos *in vivo* con resultados estadísticos de protección de órganos susceptibles contienen arcillas.

Vista de una fábrica de AAM



Procesos de fabricación



Control de Calidad



Otra fábrica de Aditivos Anti-Micotoxinas



Control de Calidad



LA PROBLEMÁTICA DE MICOTOXINAS EN LA PRODUCCIÓN PORCINA



Douglas Zaviezo Ph. D.
Special Nutrients

Seminario Técnico
Facultad de Agronomía de Zavalla
Agosto 2015 - Argentina