



Informe Técnico

Inactivator[®]

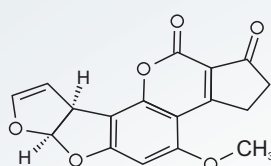
Conceptos básicos de las micotoxicosis y sus mecanismos de control

Debido al rápido crecimiento de la población mundial la producción animal y la seguridad alimentaria se están convirtiendo en desafíos de gran importancia. **Más del 70% de la producción de cereales** [1], a nivel mundial, es dedicada a la producción animal. Debido a esto, cualquier alteración que sufran las materias primas genera grandes impactos en la producción animal.

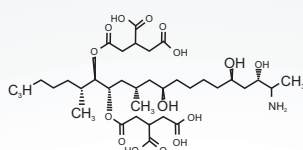
La contaminación de cereales debido a hongos no es algo nuevo, pero debido los cambios climáticos y su gran adaptabilidad, se están convirtiendo en un problema mayor. A consecuencia de los nuevos sistemas de cultivo como la siembra directa y las modificaciones genéticas de crecimiento de los cereales, éstos tienen cada vez mayor presencia de hongos que pueden contaminar desde el cultivo hasta el almacenamiento de los granos.

Si las condiciones ambientales de una colonia de moho se vuelven desfavorables, en lugar de morir, los mohos pueden permanecer latentes y es en estas situaciones de stress que pueden producir una serie de **metabolitos tóxicos: las micotoxinas**.

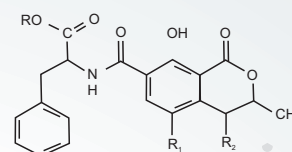
Las micotoxinas son compuestos de diversa estructura molecular, generalmente de bajo peso, producidas por distintos tipos de hongos, siendo los principales: ***Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium***. Estos hongos y sus metabolitos producen pérdidas millonarias en lo que respecta a la calidad de las materias primas: por ejemplo, en Estados Unidos se estima que las pérdidas por cereal contaminado con micotoxinas ascienden a **900 millones de dólares por año** [2].



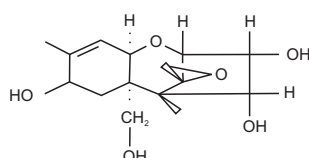
Aflatoxina B1



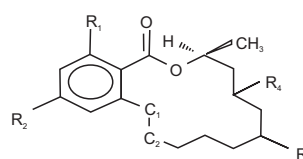
Fumonisina B1



Ocratoxina A



Tricotecenos (T2)



Zearalenona

Figura 1: Estructura molecular de las micotoxinas de mayor prevalencia

Las micotoxinas pueden generarse en diversas etapas de la producción de granos tales, como previo a la cosecha, el transporte, procesamiento y almacenamiento. Tanto la contaminación fúngica como la posterior producción de micotoxinas están estrechamente relacionadas con factores como la humedad, la temperatura, el nivel de oxígeno y la calidad del grano [3] (Tabla 1).

| Micotoxina | Hongo | Condiciones Ambientales |
|-----------------|--|-------------------------|
| Aflatoxinas | <i>Aspergillus flavus/ A.parasiticus</i> | Seco y Cálido |
| DON/Zearalenona | <i>Fusarium graminearum/ F.culmorum</i> | Húmedo y Frio |
| Fumonisinias | <i>Fusarium verticilloides/ F.proliferatum</i> | Seco y Templado |
| Ocratoxina A | <i>Penicillium verrucosum</i> | Cálido y Húmedo |

Tabla 1: Hongos productores de micotoxinas y las condiciones climáticas para su desarrollo

Las mejoras en la calidad del proceso de cosecha, procesamiento y almacenamiento de grano hacen que las micotoxinas producidas durante el período posterior a la cosecha (por ejemplo, **aflatoxinas**) presenten en la actualidad una incidencia menor. Por otro lado, micotoxinas producidas por **Fusarium spp.** se forman en los granos todavía en el campo, por lo que la existencia de estas toxinas no depende de la calidad del almacenamiento. Como resultado, las micotoxinas derivadas de **Fusarium spp.** han tomado una importancia creciente en los programas de control.

Debido a que los métodos de control varían según la micotoxina prevalente en cada caso, resulta de vital importancia conocer la prevalencia de micotoxinas en las distintas zonas, su estacionalidad y las tendencias que pueden ocurrir ya sea en el año como a lo largo de los mismos.













En la actualidad se ha evolucionado mucho en las técnicas de detección de micotoxinas. Hoy en día existen modernas técnicas como HPLC, ELISA, Inmuno-cromatografías y cromatografías de capa fina. A pesar de esto, se siguen presentando varias complicaciones a la hora de detectar micotoxinas:

- Las micotoxinas se suelen presentar en "Hot Spot", es decir, su distribución no es homogénea dentro de un lote de granos.
- Los niveles mínimos de detección a veces están por encima de los niveles máximos recomendados para los animales.
- Las técnicas suelen ser específicas para una micotoxina, por lo que hay que realizar varios análisis para determinar el perfil completo de contaminación.
- Algunas micotoxinas pueden estar "escondidas" y no ser detectadas por los métodos analíticos.

Todo esto hace que se cometan errores a la hora de detectar las micotoxinas y por consiguiente se tomen decisiones equivocadas para su control. Aproximadamente el 88% de los errores en la detección de micotoxinas son errores de muestreo.

La ingestión de micotoxinas, por parte de los animales, puede causar cuadros agudos o crónicos. Las lesiones pueden ser desde severas úlceras, mortandad, alteraciones en el tracto gastrointestinal y disminución de los parámetros productivos y reproductivos. Independientemente de esto, aunque cada tipo de micotoxina incide de manera distinta sobre los animales, las alteraciones más frecuentes de la intoxicación son los cuadros subclínicos los cuales ocasionan grandes pérdidas económicas.

Actualmente se conocen aproximadamente 300 tipos distintos de micotoxinas, pero se estima que pueden existir más de 20.000 tipos diferentes. En la producción animal, algunas de las micotoxinas de mayor relevancia son: **Aflatoxinas, Fumonisinias, Ocratoxinas, Tricotecenos (DON/T2/TH2) y Zearalenonas.**

| | | |
|---|--|---------------------|
|  | Lesiones orales | T2 |
|  | Disfuncion cardiaca | FUM |
|  | Hidrotorax, Edema pulmonar | FUM |
|  | Nefrotoxicidad | AFLA/OTA |
|  | Inmunosupresion | AFLA/T2/DON/FUM/OTA |
|  | Hemorragias | AFLA |
|  | Perdida de Peso | AFLA/FUM/OTA/DON |
|  | Disminucion de la postura, Alteraciones del tamaño de los huevos | - |
|  | Sindrome de mala absorcion, Enteritis, Necrosis | FUM/DON |
|  | Muerte Subita | AFLA |
|  | Disfuncion Hepatotoxicidad | AFLA/FUM |
|  | Abortos, Natimortos, Disminucion de la fertilidad, Alteraciones en el ciclo | Z/T2/DON |

T2: Trichotecenos T2 - DON: Deoxinivalenol - AFLA: Aflatoxina B1 - FUM: Fumonisinina B1 - ZEA: Zearalenona - OTA: Ocratoxina A - DAS: Diacetoxiscirpenol

Tabla2: Resumen de lesiones de las distintas micotoxinas para porcinos y aves.

| | | |
|--|--|---------------------------------|
| | Lesiones orales | T2/DON/DAS |
| | Disfuncion cardiaca | FUM |
| | Hidrotorax, Edema pulmonar | - |
| | Nefrotoxicidad | AFLA/FUM/OTA |
| | Inmunosupresion | AFLA/FUM/DON/Z/OTA |
| | Hemorragias | AFLA |
| | Perdida de Peso | Perdida de AFLA/FUM/DON /DAS/T2 |
| | Disminucion de la postura, Alteraciones del tamaño de los huevos | AFLA/T2 |
| | Sindrome de mala absorcion, Enteritis, Necrosis | AFLA/FUM/DON/T2/DAS |
| | Muerte Subita | FUM |
| | Disfuncion Hepatotoxicidad | AFLA/FUM |
| | Abortos, Natimortos, Disminucion de la fertilidad, Alteraciones en el ciclo | T2/DON/DAS/ZEA |



T2: Trichotecenos T2 - DON: Deoxinivalenol - AFLA: Aflatoxina B1 - FUM: Fumonisina B1 - ZEA: Zearalenona - OTA: Ocratoxina A - DAS: Diacetoxiscirpenol

Tabla2: Resumen de lesiones de las distintas micotoxinas para porcinos y aves.

Como se puede observar las lesiones son muy variadas según el tipo de micotoxina del que se trate. Pero como si esto fuese poco, rara vez se encuentran contaminaciones con una única micotoxina, sino que es común que un grano contaminado presente más de un tipo de micotoxina (Grafico 1), logrando así efectos de sinergismo y potenciamiento (Figura 2).

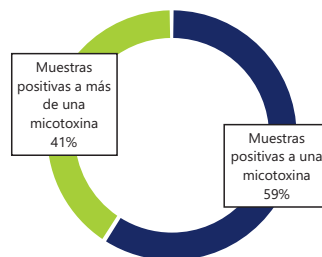
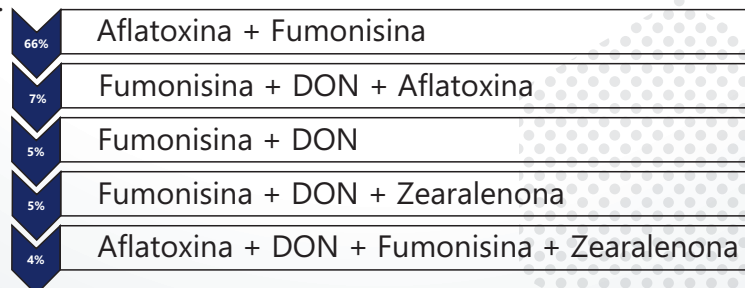


Gráfico 1: Porcentaje de muestras con más de una micotoxina

En base a los relevamientos realizados podemos observar que las combinaciones de micotoxinas más prevalentes son:



Estas combinaciones de micotoxinas pueden generar efectos sinérgicos, es decir, diferentes micotoxinas actúan en distintas etapas de un mismo mecanismo (Ej: En la producción y eliminación de especies reactivas del oxígeno (ROS), T2 incrementa los niveles de ROS, mientras que Aflatoxina B1 disminuye el mecanismo de eliminación de ROS), así como también pueden generar efectos aditivos, en donde, dos o más micotoxinas actúan en distintos lugares causando un efecto resultante superior al causado de manera individual [5]

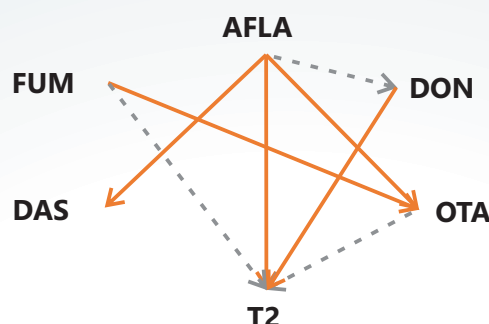


Figura 2: Efecto sinérgico (línea completa) y Efecto aditivo (línea punteada)

De igual forma que existen una amplia variedad de micotoxinas, existe una amplia gama de métodos de control. Estos van desde buenas prácticas de agricultura y almacenamiento, hasta productos enzimáticos con un elevado valor tecnológico (Tabla 3).

| METODO DE CONTROL | AREA DE ACCIÓN | OBJETIVO |
|--|-------------------------|---|
| Buenas Prácticas de Agricultura | Cosecha | Disminuir la contaminación fúngica |
| Productos para el almacenamiento del grano | Almacenamiento | Disminuir la contaminación fúngica y la producción de micotoxinas |
| Adsorbentes | Tracto Gastrointestinal | Evitar la absorción de micotoxinas polares |
| Enzimáticos | Tracto Gastrointestinal | Transformar las micotoxinas en metabolitos atóxicos previo a su absorción |
| Protectores | Órganos | Disminuir el daño de las micotoxinas en los distintos órganos blanco |

Tabla 3: Métodos de control de micotoxinas

Históricamente, los ácidos inhibidores del crecimiento de hongos y los adsorbentes minerales figuran como la principal estrategia para el control de micotoxinas; sin embargo, las mejoras tecnológicas permiten obtener nuevas perspectivas de control en la producción animal.

Los inhibidores fúngicos impiden el crecimiento vegetativo de los hongos y, consecuentemente, la formación de micotoxinas durante el almacenamiento de grano.

Los adsorbentes son compuestos orgánicos, minerales o mixtos, que actúan mediante interacción física y/o química que interactúan con las micotoxinas, secuestrándolas y logrando que atraviesen el tracto gastrointestinal sin ser absorbidas. La eficacia de los mismos depende de la interacción con las micotoxinas y por lo tanto de las estructuras de las mismas. Es así como aquellas que sean más pequeñas y más polares podrán ser secuestradas con mayor facilidad (6).

Por ejemplo, los Aluminosilicatos son compuestos con una excelente eficacia para la adsorción de Aflatoxinas (7), pero no parecieran tener efecto sobre Ocratoxinas (8).



Tabla 3: Grado de polaridad de las micotoxinas

En los últimos años, el uso de enzimas para la inactivación de las micotoxinas, se ha convertido en una herramienta segura y eficaz, con efectos sobre una amplia gama de micotoxinas que en su mayoría no están adecuadamente controladas a través de los métodos tradicionales.

Las enzimas son estructuras ampliamente conocidas por su efecto en el metabolismo de los seres vivos, con actividades que van desde la contracción muscular hasta el intercambio gaseoso en los pulmones. Las enzimas son sustancias orgánicas de naturaleza normalmente proteica con actividad intracelular y extracelular. Tienen funciones catalíticas de reacciones químicas, permitiendo que se produzcan en la forma y velocidad necesarias. Esta capacidad catalítica de las enzimas también las hace adecuadas para aplicaciones industriales, tales como la producción de antibióticos a gran escala y mejorar la digestibilidad de los nutrientes en las dietas de monogástricos (por ejemplo, fitasas).

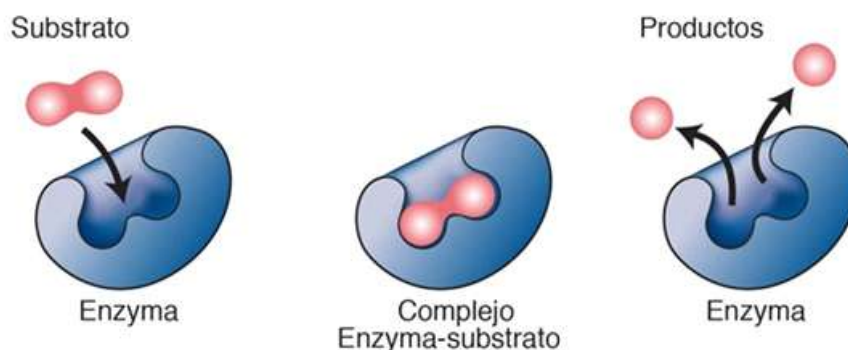


Figura 4: Mecanismo de acción enzimática

Dentro de este aspecto, los mecanismos de inactivación enzimática resultan en una plataforma eficaz para la detoxificación de micotoxinas que están apenas controladas por mecanismos tradicionales en la producción animal.

Estudios en las áreas de la microbiología y enzimología condujeron al descubrimiento de las enzimas secretadas por microorganismos capaces de metabolizar las micotoxinas. Este mecanismo se llama detoxificación, biotransformación, o inactivación enzimática. La detoxificación de micotoxinas ha sido conocida desde los años 60, en los que se han publicado los primeros informes de biotransformación de toxinas por microorganismos. Desde un punto de vista práctico, el primer resultado significativo llegó a mediados de los años 80 cuando se demostró la capacidad de inactivación de toxina T-2. Este fue el resultado de la observación de la fisiología de los rumiantes, que no mostraron signos de intoxicación por ciertas micotoxinas. Por lo que estudiando el fluido

ruminal se lograron aislar algunos microorganismos capaces de metabolizar la porción tóxica de los tricotecenos. Fue entonces que se demostró la existencia de ciertos microorganismos que secretan enzimas capaces de escindir las micotoxinas en enlaces específicos, dando lugar a metabolitos no tóxicos o de baja toxicidad y de manera irreversible. Luego utilizando técnicas de biotecnología y fermentación industrial, se logró viabilizar la producción de estas enzimas para la inactivación de las micotoxinas en gran escala, obteniendo un producto capaz de ser comercializado en grandes volúmenes.

Puesto que las enzimas son muy específicas (catalizan reacciones químicas en un punto dado en una molécula) y dependen de un medio característico (temperatura, pH, tiempo, etc.), nuestros investigadores buscaron aquellas que son específicas para las micotoxinas de **importancia en la producción de monogástricos**. Con estos objetivos, hemos desarrollado el **Inactivator®**, un **inactivador enzimático eficaz y seguro para su uso en la alimentación animal, especialmente centrado en el control de las micotoxinas de mayor prevalencia en monogástricos**.

Inactivator® es un **inactivador enzimático de micotoxinas** con acción específica sobre:

- * Tricotecenos
- * Ocratoxina
- * Fumonisina
- * Zearalenona

Esta formulado a base del **Saccharomyces cerevisiae**, el cual posee las enzimas necesarias para la inactivación enzimática de las micotoxinas.

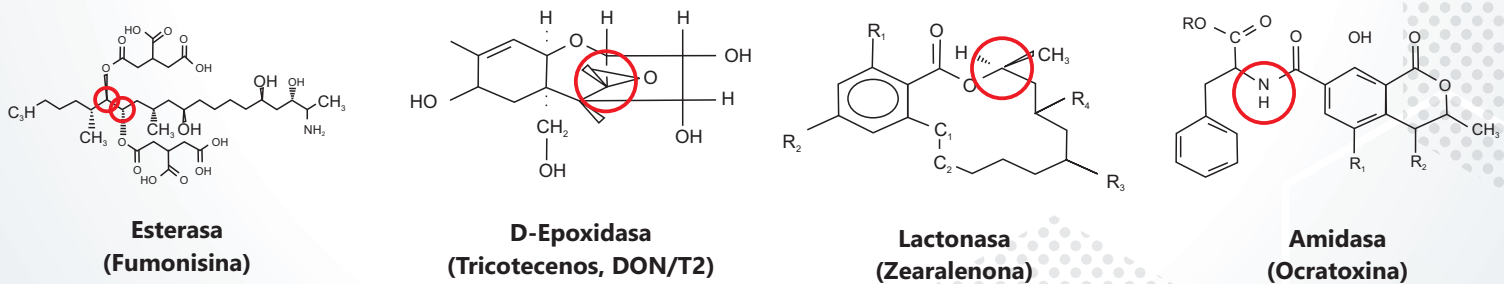


Figura 5: Enzimas presentes en INACTIVATOR® y las reacciones que catalizan

| ADSORCIÓN | DESORCIÓN | EFICIENCIA DE ADSORCIÓN |
|-----------|-----------|-------------------------|
| 96 % | 10 % | 86 % |

Figura 5: Actividad de adsorción sobre Aflatoxinas. acción sobre 88 ppb.

Si bien **Inactivator®** no posee acción enzimática sobre Aflatoxinas, durante el proceso de producción se le incorporan **adsorbentes orgánicos e inorgánicos**, obteniendo así una actividad secuestrante sobre **Aflatoxinas** (Tabla 4).

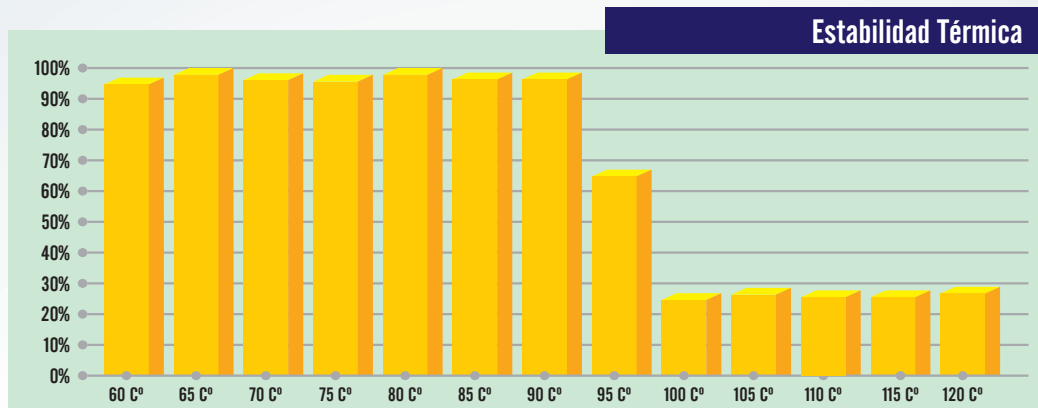


Gráfico 2. Estabilidad térmica de Inactivator® después de 30 minutos a las temperaturas indicadas. Fuente, Dr Bata Ltd.

Tabla 4: Acción sobre 88 ppb de Aflatoxina

Como las enzimas son proteínas con una estructura funcional, es importante que sean termoestables. Las enzimas presentes en **Inactivator**® permanecen activas incluso después de la peletización de las raciones así como también son capaces de resistir las altas temperaturas en el interior de los silos.

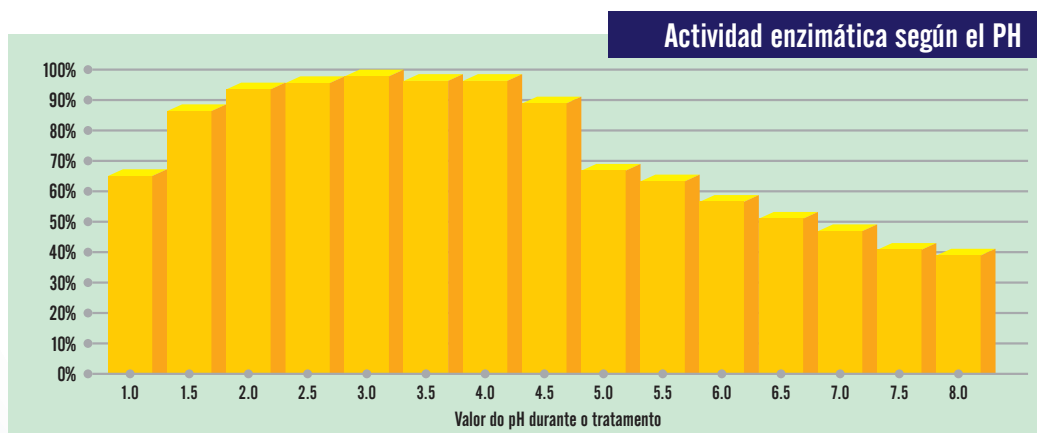


Gráfico 3. Actividad de Inactivator® según el pH del medio. Fuente Dr Bata Ltd.

Las enzimas varían su velocidad de catalización en función del pH en el que se encuentren. Para que la actividad enzimática, presente su pico de acción, en el lugar de mayor interés para el control de micotoxinas, es esencial que las enzimas estén adaptadas para el ambiente del tracto digestivo de los animales monogástricos. Para ello se deben tener enzimas que actúen sobre la porción anterior del tracto digestivo (estómago) por dos razones principales: La inactivación ocurre antes de la absorción intestinal de las micotoxinas lo que minimiza la toxicidad asociada con ellos. Además, como la reacción enzimática de inactivación depende del tiempo, la actividad se vuelve más eficiente en estas porciones del tracto digestivo, ya que el tiempo de retención de alimentos permite un mayor tiempo de contacto y la consecuente acción de las enzimas

Es por esto que **Inactivator**® es una herramienta eficaz para el control de micotoxinas, logrando su destrucción en las primeras porciones del tracto gastrointestinal, evitando así, su posterior absorción.

Referencias

1- Charles H.; Godfray J.; Beddington J.R.; Crute I.R.; Haddad L.; Lawrence D.; Muir J. F.; Pretty J.; Robinson S.; Toulmin C.

"Food security: feeding the world in 2050"

Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci. 365, (pag 2765 a 3097)

2- Desjardins, A.; Maragos, C.; Norred, W.; Pestka, J.; Phillips, T.; Vardon, P.; Whitaker, T.; Wood, G.; van Egmond, H.

"Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human System"

Council for Agricultural Science and Technology: Ames, IA, USA, 2003.

3- Shurson, J.

"Understanding Molds and Mycotoxins in Corn and DDGS"

Department of Animal Science; University of Minnesota

4- Bryden, W.L.

"Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security."

Anim. Feed Sci. Tech. 2012, 173, 134–158.

5- Jaramillo, M.

"Aditividad, Sinergismo y Antagonismo entre Micotoxinas y sus Efectos en Pollos de Engorde"

<https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/aditividad-sinergismo-antagonismo-entre-t26599.htm>

6- Teixeira, V. G; Coutinho, F. M. B.; Gomes, A. S.

"Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de Divinilbenzeno."

Química Nova, v. 24, n. 6, p. 808-818, 2001.

7- Scheideler, S.E.

"Effects of various types of aluminosilicates and aflatoxin B1 on aflatoxin toxicity, chick performance, and mineral status."

Poultry Science, v. 72, p. 282–288, 1993.

8- Santin, E. et al

"The effects of ochratoxin/aluminosilicate interaction on the tissues and humoral immune response of broilers."

Avian Pathology, v. 31, p.73–79, 2002.