



Universidad
Popular del Cesar

DetECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MICOTOXINAS POR EL MÉTODO DE ELISA EN MATERIAS PRIMAS Y ALIMENTOS EN UNA PLANTA AVÍCOLA

Trabajo de grado desarrollado por

Darealis Angelica Meza Jimenez
Ismario Jose Martinez Contreras

Presentado al

Departamento de Biología, Microbiología y afines
Facultad de Ciencias Básicas
Universidad Popular del Cesar

Línea de Investigación
Bioprospección

Director: **Loris Carrillo, Docente**. – Universidad Popular del Cesar, Colombia
Co-Director: **Patricia Herrera, Docente** – Universidad Popular del Cesar, Colombia.

Valledupar, Colombia.
Abril - 2026



Resumen

Las toxinas naturales que representan mayor peligro para la salud humana y animal son las micotoxinas, producidas por diversos géneros de hongos de fácil diseminación en cultivos de todo el mundo. Dependiendo de la concentración, tipo de toxina y tiempo de exposición, pueden ocasionar efectos nocivos, por lo que se debe realizar seguimiento a la inocuidad alimentaria en toda la cadena productiva. Este estudio buscó determinar la presencia de cuatro micotoxinas: aflatoxinas, ocratoxina, deoxinivalenol y T-2/HT-2 en 11 muestras de maíz, 7 muestras de trigo salvado, 3 muestras de soya y 9 concentrados de alimentos, para un total de 30 muestras de materias primas y alimentos destinados al consumo para aves, en una empresa avícola ubicada en Valle del Cauca – Colombia. A partir de la caracterización macroscópica y microscópica de hongos aislados de las materias primas, se logró identificar los géneros *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. mediante la observación de características morfológicas como textura, coloración, micelio, estructuras reproductivas. Asimismo, por medio del ensayo de enzimoanálisis de adsorción (ELISA) y el software Neogen Veratox Software v 3.9 se logró cuantificar la presencia de aflatoxinas, ocratoxina, deoxinivalenol y T-2/HT-2 de forma rápida, sensible y precisa. Por medio del método estadístico Shapiro-Wilk se determinó que los datos obtenidos no presentaron distribución normal y se realizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis encontrando diferencias significativas en las concentraciones de ocratoxinas, por lo tanto, se implementó el análisis post-hoc de Dunn, el cual indicó que existe diferencia entre concentrado de alimento frente a maíz y concentrado de alimento frente a trigo salvado. Los hallazgos evidenciaron una distribución heterogénea entre las micotoxinas, con potencial riesgo de afectar la industria avícola.

Palabras clave: aflatoxinas, ocratoxina, deoxinivalenol, enzimoanálisis, hongos



Contenido

Resumen	2
Introducción	4
Problema	5
Justificación	7
Objetivos	9
General	10
Específicos	10
Marco Referencial	10
Antecedentes	11
Marco teórico	12
<i>Micotoxinas</i>	12
<i>Aflatoxinas</i>	13
<i>Ocratoxinas</i>	14
<i>Deoxinivalenol</i>	15
<i>T-2/HT-2</i>	16
<i>Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA)</i>	17
Marco legal	18
Metodología	18
Diseño metodológico y características del estudio	19
<i>Enfoque y tipo de estudio</i>	19
<i>Universo, población y muestra</i>	19
<i>Criterios de inclusión y exclusión</i>	19
<i>Variables</i>	20
<i>Delimitaciones geográficas y temporales</i>	20
<i>Consideraciones éticas</i>	20
Técnicas y procedimientos experimentales	21
<i>Aislamiento e identificación microbiológica de hongos</i>	21
<i>Condiciones de cultivo</i>	21
<i>Métodos analíticos</i>	22
<i>Identificación de Ocratoxinas</i>	22
<i>Identificación del Deoxinivalenol (DON).</i>	23
<i>Identificación de Aflatoxinas.</i>	24
<i>Identificación de la toxina T-2/HT-2</i>	25
<i>Procesamiento y análisis de datos</i>	26
Resultados	26
<i>Caracterización de géneros de hongos potencialmente productores de micotoxinas en materias primas</i>	27
<i>Concentraciones de aflatoxinas, ocratoxina, T-2/HT-2 y DON en materias primas y alimentos avícolas</i>	28



<i>Análisis estadístico de las concentraciones de las micotoxinas según el tipo de muestras</i>	30
Discusión	35
Conclusiones	38
Recomendaciones	39
Bibliografía	40
Anexos	47



Introducción

Las micotoxinas son producto del metabolismo secundario de hongos filamentosos, las cuales son tóxicas y se encuentran ampliamente distribuidas en el ambiente, principalmente las producidas por los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Las aflatoxinas, ocratoxinas, el deoxinivalenol y las toxinas T-2/HT-2 representan mayor importancia e impacto en productos agrícolas y forrajes, especialmente en granos como maíz, trigo, arroz, cebada y legumbres como soya, al ser la materia prima de alimentos balanceados destinados a la producción avícola es indispensable garantizar que sean inocuos, asegurando así la salud de las aves y la seguridad alimentaria. La presencia de estas toxinas representa un alto riesgo porque afectan directamente la productividad y salud de las aves; esto se ve reflejado en el bajo consumo de alimento, pérdida de peso, baja producción de huevos y alta mortalidad. El consumo de aves o productos derivados de animales que ingieren alimento contaminado con micotoxinas representa un riesgo en la salud pública, dependiendo de la dosis ingerida y tiempo de exposición, puede ocasionar daño hepático, renal, alteración genética, inmunodeficiencia e incluso cáncer. Factores como la temperatura, especialmente en países tropicales como Colombia, favorecen el fácil desarrollo y propagación de hongos productores de micotoxinas, por lo tanto, son necesarios estudios que caractericen y cuantifiquen la presencia de estas micotoxinas en materias primas y alimentos terminados destinados a la producción avícola.

En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo determinar la presencia de micotoxinas en materias primas y alimentos de consumo avícola mediante el ensayo de enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA), el cual nos permite identificar la presencia de micotoxinas de forma rápida, sensible y precisa. Se espera que a través de esta investigación se logre identificar y caracterizar géneros de hongos potencialmente tóxicos en materias primas, identificar y cuantificar la concentración de las principales micotoxinas y determinar su prevalencia. De esta manera, se busca garantizar que los animales consuman alimentos seguros, prevenir riesgos en la salud humana y, al mismo tiempo, reducir las pérdidas económicas asociadas a la contaminación por micotoxinas. De igual manera se busca generar nuevos conocimientos, que servirán como base para futuras investigaciones relacionadas con las micotoxinas y la técnica ELISA.



Problema

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de cepas toxigénicas de hongos filamentosos, que pueden encontrarse ampliamente distribuidos en el ambiente y contaminar las materias primas en diferentes etapas de la cadena productiva, incluyendo el cultivo, la cosecha, el transporte y el almacenamiento de los forrajes. Entre las micotoxinas de mayor relevancia en los productos agrícolas están las aflatoxinas (AF), ocratoxina A (OTA), los tricotecenos, como el deoxinivalenol (DON), y las T-2/HT-2; estas suelen detectarse con frecuencia en cereales (maíz, arroz, trigo, cebada) y legumbres (soya), materias primas ampliamente utilizadas como base de los productos alimenticios en la industria avícola. Debido a su impacto en la seguridad alimentaria, es importante garantizar la calidad microbiológica, organoléptica y fisicoquímica de estos insumos (Agriopoulou et al., 2020; Yu & Pedroso, 2023).

Países tropicales, cálidos y húmedos como Colombia proporcionan las condiciones ambientales favorables para que las cepas de hongos toxigénicos puedan crecer y diseminarse en los alimentos desde su producción en el campo, incrementando así el riesgo de exposición a micotoxinas en la salud humana, representando un desafío para el control e inocuidad alimentaria. Muchos de estos compuestos tóxicos son químicamente estables y capaces de soportar el calor y las diferentes condiciones de almacenamiento de los alimentos, dificultando su eliminación después de formados; por lo tanto, se debe realizar una vigilancia y control de estos contaminantes debido a sus implicaciones directas sobre la salud humana y animal, además de las grandes pérdidas económicas en toda la cadena de suministro en el sector agrícola y pecuario. Desde el punto de vista toxicológico, las micotoxinas pueden ocasionar efectos nocivos, cancerígenos, que suprimen el sistema inmune, generando efectos mutagénicos y teratogénicos (Ganesan et al., 2021).

En la industria avícola los efectos negativos ocasionados por las micotoxinas dependen del tipo de micotoxina presente en el alimento, nivel de toxicidad en el ave, tiempo de consumo y cantidad del alimento contaminado, estos factores inciden directamente en la productividad, evidenciándose descenso en el crecimiento, calidad de huevos, bajo consumo de alimento, pérdida de peso y aumento en la mortalidad. Asimismo, los síntomas clínicos que se observan



con frecuencia en las aves incluyen: alteraciones neurológicas, caídas de plumas, deposiciones líquidas, coloración pálida de la piel y membranas mucosas, problemas con la coagulación de la sangre y fragilidad ósea (Guerrero et al., 2025). Dentro de los órganos objetivos de las micotoxinas se encuentra el intestino delgado, ocasionando daño gastrointestinal en las aves, perjudicando la absorción de nutrientes y por lo tanto reduciendo la ganancia de peso, eficiencia alimentaria y crecimiento, además, afecta órganos reproductores: ovarios, útero, vagina, glándulas mamarias y testículos, ocasionando una reducción en la producción y calidad de los huevos. Al afectar el hígado, los riñones y los ovarios, habrá menor síntesis de proteínas y minerales, y una baja absorción de calcio, generándose así cascaras de huevo frágiles y delgadas, con yemas acuosas y pálidas (Akinmoladun et al., 2025).

El consumo humano de alimentos contaminados, específicamente carne de aves y huevos representa un problema de salud pública y la seguridad alimentaria, debido a que se transmiten metabolitos tóxicos al ser humano. El efecto en la salud está influenciado por aspectos como la cantidad de micotoxina presente, el tipo de exposición y la combinación de toxinas particulares. Las consecuencias causadas por las micotoxinas en humanos incluyen efectos nocivos como nefrotóxicos, hepatotóxicos y genotóxicos, además de causar cáncer e inmunodeficiencia (Vallejo y Posada, 2018). La contaminación por la ingesta de productos alimentarios contaminados por micotoxinas no se elimina siempre por medio de la cocción de los alimentos, congelación o procesos de conservación industriales, lo cual aumenta el riesgo de exposición crónica a los consumidores (Olariu et al., 2025).

Debido a las repercusiones en la salud humana, animal y potenciales pérdidas económicas en el sector avícola, surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuáles son las concentraciones de las aflatoxinas, ocratoxinas, toxinas T-2/HT-2 y el deoxinivalenol en materias primas y alimentos para aves?



Justificación

Según la Federación Nacional de Avicultores de Colombia, la avicultura cumple un papel importante en la economía, En el año 2023 se registró una producción global de 1.011.864 toneladas de huevos y 1.817.130 toneladas de carne de pollo (Ávila et al. 2024). Por lo tanto, es crucial asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos que consumen las aves y las materias primas utilizadas en su elaboración, para prevenir riesgos tanto en la salud de los animales como en la salud humana. Además, esto ayuda a prevenir pérdidas económicas significativas en los sectores de la alimentación y la agricultura. En este contexto, las micotoxinas como sustancias tóxicas de origen biológico pueden impactar significativamente la seguridad alimentaria. (Awuchi et al., 2021; Beia et al., 2023).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (2023), las micotoxinas son las toxinas naturales que representan el mayor peligro para la salud humana. Estos son metabolitos secundarios generados por hongos de varios géneros y especies, siendo los más destacados los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Las micotoxinas suelen estar más presentes en cereales, frutos secos, semillas oleaginosas, especias, cacao, frutos secos, y otros productos; estos metabolitos pueden aparecer en cualquier momento de la cadena alimenticia, desde los cultivos hasta los productos terminados como los alimentos procesados. En los animales las micotoxinas son capaces de ocasionar afecciones agudas y crónicas, como hemorragias, hepatitis, muerte, disminución de productividad, etcétera, en humanos diferentes estudios las relacionan con el cáncer (Ramos et al. 2020), no obstante, a pesar de las diferentes complicaciones que traen las micotoxinas, son escasas las investigaciones sobre su aparición en los alimentos destinados de consumo avícola y en las materias primas utilizadas para su producción.

El ensayo de enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA) es una técnica de detección rápida, sencilla, sensible y precisa. En el caso del ELISA competitivo directo, tanto la micotoxina que se encuentre en la muestra a analizar como la de micotoxina marcada en el conjugado, compiten por unirse al anticuerpo específico que está inmovilizado (Adunphatcharaphon et al., 2022). En términos generales, la prueba está fundamentada en la correlación existente del complejo antígeno-anticuerpo junto con la presencia de sustratos cromogénicos; además, los resultados se obtienen mediante una lectura espectrofotométrica (Janik et al., 2021). A pesar de



ser una técnica muy conocida, existen pocos estudios que utilicen este método para identificar micotoxinas en los alimentos destinados al consumo aviar. Por esta razón, se opta por el método ELISA por su economía, rapidez y facilidad de aplicación para realizar esta investigación.

En el campo de la microbiología este estudio aporta información sobre la presencia y los niveles de concentración de micotoxinas en materias primas y alimentos balanceados en la avicultura, ampliando así el conocimiento de la distribución de estos compuestos en el sector; además, la aplicación de la técnica ELISA permite evaluar qué tan útil y rápido es para detectar micotoxinas, proporcionando así bases científicas para la toma de decisiones con respecto a evaluar riesgos, formular estrategia de control y vigilancia, y buscar la calidad e inocuidad de los alimentos destinados al consumo animal.

Este estudio tiene como objetivo determinar la presencia o ausencia de micotoxinas, incluyendo las aflatoxinas, ocratoxinas, deoxinivalenol y T-2/HT-2, y conocer las concentraciones en las que están presentes en los alimentos balanceados que consumen las aves y en las materias primas utilizadas en esos alimentos, implementando la técnica ELISA, cuyo ensayo es escaso para este tipo de investigaciones.

Los resultados de este estudio permitirán prevenir que los animales que reciben las muestras que serán analizadas consuman alimentos de excelente calidad y con concentraciones mínimas o inexistentes de micotoxinas. Asimismo, se quiere prevenir que estas aves, que finalmente se convierten en fuente de proteína animal, no representen un riesgo para el consumidor final. Por otro lado, también busca mitigar las pérdidas económicas ocasionadas por las altas concentraciones de micotoxinas en los alimentos.



Objetivos

General

Determinar la presencia de micotoxinas en materias primas y alimentos de consumo avícola mediante el método ELISA competitivo directo.

Específicos

- Caracterizar géneros de hongos potencialmente productores de micotoxinas en las materias primas.
- Cuantificar la concentración de las micotoxinas que contaminan las materias primas y alimentos de consumo para aves mediante el Neogen Veratox Software v 3.9.
- Identificar las principales micotoxinas que contaminan la materia prima y alimentos avícolas mediante el método de ELISA competitivo directo.



Marco Referencial

Antecedentes

Las micotoxinas son de importancia a nivel agroindustrial y pecuario por las pérdidas económicas que representan, además de su impacto en la salud pública, razón por la cual en los últimos años se han realizado investigaciones para la detección y control de estas micotoxinas. Un estudio realizado por Agustín Guerrero Canelo y Juan Parreño (2018), en la provincia de Chíncha en Perú, buscó determinar la presencia de micotoxinas en soya destinada a la producción avícola, por medio de técnicas de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), para ello analizaron 20 muestras de soya de cinco distritos y obtuvieron como resultado la presencia de aflatoxina B1, ocratoxina A y T-2 en el 100% de las muestras, en donde las OTA superó en un 20% los niveles máximos permitidos de 50 partes por billon (ppb) y T-2 superó en un 60% los niveles máximos permitidos (150 ppb), por lo tanto, los autores determinaron un riesgo para la salud humana y animal el consumo de soya proveniente de los cinco distritos analizados.

Una investigación realizada en la Universidad de Hainan - China, desarrolló una fracción de unión al antígeno presentado en fagos y estableció la técnica ELISA basada en la fracción de unión al antígeno desarrollada, permitiendo así detectar con alta selectividad la micotoxina zearalenona presente en la cadena de producción alimentaria de cereales y piensos (Chen et al., 2025).

Un estudio realizado en Italia desarrolló un ELISA competitivo para cuantificar la aflatoxina M1 en leche cruda, para ello aislaron y diseñaron anticuerpos monoclonales altamente específicos a partir de cultivos moleculares en plantas (vegetales), ya que las células vegetales expresan con éxito anticuerpos, logrando niveles de precisión óptica de 25 y 50 ng/L y cuantificando la aflatoxina M1 en un rango de 5 - 110 ng/L con límites de detección de 3 ng/L en leche cruda (Capodicasa et al., 2022).

La investigación realizada en la Universidad de Ciencia y Tecnología de Pekín - China, realizaron una detección rápida de las micotoxinas aflatoxina B1 (AFB1), zearalenona (ZEN) y deoxinivalenol (DON) en maíz, arroz y cacahuete por medio del inmunoensayo de flujo tardío (LFIA), para ello hicieron pretratamiento a las muestras a analizar sin solventes orgánicos,



posteriormente usaron tiras reactivas de LFIA combinadas y dispositivos de detección portátil, obteniendo así límites de detección en el maíz de 0,90 µg/kg, 7,11 µg/kg y 10,6 µg/kg, para las micotoxinas AFB1, ZEN y DON respectivamente. Los rangos usados para la detección de AFB1, ZEN y DON fueron: 1,25–40 µg/kg, 20–2000 µg/kg y 35–1500 µg/kg respectivamente, el método contó con una precisión de $86 \pm 2\%$ a $108 \pm 7\%$ en los materiales de referencia certificados, resultados que indican que las micotoxinas evaluadas en maíz, arroz y cacahuete pueden determinarse cuantitativamente de forma precisa (Li et al., 2023).

Un estudio realizado por Salazar-González et al. (2020) tuvo como objetivo cuantificar las micotoxinas producidas por especies del género *Fusarium*, a partir de 206 aislados obtenidos de diversos cultivos y localidades ubicados en los departamentos Tolima, Córdoba, Huila y Valle de Colombia. Por medio de PCR lograron amplificar 14 regiones asociadas a las micotoxinas deoxinivalenol, fumonisinas y zearalenona, posteriormente procesaron las muestras para realizar un análisis cuantitativo utilizando un kit ELISA, obteniendo como resultados finales la presencia de micotoxinas en niveles elevados a los permitidos por la Unión Europea.

Morris Navarro (2011) realizó un estudio en cinco departamentos del Caribe colombiano (Bolívar, Atlántico, Magdalena, Cesar y La Guajira), el cual buscó determinar la presencia y niveles de aflatoxinas en 46 muestras de arroz y 24 muestras de maíz recolectadas de manera aleatoria en fábricas y comercializadoras. Para ello se empleó la técnica analítica Cromatografía Líquida de Alta Resolución, con la cual no se detectó la presencia de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en ninguna de las muestras de arroz. Sin embargo, se detectó la presencia de aflatoxinas B1 y B2 en niveles de 2,4-12,5 ppb y 2 ppb respectivamente, además, las aflatoxinas G1 y G2 no se detectaron.

Marco teórico

Micotoxinas

Los hongos se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente, dentro de los cuales podemos encontrar algunos géneros como *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, que tienen la capacidad de liberar metabolitos secundarios (micotoxinas) los cuales pueden contaminar productos agrícolas en cualquier fase de la cadena productiva (producción, transformación,



conservación, distribución, comercialización), principalmente en cultivos a base de cereales, legumbres y sus derivados. Las micotoxinas son compuestos policetónicos de bajo peso molecular que se forman durante el crecimiento del hongo, ya sea al finalizar la fase exponencial o al iniciar la fase estacionaria; se clasifican en agudas o crónicas. La aguda se caracteriza por la respuesta tóxica rápida tras la contaminación en altas concentraciones y la crónica es asociada a la ingesta prolongada de dosis bajas, lo que puede inducir efectos cancerígenos, renales y de inmunosupresión (Guerrero A., & Parreño J. 2018).

Según Awuchi et al. (2021), se han reportado más de 500 micotoxinas. Sin embargo, según la Organización Mundial de la Salud (2023), las micotoxinas que suponen un mayor riesgo de toxicidad a la salud humana y animal son las aflatoxinas, la ocratoxina A, la patulina, las fumonisinas, la zearalenona, nivalenol y la deoxinivalenol.

La contaminación por micotoxinas se puede dar por inhalación, ingesta o contacto con productos alimenticios contaminados, por lo tanto, son consideradas contaminantes tóxicos emergentes que afectan a humanos y animales. Los hongos tienen la capacidad de producir y liberar más de dos micotoxinas, es decir, la exposición tiende a ocurrir simultáneamente con varias toxinas, siendo los niños los más susceptibles a los efectos inmunológicos, nerviosos, endocrinos y neurológicos (Awuchi et al., 2021; Awuchi et al., 2022).

El 25% de los cultivos alimentarios mundiales, incluidos muchos alimentos básicos, se ven afectados por hongos productores de micotoxinas (Navale et al., 2021), estas cifras evidencian la magnitud del problema a nivel mundial. La contaminación por micotoxinas es común en países con climas cálidos, ya que la temperatura de crecimiento de los hongos toxigénicos oscila entre 20°C y 37°C y la temperatura óptima para la producción de micotoxinas es de $25,5 \pm 5,5$ °C, además, es necesaria una actividad de agua por encima de 0,90. Todas estas condiciones acompañadas de un almacenamiento inadecuado y control de calidad deficiente permiten el desarrollo de los hongos productores de micotoxinas en alimentos (Al-Jaal et al., 2019).



Aflatoxinas

Dentro de las micotoxinas encontramos un grupo específico llamado aflatoxinas, distribuidas en todo el mundo y producidas principalmente por el género *Aspergillus* y las especies *A. flavus*, *A. bombycis*, *A. pseudotamarii*, *A. nomius* y *A. parasiticus*. Tienen la facilidad de diseminarse y contaminar cultivos y alimentos como cereales, legumbres, frutas, semillas, verduras, frutos secos, etc. Además, son consideradas las micotoxinas más importantes con respecto a su abundancia, toxicidad, frecuencia e impacto en la salud humana. Las aflatoxinas están comprendidas por cuatro grupos que son: aflatoxina B1 (AFB1), aflatoxina B2 (AFB2), aflatoxina G1 (AFG1) y aflatoxina G2 (AFG2), estas toxinas están implicadas a nivel alimenticio (cereales, frutos secos, legumbres) y se basan en la fluorescencia al ser expuestas a luz ultravioleta (fluorescencia verde - G/ fluorescencia azul - B). Por otro lado, podemos encontrar las aflatoxinas M1 (AFM1) y M2 (AFM2), las cuales son subproductos metabólicos de las aflatoxinas B1 y B2 respectivamente; estas se producen en el organismo de un animal que consumió alimento contaminado (con las aflatoxinas B1, B2) y se detectan a través de la leche (Awuchi et al., 2021). Las aflatoxinas son cancerígenas, inmunosupresoras, genotóxicas y mutagénicas; por lo tanto, representan un riesgo importante para la salud humana y animal el consumo de alimentos contaminados con este tipo de micotoxina. Con respecto a los niveles de toxicidad, la AFB1 es la más tóxica, relacionada con carcinoma hepatocelular y aflatoxicosis aguda en animales, la cual se manifiesta con signos como: depresión, pérdida de peso, daño hepático, hemorragia gastrointestinal, baja calidad en la leche y huevos, por otra parte, la AFB1 se transmite a los humanos a partir de productos avícolas (Ghaemmaghami et al., 2023). Las especies de *Aspergillus* crecen en climas cálidos, húmedos en un rango de 16-35°C, además, son resistentes al calor con efectos mutagénicos y teratogénicos, por lo que contaminan los sistemas de almacenamiento y conservación ocasionando pérdidas en el sector agrícola. Existen diversos organismos reguladores que establecen límites de contaminación por aflatoxinas en los alimentos teniendo en cuenta los factores regionales, en el caso de la Comisión Europea, determinó un límite de 2 µg/kg para la aflatoxina B1 y 4 µg/kg para las aflatoxinas totales, por otro lado el Codex propone un límite de 0,5 y 15 µg/kg para las aflatoxinas en alimentos, por último el Programa Mundial de Alimentos recomienda un límites de 10 µg/kg de aflatoxinas en alimentos (Okechukwu et al., 2024).



Ocratoxinas

Son metabolitos secundarios producidos por hongos toxigénicos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, en su composición química hay fracciones de fenilalanina e isocumarina unidas por medio de un enlace amida. Dentro de este grupo se encuentran distribuidas en el medio ambiente la ocratoxina A (OTA), la ocratoxina B (OTB) y la ocratoxina C (OTC), las cuales son producidas por las especies *A. ochraceus*, *A. niger*, *A. carbonarius* y *P. verrucosum*. La OTA es más frecuente y diez veces más tóxica que las OTB y OTC, además, es distintiva al ser la única ocratoxina clorada. La OTA produce varios efectos tóxicos como neurotoxicidad, hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, inmunotoxicidad, teratogenicidad, mutagenicidad, genotoxicidad, embriotoxicidad, toxicidad testicular y puede ser carcinogénica en los humanos y animales (Wang et al., 2022). Las ocratoxinas se encuentran distribuidas a nivel mundial, afectan cultivos y alimentos como cereales, legumbres, semillas, frutos secos, verduras, lácteos y sus derivados (Yu & Pedroso, 2023). La OTA se encuentra presente en la cáscara de los granos, por lo que retirar la capa externa del grano se traduce en reducir la concentración de OTA en un 50%. La OTA no se degrada con facilidad y es estable, sin embargo, la exposición prolongada a temperaturas superiores a 250°C reduce su concentración, su producción necesita condiciones óptimas de hierro, zinc, cobre, y dependiendo de la especie del hongo, van a variar los requerimientos de temperatura, humedad, pH y actividad del agua. La OTA tiende a acumularse en los órganos de los animales a causa de su alta afinidad proteica y en particular por la albúmina plasmática producida en el hígado, la ocratoxicidad es un factor dosis-dependiente y afecta el sistema inmunitario de las aves, además de disminuir la ingesta de alimento y el peso corporal (Awuchi et al., 2021), en dosis altas provoca una desmejora de la calidad de la cáscara y la incubabilidad en ponedoras y reproductoras, y dependiendo de la dosis en el perfil histopatológico se reflejan alteraciones de graves a moderadas en el riñón, la bolsa de Fabricio, el hígado, el timo, el bazo, el corazón y los pulmones (Mehtab et al., 2022). La OTA representa importancia en la salud pública al estar relacionada con tumores uroteliales, nefropatía intersticial crónica, cáncer testicular y nefropatía endémica de los Balcanes. Los límites máximos permitidos de OTA en alimentos por la Unión Europea son: 10,0 µg/kg máximo para el café instantáneo, 5 µg/kg para el café tostado, 2 µg/kg para jugos de uva, 2 µg/kg para el vino, 3 µg/kg para productos alimenticios a base de cereales y 5 µg/kg para los granos de cereales sin procesar (Awuchi et al., 2021).



Deoxinivalenol

La micotoxina deoxinivalenol (DON), también conocida como vomitocina, hace parte del grupo B de los tricotecenos producidos por hongos del género *Fusarium*, principalmente por las especies de *F. culmorum* y *F. graminearum*, contaminan fácilmente cultivos de arroz, avena, centeno, maíz, verduras y alimentos de origen animal (leche, huevo, etc.). El DON tiene implicaciones en la salud humana y animal, se caracteriza por causar diarrea, vómito y su exposición prolongada a bajas concentraciones produce anorexia, leucocitosis, producción anormal de la inmunoglobulina A (IgA), pérdida de peso, crecimiento retrasado, hemorragias, alteración a nivel reproductivo y desarrollo (Yu & Pedroso, 2023; Lin et al., 2024), se informa que en las aves provoca toxicidad por medio de la inhibición de la síntesis de proteínas y la unión a grupos sulfhidruro en los niveles del sistema subcelular, celular y orgánico, ocasionando aumento del peso del timo y la molleja, disminución del peso del colon, disminución del colesterol, cambios en la morfometría del intestino delgado, entre otras alteraciones (Ochieng et al., 2021). El DON no es la micotoxina más tóxica dentro del grupo de los tricotecenos, sin embargo, es la que representa mayor importancia económica, el grado de afectación de *Fusarium* sp, está directamente relacionado con la acumulación de toxinas y los niveles de DON presentes en los granos de un cultivo contaminado aumentan a medida que el número de granos infectados con *Fusarium* sp aumenta. El almacenamiento de los alimentos debe contener un porcentaje de humedad menor al 14%, para prevenir la producción y acumulación de DON, además, es muy estable a altas temperaturas (170 y 350 °C) y resiste la cocción de los alimentos. La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de Estados Unidos, estableció un límite de 1 partes por millón (ppm) para el DON (Awuchi et al., 2021)

T-2/HT-2

Se encuentran ubicados dentro del grupo A de los tricotecenos, producidos por hongos del género *Fusarium* especialmente por las especies de *F. sporotrichioides* y *F. poae*, con la capacidad de contaminar cereales (cebada, trigo, avena, maíz) en los cultivos agrícolas a bajas concentraciones sin requerimientos altos de humedad. La micotoxina T-2 es la más tóxica, presenta actividad inmunosupresora, citotóxica, linfocítica y cancerígena en las células de mamíferos, además, su exposición puede llegar a ser crónica disminuyendo la regeneración celular de la médula ósea y bazo, causando inmunodeficiencia. La ingesta vía oral de alimentos



contaminados con la micotoxina T-2 puede causar aleucia tóxica alimentaria (ATA) (Yu & Pedroso, 2023). Las toxinas T-2/HT-2 son lipofílicas, es decir, se absorben rápidamente a través de la piel, intestino y mucosa pulmonar; además, se excretan en las heces y orina de animales contaminados. La toxicidad de T-2/HT-2 puede ser aguda o crónica dependiendo de la vía de transmisión, tiempo de exposición, dosis y factores predisponentes como la edad, sexo y sistema inmune del animal. Los síntomas generales a causa de la micotoxicosis T-2/HT-2 en animales son: se reduce la conversión alimenticia, pérdida de peso, vómitos, diarrea, hemorragia, disminución de la producción de huevos, aborto y muerte. Las aves son especialmente susceptibles a la toxina T-2, incluso con bajas concentraciones (0,5–1 mg/kg) se alteran las células epiteliales de la membrana mucosa oral, causando lesiones orales, además de dermatitis e irritación en los intestinos. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (AESA) determinó una ingesta diaria tolerable de 0,1 µg/kg de peso corporal para la suma de las micotoxinas T-2 y HT-2, por otro parte, la Unión Europea (UE) modificó la ingesta diaria tolerable de 0,1 µg/kg de peso corporal a 0,02 µg/kg de peso corporal para la suma de T-2 y HT-2 (Meneely et al., 2023)

Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA)

Es una técnica que se basa en usar anticuerpos para detectar y cuantificar los analitos diana en una solución (Maphaisa et al., 2025). Los anticuerpos están marcados con enzimas, por consiguiente, los conjugados resultantes tendrán actividad inmunológica y enzimática. El anticuerpo marcado con la enzima se encuentra insolubilizado en un soporte inmunoabsorbente y la reacción antígeno-anticuerpo permanecerá inmovilizada, por tanto, se podrá revelar fácilmente adicionando un substrato específico que al actuar con la enzima se producirá un color, el cual se puede cuantificar por medio de un espectrofotómetro (Guerrero & Parreño, 2018). La técnica de ELISA es uno de los inmunoensayos más utilizados, gracias a su facilidad de uso, detección rápida, selectividad, autonomía, asequibilidad y sensibilidad. Dentro de sus desventajas se encuentran el uso de un detector costoso, procedimientos largos y técnicos cualificados (Adunphatcharaphon et al., 2022). La técnica ELISA permite realizar un análisis cuantitativo de micotoxinas en matrices de alimentos mediante anticuerpos especializados para reconocer diversas estructuras de las micotoxinas a analizar, inicialmente se mezcla una fracción de la muestra con el conjugado de la micotoxina ligada a enzimas, luego se introduce en la placa de microtitulación con anticuerpos, se incuba, se realizan lavados y por último se detecta por un anticuerpo de detección marcado utilizando un espectrofotómetro (Okechukwu et al., 2024).



Marco legal

Según el Instituto Colombiano Agropecuario - ICA (1999), los niveles máximos permitidos de aflatoxinas en alimentos dirigidos a aves no deben superar los 20 ppb (partes por billón). Según el Ministerio de Salud y Protección Social, por medio de la Resolución número 4506 del 30 de octubre de 2013 se establecen los niveles máximos de contaminantes en los alimentos destinados al consumo humano en Colombia. A continuación, se presentan los niveles máximos de contaminación en los alimentos (NM): 4,0 µg/kg para la suma de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en cereales y productos a base de cereales, 10,0 µg/kg en maíz y arroz que vayan a ser sometidos a tratamiento. Para cereales no elaborados la Ocratoxina A permitida es 5,0 µg/kg.

Según el Ministerio de Salud y Protección social la Resolución número 2671 del 2014, que modifica parcialmente la Resolución 4506 de 2013, esta nueva incluye los siguientes aspectos:

- La suma de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 para arroz que vaya a ser sometido a proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo, o de su utilización como ingrediente de productos alimenticios, los niveles máximos de contaminación no deben ser mayores a 10 µg/kg en los alimentos.

La suma de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 para maíz que vaya a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo, o de su utilización como ingrediente de productos alimenticios, los niveles máximos de contaminación no deben ser mayores a 20 µg/kg en los alimentos.



Metodología

Diseño metodológico y características del estudio

Enfoque y tipo de estudio

El estudio de esta investigación es observacional, descriptivo, de corte transversal, porque se busca identificar y analizar la presencia de los hongos productores de micotoxinas en las materias primas y alimentos avícolas, así mismo, determinar la presencia o ausencia y los niveles de concentración de las micotoxinas, en un determinado periodo de tiempo.

Universo, población y muestra

- **Universo:** Son todas las materias primas (Maíz, trigo salvado y soya) implementadas en la elaboración de concentrados y los alimentos balanceados destinados al consumo de aves, que se producen o comercializan en el departamento del Valle del Cauca en Colombia.
- **Población:** Está conformada por el conjunto de lotes de materias primas que ingresan a la planta de alimentos balanceados y los concentrados producidos en la empresa avícola en la que se llevará a cabo el estudio.
- **Muestra:** Corresponde a 30 muestras seleccionadas por muestreo no probabilístico por conveniencia considerando la disponibilidad, frecuencia de uso, susceptibilidad a contaminación por micotoxinas y representatividad de las principales materias primas y alimentos utilizados en la dieta de las aves. Se distribuirán de la siguiente manera: 11 muestras de maíz, 7 muestras de trigo salvado, 3 muestras de soya y 9 concentrados de alimentos.

Criterios de inclusión y exclusión

Se analizaron las muestras de materias primas que ingresen al laboratorio en un tiempo de 5 meses y los alimentos que disponga la persona encargada de la planta de alimentos balanceados, las muestras contenían una cantidad representativa de más de 100 g para poder realizar los respectivos análisis, toda muestra que no cumplió este requerimiento fue excluida.



Variables

- **Dependiente:** La concentración de las micotoxinas a analizar (Aflatoxinas, Ocratoxinas, DON, Toxina T-2/HT2) presentes en las diferentes muestras, representando el nivel de contaminación en que se encuentran los insumos y concentrados. Se midió mediante la técnica ELISA competitivo directo, utilizando kits comerciales Veratox y el software Neogen Veratox v3.9.
- **Independiente:** Los diferentes tipos de muestras que se analizaron (Maíz, soya, salvado de trigo, alimentos balanceados) pueden presentar distintas concentraciones en las micotoxinas. Dichas muestras se distribuirán en: 11 de maíz, 3 de soya, 7 de salvado de trigo y 9 alimentos. Cada una se procesó siguiendo los protocolos de extracción y método ELISA descrito por el fabricante de los Kits Veratox.
- **Intervinientes o de control:** Los factores externos que pudieron influenciar los resultados que se obtuvieron son la humedad, la temperatura, las condiciones de almacenamiento, transporte y manipulación de las muestras. La forma de controlar esto fue preparar adecuadamente la muestra, almacenar de manera apropiada los reactivos de los kits, utilizar controles en la técnica ELISA, trabajar en óptimas condiciones en el laboratorio.

Delimitaciones geográficas y temporales

El estudio se realizó en un municipio del departamento del Valle del Cauca, Colombia, específicamente en una empresa avícola que posee su propia fábrica de alimentos balanceados para las aves.

Consideraciones éticas

Este estudio se llevó a cabo bajo los principios de honestidad, transparencia y responsabilidad, asegurando la precisión en la recolección, el análisis y la exposición de los datos. Se mantendrán el anonimato y la confidencialidad de la empresa en la cual se realizó la investigación, garantizando que los datos obtenidos son utilizados solamente con fines



académicos e investigativos. De igual forma se cumplió con la bioseguridad y las buenas prácticas de laboratorio buscando mitigar los riesgos para los investigadores y el medio ambiente.

Técnicas y procedimientos experimentales

Aislamiento e identificación microbiológica de hongos

Se rotularon todos los materiales a utilizar con la identificación correspondiente, luego en condiciones de esterilidad se preparó una solución inicial a partir de 10 g de cada muestra (maíz, soya, trigo salvado, alimento concentrado). Después de pesar cada muestra en una balanza analítica, se agregaron en matraces estériles y se adiciona 90 ml de agua peptonada al 0,1%, las muestras se homogeneizaron vigorosamente de 1 a 2 minutos, para que se distribuyan uniformemente las estructuras miceliales de los hongos que se desea caracterizar. A partir de la suspensión inicial (dilución 10^1) se realizaron diluciones seriadas hasta llegar a una dilución 10^3 , utilizando tubos de ensayo que contenían 9 ml de agua peptonada al 0,1%, de las diluciones 10^2 y 10^3 se tomaron 1 ml por muestra y mediante la técnica de siembra por profundidad, se adicionaron en placas Petri estériles (previamente rotuladas) 15 ml del Agar Sabouraud, mezclando suavemente para unificar la muestra con el medio de cultivo, cuando las placas inoculadas solidificaron fueron incubadas de 5 días a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$) (Muñoz et al. 2015).

Posteriormente, cuando ya se evidenció crecimiento microbiano, se procedió a realizar aislamiento de las colonias con características macroscópicas presuntivas de géneros de hongos productores de micotoxinas conocidos en la literatura, se incubaron nuevamente 5 días a $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, luego se realizó la identificación morfológica, para la identificación microscópica se preparó la muestra tomando con una asa micológica estéril una porción del micelio de cada colonia aislada y colocándolo en una lámina portaobjetos, se agregó una gota del reactivo azul de lactofenol y encima una lámina cubre objetos, finalmente se visualizó la muestra en un microscopio óptico, observando a 40x (Iram et al. 2019).

Condiciones de cultivo

En este estudio se busca identificar colonias de hongos conocidos como productores de micotoxinas pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. Como condición de cultivo de referencia se utilizó un medio de cultivo para aislamiento e identificación de

21



hongos como lo es el agar Sabouraud cuyos componentes típicos son los siguientes: Peptona de caseína 5 g/l, Peptona de carne 5 g/l, D(+)-glucosa (= dextrosa) 40 g/l, Agar-agar 15 g/l, con un valor de pH de 5.6 (65 g/l, H₂O, 25 °C) (tras autoclave) y una solubilidad de 65 g/l. (Agar Glucosa 4% Según SABOURAUD | 105438, s. f.)

Métodos analíticos

Identificación de Ocratoxinas

- **Extracción de muestras:** Triturar las muestras de maíz, soya, trigo salvado y concentrado de alimento que se van a analizar en un triturador de granos, manteniendo la proporción 1:4. Pesar 10 gramos (gr) de la muestra y agregar 40 mililitros (mL) de metanol al 50% en un frasco estéril, y agitar durante 3 minutos. Después de ese tiempo, usar una pipeta para tomar 5 mL de cada solución y filtrarlas en tubos de ensayo con papel Whatman número 1 para cada muestra. (ver anexo 1).
- **Determinación mediante la técnica de ELISA:** Lo primero que se debe realizar es atemperar el kit Veratox para Ocratoxinas, utilizarlo cuando se encuentre a temperatura ambiente, que debe estar entre 18°C y 30°C, luego separar los micropocillos de color rojo (pocillo de mezcla) por cada muestra que se va a analizar y 5 micropocillos para los 5 controles. De igual forma separar las mismas cantidades de micropocillos transparentes (pocillos tapizados con anticuerpos) y colocarlos en la gradilla. Antes de usarlos, se debe mezclar cada reactivo. A continuación, añadir 100 microlitros (µL) del conjugado de ocratoxina-HRP en los micropocillos de mezcla. Posteriormente, agregar 100 µL de cada control y muestras extraídas en los pocillos de color rojo, asegurándose de que los controles se encuentren en el orden correcto, el cual es: 0, 2, 5, 10 y 25 ppb. Mezclar la muestra con el conjugado pipeteando 3 veces y luego transferir 100 µL de la mezcla a los pocillos con anticuerpos. Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente, en los primeros 20 segundos de la incubación deslizar suavemente la gradilla hacia delante y hacia atrás en una superficie plana. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, desechar el contenido de los micropocillos con anticuerpos y lavarlos con agua destilada 5 veces. Para eliminar el excedente de agua, secar sobre una toalla absorbente. Añadir 100 µL de sustrato K-Blue desde el reservorio para reactivos a los micropocillos con anticuerpos. De igual manera, incubar 10 minutos a temperatura



ambiente y mezclar durante los primeros 20 segundos hacia delante y hacia atrás. Luego transferir 100 μ L de la solución Red Stop a los micropocillos con anticuerpos y mezclar deslizando hacia adelante y hacia atrás. Finalmente se procederá a la lectura en un lector de microplacas (fotómetro UV-VIS) con monocromador (absorbancia) utilizando un filtro de 650 nanómetros (Veratox For Ochratoxin | Mycotoxin Testing, s. f.; Guerrero & Parreño, 2018). (ver anexo 1)

Identificación del Deoxinivalenol (DON).

- **Extracción de Muestras:** Triturar las muestras de maíz, soya, trigo salvado y concentrado de alimento que se van a analizar en un triturador de granos, manteniendo la proporción 1:10. Pesar 10 gramos de la muestra y agregar 100 mL de agua destilada en un frasco estéril, y agitar durante 3 minutos la solución. Después de ese tiempo, usar una pipeta para tomar 5 mL de cada solución y filtrar con el papel Whatman número 1 en tubos de ensayo para cada muestra. (ver anexo 2)
- **Procedimiento de la técnica de ELISA:** Lo primero que se debe realizar es atemperar el kit Veratox para Deoxinivalenol, utilizarlo cuando se encuentre a temperatura ambiente, que debe estar entre 18°C y 30°C, luego separar 1 micropocillo de color rojo (pocillo de mezcla) por cada muestra que se va a analizar y 5 micropocillos para los 5 controles. De igual manera, seleccionar las mismas cantidades de micropocillos con anticuerpos (pocillos transparentes), situarlos en la gradilla de micropocillos. Mezclar cada reactivo antes de emplearlo. Añadir 100 μ L del conjugado de DON-HRP en los micropocillos de mezcla. Posteriormente, agregar 100 μ L de cada control y muestras extraídas en los pocillos de color rojo, asegurándose de que los controles se encuentren en el orden correcto, el cual es: 0, 0,5, 1, 2 y 6 ppm. Mezclar la muestra con el conjugado pipeteando tres veces y luego transferir 100 μ L de la mezcla a los pocillos con anticuerpos. Incubar durante dos minutos a temperatura ambiente, en los primeros 30 segundos de la incubación deslizar suavemente la gradilla hacia delante y hacia atrás en una superficie plana. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, desechar el contenido de los micropocillos con anticuerpos y lavarlos con agua destilada cinco veces. Para eliminar el excedente de agua, secar sobre una toalla absorbente. Añadir 100 μ L de sustrato K-Blue desde el reservorio para reactivos a los micropocillos con anticuerpos, incubar 3 minutos a temperatura ambiente. De igual manera, mezclar durante los



primeros 30 segundos de incubación hacia delante y hacia atrás. Luego transferir 100 μ L de la solución Red Stop a los micropocillos con anticuerpos y mezclar deslizando hacia adelante y hacia atrás. Finalmente, se procederá a realizar la lectura en un lector de microplacas (fotómetro UV-VIS) con monocromador (absorbancia) utilizando un filtro de 650 nanómetros (Veratox For T-2/HT-2 | Mycotoxin Testing, s. f.). (ver Anexo 2)

Identificación de Aflatoxinas.

- **Extracción de Muestras:** Triturar las muestras de maíz, soya, trigo salvado y concentrado de alimento en un triturador de granos, manteniendo la proporción 1:5. Pesar 5 gramos de la muestra y agregar 25 mL de metanol al 70%, y agitar durante 2 minutos la solución. Después de ese tiempo, usar una pipeta para tomar 5 mL de cada solución y filtrar con papel Whatman número 1 en tubos de ensayo para cada muestra. (ver anexo 3)
- **Procedimiento de la técnica de ELISA para Aflatoxinas:** Lo primero que se debe realizar es atemperar el kit Veratox para Aflatoxinas, utilizarlo cuando se encuentre a temperatura ambiente, que debe estar entre 18°C y 30°C. Luego separar los micropocillos de mezcla (micropocillo de color rojo), por cada muestra que se va a analizar y 5 para los controles. De igual forma separar las mismas cantidades de micropocillos transparentes (pocillos tapizados con anticuerpos) y colocarlos en la gradilla. Antes de usarlos, se debe mezclar cada reactivo. A continuación, añadir 100 μ L del conjugado de aflatoxina-HRP a los micropocillos de mezcla. Posteriormente agregar 100 μ L de cada control y muestras extraídas en los pocillos correspondientes, asegurándose de que los controles se encuentren en el orden correcto, el cual es: 0, 5, 15 y 50 ppb. Mezclar la muestra con el conjugado pipeteando 3 veces y luego transferir 100 μ L de la mezcla a los pocillos con anticuerpos. Incubar durante 2 minutos a temperatura ambiente en los primeros 20 segundos de la incubación deslizar suavemente la gradilla hacia delante y hacia atrás en una superficie plana. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, desechar el contenido de los micropocillos con anticuerpos y lavar con agua destilada 5 veces. Para eliminar el excedente de agua, secar sobre una toalla absorbente. Añadir 100 μ L de sustrato desde el reservorio a los micropocillos con anticuerpos. Incubar 3 minutos a temperatura ambiente, deslizar hacia adelante y hacia atrás durante los primeros 30 segundos de la incubación. Luego



transferir 100 μ L de la solución Red Stop a los micropocillos con anticuerpos y mezclar hacia adelante y hacia atrás. Finalmente, se procederá a realizar la lectura en un lector de microplacas (fotómetro UV-VIS) con monocromador (Absorbancia) utilizando un filtro de 650 nanómetros. (Veratox For Aflatoxin | Mycotoxin Testing, s. f.) (Guerrero & Parreño, 2018). (ver anexo 3)

Identificación de la toxina T-2/HT-2

- **Extracción de muestras:** Triturar las muestras de maíz, soya, trigo salvado y concentrado de alimento que se van a analizar en un triturador de granos, manteniendo la proporción 1:5. Pesar 5 gramos de la muestra y agregar 25 mL de metanol al 70%, y agitar durante 2 minutos la solución. Después de ese tiempo, usar una pipeta para tomar 5 ml de cada solución y filtrar con papel Whatman número 1 en un tubo de ensayo respectivamente para cada muestra. Posteriormente se realizará una dilución a la extracción teniendo en cuenta la proporción 1:1, agregando 1 mL del extracto y 1 mL de agua destilada estéril a un tubo de ensayo, de esta manera, la muestra se encuentra lista para ser analizada. (ver anexo 4)
- **Procedimiento de la Técnica ELISA para T-2/HT-2:** Para iniciar el kit Veratox para T-2/HT-2, debe estar previamente atemperado, utilizarlo cuando se encuentre a temperatura ambiente, es decir de 18°C a 30°C, luego separar los micropocillos de mezcla (pocillos rojos) necesarios para cada muestra a analizar y 4 para los controles, de igual manera tomar las mismas cantidades de micropocillos con anticuerpos (micropocillos transparentes), situar cada uno de los micropocillos en la gradilla. Incorporar cada reactivo antes de utilizarlo, añadir 100 μ L del conjugado de toxina HT-2-HRP a los micropocillos de mezcla, después agregar 100 μ L de cada control y muestras extraídas en los micropocillos rojos, cuidando que los controles se encuentren ubicados adecuadamente, cuyo orden es: 0, 25, 50, 100 y 250 ppb; mezclar el conjugado con cada muestra pipeteando 3 veces. Después de pasar 100 μ L de la mezcla a los pocillos con anticuerpos, incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos, en los primeros 20 segundos de incubación unificar realizando movimientos hacia delante y hacia atrás suavemente en una superficie plana. Al pasar el tiempo requerido, eliminar el contenido de los micropocillos con anticuerpos y lavar con agua destilada cinco veces, secar cuidadosamente el exceso de agua con una toalla absorbente. Luego, añadir 100



μL de sustrato a los pocillos tapizados con anticuerpos, incubar 5 minutos a temperatura ambiente, deslizar hacia adelante y hacía atrás durante los primeros 20 segundos de incubación, por último, transferir 100 μL de la solución Red Stop a los micropocillos con anticuerpos, se finaliza realizando la lectura en un lector de microplacas (fotómetro UV-VIS) con monocromador (Absorbancia) utilizando un filtro de 650 nanómetros. (Veratox For T-2/HT-2 | Mycotoxin Testing, s. f.). (ver anexo 4)

Procesamiento y análisis de datos

Las mediciones de absorbancia obtenidas mediante el lector de ELISA (fotómetro UV-VIS) fueron ingresadas en la base de datos del software Neogen Veratox versión 3. 9. Con la finalidad de cuantificar la concentración real en la que se encuentran las micotoxinas. En el software del programa aparece un listado de varias micotoxinas disponibles. Se seleccionó la micotoxina requerida (aflatoxina, ocratoxinas, deoxinivalenol o toxinas T-2/HT-2) y se ingresaron los resultados de las absorbancias junto con la identificación de cada muestra. Después, se seleccionó la opción de calcular y el programa generó los resultados de la concentración real de cada muestra, expresada en ppm o ppb, según corresponde. Posteriormente los datos fueron organizados en tablas, incluyendo el tipo de muestra, numero de muestras, los valores de absorbancias y las concentraciones obtenidas en el software de veratox, los datos de DON fueron pasados de ppm a ppb (multiplicando el resultado inicial por 1000) para manejar una sola unidad en el análisis estadístico. No fue necesario realizar una curva de calibración debido a que los Kits comerciales Veratox utilizados incluyen estándares de calibración generados por el fabricante y la curva fue generada automáticamente por el programa.

El análisis estadístico se realizó utilizando el software R 4.5.2, inicialmente se realizó un análisis descriptivo de las concentraciones de las micotoxinas, mediante el cálculo de la mediana, rango intercuartílico (RIC), valores mínimos y valores máximos, también se evaluó la distribución normal de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk, en vista de que los datos no cumplieron los supuestos de normalidad, se empleó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para comparar las concentraciones de las micotoxinas entre los diferentes tipos de muestras. Cuando se evidenciaron diferencias estadísticas significativas, se realizó la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni.



Resultados

Caracterización de géneros de hongos potencialmente productores de micotoxinas en materias primas

A partir de las siembras en el medio de cultivo agar Sabouraud se logró la caracterización macroscópica y microscópica de heterogéneos mohos filamentosos predominantes en las materias primas utilizadas: maíz, soya, trigo salvado (Anexo 5). Se realizó aislamiento selectivo de colonias con criterios morfológicos descritos en la literatura correspondiente a géneros fúngicos productores de micotoxinas, de los cuales se identificaron *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp.

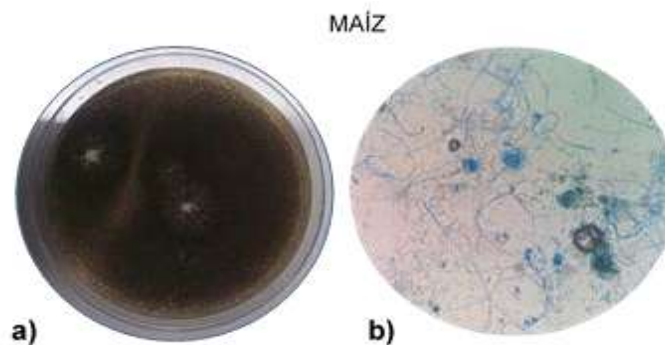


Ilustración 1. Luego de haber realizado el aislamiento de las colonias presuntivas de la muestra de maíz, se evidenció: a) características macroscópicas: crecimiento masivo, colonias de color negro intenso, aspecto pulverulento/granulado y crecimiento radial. b) microscópicamente (40X): la colonia negra pulverulenta reveló hifas septadas hialinas, conidióforos largos y lisos, con vesículas globosas y fiáldes alrededor de estas, características presuntivas de *Aspergillus* spp. Fuente: Elaboración propia.



Ilustración 2. Posterior al aislamiento de la colonia presuntiva del hongo productor de micotoxinas en la muestra de trigo salvado se evidencia: a) La colonia convexa, bordes regulares, textura algodonosa, micelio aéreo de color blanco inicialmente adquiriendo tonalidades rosadas al envejecer. b) a nivel microscópico (40X) observaron hifas hialinas delgadas y septadas, abundantes conidios distribuidos a lo largo de las hifas se presenciaron microconidios unicelulares abundantes y macroconidios fusiformes multicelulares, características presuntivas para el género *Fusarium* spp. Fuente: Elaboración propia.

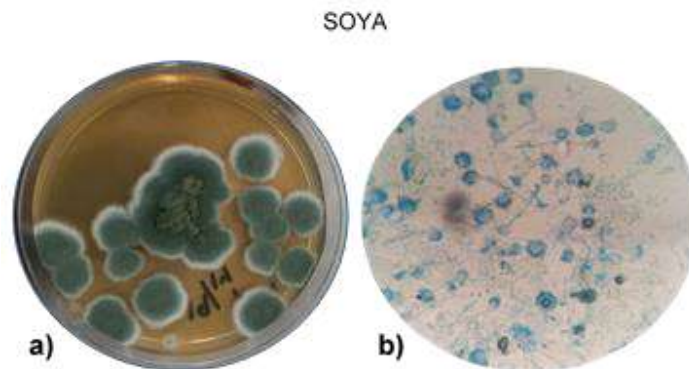


Ilustración 3. La colonia aislada de la muestra de soya incubada a $25^{\circ}\pm 2$ en agar Sabouraud durante 5 días evidencia: **a)** crecimiento de colonias circulares de color verde azulado y grisáceo, bordes definidos de color blanco, textura aterciopelada/pulverulenta. **b)** a nivel microscópico (40X) de observaron hifas hialinas, septadas, conidióforos lisos con terminación en vesículas globosas, fiáldes uniseriadas y conidios pequeños en cadena característicos de *Aspergillus* spp. Fuente: Elaboración propia.



Concentraciones de aflatoxinas, ocratoxina, T-2/HT-2 y DON en materias primas y alimentos avícolas

Se observó la presencia de micotoxinas en las diferentes muestras analizadas, con concentraciones variables según el tipo de muestra, como se evidencia en la **Tabla 1**. El resultado de las concentraciones de aflatoxinas osciló entre 0,1 ppb y 1,7 ppb, detectándose el valor más alto en soya; en relación con las ocratoxinas, la mayor concentración se observó en el concentrado de la muestra M16, con un valor de 6,1 ppb. Por otra parte, la concentración más elevada de T-2/HT-2 se registró en el maíz, alcanzando un valor máximo de 250,2 ppb en la muestra M5. Con respecto a la micotoxina DON, se presentaron concentraciones elevadas en la mayoría de las muestras; sin embargo, el tipo de muestra que obtuvo el valor más alto fue el trigo salvado con 3700 ppb en la muestra M23.

Tabla 1. Concentración de micotoxinas en las muestras analizadas. Fuente: Elaboración propia.

TIPO DE MUESTRA	MUESTRA	CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINAS (ppb)			
		AFLATOXINA	OCRATOXINA	T-2/HT-2	DON
MAIZ	M1	0,2	1,2	26,7	1100,0
MAIZ	M2	0,2	0,1	7,5	300,0
MAIZ	M3	1,2	0,1	104,8	1000,0
MAIZ	M4	0,1	0,1	75,0	200,0
MAIZ	M5	0,2	0,1	250,2	1200,0
MAIZ	M6	0,2	0,1	54,4	200,0
MAIZ	M7	0,2	0,1	61,2	400,0
MAIZ	M8	0,9	0,1	49,8	400,0
MAIZ	M9	0,2	0,3	116,4	1000,0
MAIZ	M10	0,1	0,5	46,9	500,0
MAIZ	M11	0,4	0,2	11,6	800,0
CONCENTRADO	M12	1,1	3,3	46,0	200,0
CONCENTRADO	M13	1,6	1,1	60,4	200,0
CONCENTRADO	M14	1,4	5,1	73,4	200,0
CONCENTRADO	M15	1,4	3,3	65,8	700,0
CONCENTRADO	M16	0,5	6,1	64,5	400,0
CONCENTRADO	M17	0,4	2,3	37,0	400,0
CONCENTRADO	M18	0,4	1,6	58,0	700,0
CONCENTRADO	M19	0,1	0,3	15,9	1000,0
CONCENTRADO	M20	0,2	0,1	10,2	600,0
TRIGO SALVADO	M21	0,2	0,1	105,3	2000,0
TRIGO SALVADO	M22	0,8	0,1	69,5	200,0
TRIGO SALVADO	M23	0,5	0,1	9,3	3700,0
TRIGO SALVADO	M24	0,4	0,2	6,4	900,0
TRIGO SALVADO	M25	0,7	0,1	20,9	1400,0
TRIGO SALVADO	M26	0,5	0,1	13,1	400,0
TRIGO SALVADO	M27	0,1	0,1	53,1	1200,0
SOYA	M28	0,2	0,1	91,0	200,0
SOYA	M29	0,5	0,2	80,7	700,0
SOYA	M30	1,7	0,1	71,0	1500,0



Análisis estadístico de las concentraciones de las micotoxinas según el tipo de muestras

La normalidad de las concentraciones de las micotoxinas analizadas se determinó por medio de la prueba Shapiro-Wilk, cuyos resultados se presentan en la **Tabla 2**. Los valores de p que se obtuvieron para aflatoxinas, ocratoxinas, T-2/HT-2 y DON fueron inferiores a 0,05, lo que evidencia que los datos no presentan una distribución normal, por consiguiente, se describieron los datos con medidas estadísticas no paramétricas como la mediana y el rango intercuartílico.

Tabla 2. Prueba de Shapiro-Wilk. Fuente: Elaboración propia.

MICOTOXINA	ESTADISTICO W	P- VALOR
AFLATOXINA	0,819	0,000146
OCRATOXINA	0,597	0,000000664
T-2/HT-2	0,904	0,0106
DON	0,746	0,00000775

Con la finalidad de describir el comportamiento de la variabilidad y la dispersión de las micotoxinas según el tipo de muestra, se presentan los estadísticos descriptivos (mediana, RIC, valores mínimos y máximos) en la **Tabla 3**. De forma complementaria, la **Ilustración 4**. Presenta un diagrama de caja y bigotes para cada micotoxina. En estas gráficas las cajas representan el rango intercuartílico; la línea central indica la mediana; los bigotes muestran el rango de los datos; los puntos representan los valores individuales; los puntos alejados sugieren la presencia de posibles valores extremos; las posiciones más altas de las cajas indican una mayor concentración; y un RIC más amplio indica un aumento de la variabilidad.

En general, la aflatoxina y la ocratoxina presentaron niveles bajos de concentración en todas las muestras. En comparación, el DON presentó una mayor variabilidad y concentraciones



más elevadas en las muestras, principalmente en trigo salvado. En el caso de las toxinas T-2/HT2 se observó una alta dispersión, especialmente en las muestras de maíz y de concentrado.

Tabla 3. Mediana, rango intercuartílico (RIC), valores mínimos y máximos de las concentraciones de micotoxinas según el tipo de muestra analizada. Fuente: Elaboración propia.

TIPO DE MUESTRA	MICOTOXINA	MEDIANA	RIC	MINIMO	MAXIMO
CONCENTRADO	AFLATOXINA	0,5	1	0,1	1,6
CONCENTRADO	DON	400	500	200	1000
CONCENTRADO	OCRATOXINA	2,3	2,3	0,1	6,1
CONCENTRADO	T-2/HT-2	115	98,8	10,2	188
TRIGO SALVADO	AFLATOXINA	0,5	0,3	0,1	0,8
TRIGO SALVADO	DON	1200	1050	200	3700
TRIGO SALVADO	OCRATOXINA	0,1	0	0,1	0,2
TRIGO SALVADO	T-2/HT-2	20,9	50	6,4	105
MAIZ	AFLATOXINA	0,2	0,1	0,1	1,2
MAIZ	DON	500	650	200	1200
MAIZ	OCRATOXINA	0,1	0,15	0,1	1,2
MAIZ	T-2/HT-2	54,4	53,1	7,5	250
SOYA	AFLATOXINA	0,5	0,75	0,2	1,7
SOYA	DON	700	650	200	1500
SOYA	OCRATOXINA	0,1	0,05	0,1	0,2
SOYA	T-2/HT-2	80,7	10	71	91

La prueba no paramétrica Kruskal-Wallis se realizó para evaluar las diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de las micotoxinas según los tipos de muestras. En el caso de aflatoxinas, DON y T-2/HT-2, no se mostraron diferencias significativas porque el valor de p de estas micotoxinas es $>0,05$, como se evidencia en la **Tabla 4**. En contraste, sí se observaron diferencias significativas en las concentraciones de ocratoxinas entre los tipos de muestra, mostrando un valor $<0,01$.

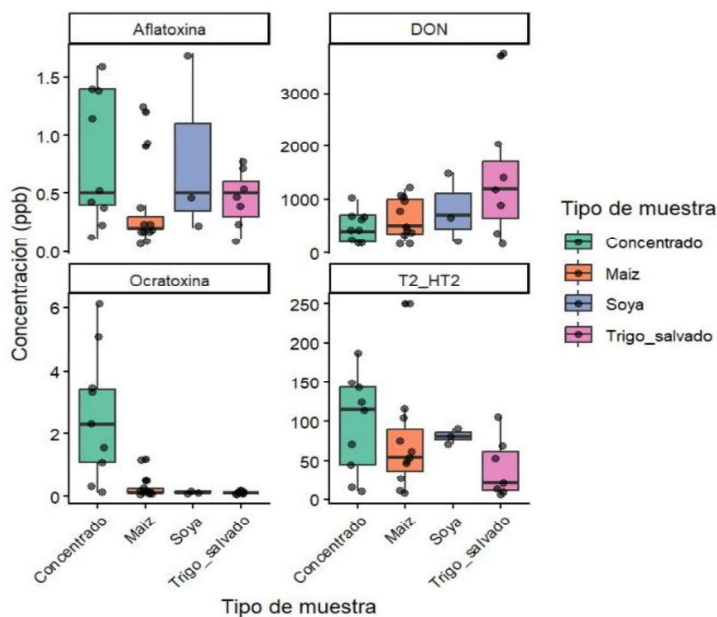


Ilustración 4 Distribución de las concentraciones de aflatoxina, deoxinivalenol, ocratoxina, T-2/HT-2. Fuente: Elaboración propia.

Con el fin de determinar entre cuáles grupos de los tipos de muestra se estaba presentando la diferencia significativa en la concentración de ocratoxina, se utilizó la prueba *post-hoc* de Dunn con corrección de Bonferroni (**Tabla 5**); los resultados mostraron diferencias significativas entre las muestras de concentrado y maíz, así como entre concentrado y trigo salvado. Entre las demás comparaciones no se presentaron diferencias significativas.

Tabla 4. Prueba de Kruskal-Wallis. Fuente: Elaboración propia.

MICOTOXINA	ESTADISTICO H	P-VALOR
AFLATOXINA	4,69	0,196
OCRATOXINA	15,2	0,00166 **
T-2/HT-2	4,52	0,21
DON	4,97	0,174

Nota: (**): Diferencia estadística significativa <0,01. Sin (*): No hay diferencia estadística significativa > 0,05.



Tabla 5. Prueba de Dunn con corrección de Bonferroni. Fuente: Elaboración propia.

Grupo 1	Grupo 2	Estadístico Z	P-Valor	P-Valor corregido
Concentrado	Maiz	-3,025	0,002	0,015 *
Concentrado	Soya	-2,303	0,021	0,128
Concentrado	Trigo salvado	-3,490	0,0005	0,003 **
Maiz	Soya	-0,270	0,787	1,000
Maiz	Trigo salvado	-0,825	0,409	1,000
Soya	Trigo salvado	-0,324	0,746	1,000

Nota: (*): Diferencia estadística significativa <0,05. (**): Diferencia estadística significativa <0,01. Sin (*): No hay diferencia estadística significativa > 0,05.



Discusión

Se identificaron hongos con potencial toxigénico, pertenecientes a los géneros *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. por medio de la caracterización macroscópica y microscópica, también se determinó la presencia de micotoxinas mediante el método de ELISA competitivo directo en las materias primas (maíz, trigo salvado y soya) y los concentrados implementados como alimento en la industria avícola, además se realizó la cuantificación de aflatoxinas, ocratoxinas, T-2/HT-2 y deoxinivalenol en todas las matrices analizadas, presentando variaciones significativas según el tipo de alimento. Los resultados responden directamente a los objetivos planteados en este estudio, evidenciando la presencia de hongos potencialmente productores de micotoxinas. Las características morfológicas obtenidas coinciden con lo descrito en estudios microbiológicos en los que se realizan aislamiento e identificación de hongos filamentosos en alimentos concentrados (Muñoz et al., 2015).

La determinación de las micotoxinas se hizo por medio de la técnica ELISA competitivo directo, la cual es ampliamente utilizada por su alta sensibilidad y precisión para el cribado de micotoxinas, entre sus ventajas se destaca que no requiere procedimientos de limpieza y proporciona mediciones rápidas y económicas (Singh & Mehta, 2020). Otros autores reportaron que ELISA mostró rendimientos satisfactorios en términos de precisión, tasas de recuperación, tasas de falsos positivos y falsos negativos (Pecorelli et al., 2020). En un estudio realizado en la provincia de Chíncha se identificó en las muestras de soya, por el método de ELISA competitivo directo, que el 100 % resultaron positivas para micotoxinas y el 26,67 % con niveles superiores a los niveles máximos permitidos (Agustín & Juan, 2018)

Los mohos del género *Aspergillus* están ampliamente distribuidos en el ambiente, algunas cepas tienen la capacidad de producir biotoxinas potencialmente mortales, especialmente las aflatoxinas y ocratoxinas en sustratos húmedos y granos almacenados, con características termoestables y resistentes al estrés hídrico (Navale et al., 2021). Las especies productoras de aflatoxinas más relevantes que contaminan el maíz son *A. flavus* y *A. parasiticus*, en aves ocasiona reducción de la ganancia de peso, disminución de los huevos, y el incremento de la susceptibilidad a las enfermedades. Estudio realizado por Ghaemmaghami et al. (2023) reveló que aproximadamente el 9,09% de las muestras de maíz estaban contaminadas; en el caso de las ocratoxinas las especies más relevantes *A. ochraceus*, *A. carbonarius* en los climas



tropicales y *Penicillium verrucosum* en climas templados, afectando principalmente a los cereales por condiciones inadecuadas de almacenamiento, ocasionando problemas renales y hepáticos en las aves de corral (Akinmoladun et al., 2025). Las bajas concentraciones de estas dos micotoxinas en las muestras analizadas en el presente estudio se pueden atribuir a que con anterioridad se realizaron diversas evaluaciones a las concentraciones de las aflatoxinas y ocratoxinas, además, se llevaron a cabo análisis microbiológicos para detectar la presencia de estos hongos y prevenir la producción de estas dos micotoxinas a través de estrategias preventivas como condiciones de almacenamiento adecuadas.

Fusarium es el principal género de importancia en la seguridad alimentaria de cereales, debido a su capacidad de sintetizar micotoxinas del grupo de tricotecenos, dentro de los cuales se encuentra el deoxinivalenol (DON) y T-2/HT-2, cuya producción se ve favorecida durante el cultivo y almacenamiento del grano. En el presente estudio se obtuvieron altas concentraciones de DON en trigo salvado (3700 ppb), lo que indica una mayor predisposición de esta matriz a la contaminación por *Fusarium* spp; además, las concentraciones de DON y T-2/HT-2 evidenciaron alta variabilidad en todas las matrices, evidenciado rangos intercuartílicos de los análisis estadísticos realizados, esto indica que las concentraciones en las muestras no fueron homogéneas, datos que concuerdan con la naturaleza de DON, ya que su dispersión suele ser focalizada (Ganesan et al., 2021). Las micotoxinas en general reducen el rendimiento del crecimiento del pollo al alterar la composición bacteriana intestinal y las interacciones entre los microbios intestinales; sin embargo, DON por sí sola afecta la diversidad del microbioma intestinal del animal (Shanmugasundaram et al., 2023).

La simultaneidad de múltiples micotoxinas en una misma muestra no es algo que se haya presentado solo en esta investigación, otros autores también han reportado este comportamiento, un estudio realizado por Akinmoladun et al., en el año 2025 demuestra que existe una prevalente coexistencia de micotoxinas en piensos y que las exposiciones combinadas pueden afectar significativamente la salud y el rendimiento de las aves; otro estudio realizado en Rumania reporta que existe una co-contaminación con micotoxinas entre el 30% y el 100% en las muestras de alimentos y piensos a nivel mundial, incluso cuando las concentraciones individuales de las de micotoxinas permanecen por debajo de los niveles designados como seguros (Beia et al., 2023). Otra investigación realizada en el año 2020 por Kemboi y compañía reportó que, en las muestras de piensos de aves de corral y ganado analizadas, todas estaban contaminadas con



21 a 116 metabolitos fúngicos diferentes, en las cuales también se encontraban aflatoxinas, ocratoxinas, DON y las toxinas T-2/HT-2.

La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$) evidenció que los datos no presentaron distribución normal, lo que justifica el uso de análisis estadísticos no paramétricos. En consecuencia, para determinar si existía diferencia en las concentraciones de micotoxinas con respecto a los distintos tipos de muestras se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, encontrándose diferencia estadísticamente significativa únicamente para la ocratoxina ($p < 0,01$). De acuerdo con estos resultados se realizó el análisis post-hoc de Dunn para determinar si había diferencia entre grupos; este análisis indicó que existe diferencia entre concentrado de alimento frente a maíz y concentrado de alimento frente a trigo salvado. Que la ocratoxina presenta diferencias significativas puede deberse a diferentes condiciones de almacenamiento, contaminación localizada en lotes y mezcla de materias primas en la elaboración del alimento balanceado. En otros estudios también realizaron análisis de las concentraciones de ocratoxinas en alimentos para aves de corral en el cual se presentó una concentración máxima de 63 ng/g, y se evidenció variabilidad en los diferentes tipos de muestras (Bouras et al., 2025).

En el caso de las aflatoxinas, no se evidenciaron diferencias significativas, y las concentraciones fueron muy bajas; esto se atribuye a que las condiciones de almacenamiento fueron adecuadas: poca humedad y temperatura óptima, ya que estas variables cumplen un papel crucial en el crecimiento de hongos y la contaminación de los ingredientes del alimento con toxinas fúngicas (Ghaemmaghami et al., 2023). De igual, DON y las toxinas T-2/HT-2 no presentaron diferencias significativas; esto se debe a que estas micotoxinas pueden presentar una distribución más homogénea ya que se producen en temporadas de crecimiento y cosecha (Twarużek et al., 2021).



Conclusiones

- Los resultados del presente estudio demuestran la presencia de micotoxinas en las muestras de materias primas y en los alimentos balanceados destinados al consumo avícola; se detectaron las diversas concentraciones de aflatoxinas, ocratoxinas, deoxinivalenol y las toxinas T-2/HT-2.
- La caracterización microbiológica de los géneros de hongos con potencial tóxico, como *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. respalda los datos analíticos obtenidos mediante la aplicación de la técnica ELISA competitivo directo, estableciendo una concordancia entre las micotoxinas detectadas y el agente productor.
- El software Neogen Veratox Software v 3.9. es una herramienta capaz de cuantificar las concentraciones de las micotoxinas, convirtiendo los datos de absorbancia a ppb o ppm.
- Desde la parte metodológica, la técnica Elisa competitivo demostró ser un ensayo, sensible, eficaz, viable y accesible para la detección de micotoxinas en la industria avícola.
- La detección simultánea de las micotoxinas analizadas puede presentar un riesgo potencial para la industria avícola, debido a la posibilidad de efectos sinérgicos y aditivos, ocasionando disminución de huevo, pérdida de peso, alteración intestinal, problemas renales y hepáticos, entre otras afecciones a las aves.
- La micotoxina que mayor concentración tuvo fue DON, a diferencia de las aflatoxinas y ocratoxinas que fueron las que obtuvieron las concentraciones más bajas. En el caso de las toxinas T-2/HT-2 presentan concentraciones altas y bajas.



Recomendaciones

- Ejecutar análisis de micotoxinas a través del ensayo ELISA periódicamente, para saber en qué concentraciones se encuentran y poder realizar a partir de esto plantear e implementar estrategias de mitigación y prevención.
- Mejorar las condiciones de almacenamiento, procurando que no se presente mucha humedad ni cambios extremos en la temperatura.
- Para próximas investigaciones realizar pruebas moleculares para confirmar las especies de los géneros de hongos que se aislen, también ampliar el tamaño muestral y procurar que las cantidades de muestras sean homogéneas con respecto al tipo de muestra.
- Realizar técnicas confirmatorias de alta precisión, como cromatografía líquida o espectrometría de masas.



Bibliografía

Adunphatcharaphon, S., Elliott, C. T., Sooksimuang, T., Charlemroj, R., Petchkongkaew, A., & Karoonuthaisiri, N. (2022). The evolution of multiplex detection of mycotoxins using immunoassay platform technologies. *Journal Of Hazardous Materials*, 432, 128706. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128706>

Agar glucosa 4% según SABOURAUD | 105438. (s. f.). https://www.merckmillipore.com/CO/es/product/SABOURAUD-40-0-dextrose-agar.MDA_CHEM-105438?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F

Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., & Varzakas, T. (2020). Advances in Analysis and Detection of Major Mycotoxins in Foods. *Foods*, 9(4), 518. <https://doi.org/10.3390/foods9040518>

Agustín, G. C., & Juan, P. T. (2018). Determinación de micotoxinas por el método de ELISA en soya para aves en producción en la provincia de Chíncha, año 2016. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810634X2018000100004&lng=es&tlng=es.

Akinmoladun, OF, Fon, FN, Nji, Q., Adeniji, OO, Tangni, EK y Njobeh, PB (2025). Contaminación por micotoxinas múltiples en piensos para el ganado: Implicaciones para la salud animal, la productividad y la seguridad alimentaria. *Toxins*, 17 (8), 365. <https://doi.org/10.3390/toxins17080365>

Al-Jaal, B., Salama, S., Al-Qasmi, N., & Jaganjac, M. (2019). Mycotoxin contamination of food and feed in the Gulf Cooperation Council countries and its detection. *Toxicon*, 171, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.10.003>

Ávila F., Ruiz D., Gálvez N., Díaz C., Montalvo S. (2024) Avicultura en cifras 2024. Programa económico FENAVI-FONAV. FENAVI - Federación Nacional de Avicultores. https://fenavi.org/wp-content/uploads/2024/09/Avicultura-en-Cifras-2024_17-09-2024.pdf

Awuchi, C. G., Ondari, E. N., Ogbonna, C. U., Upadhyay, A. K., Baran, K., Okpala, C. O. R., Korzeniowska, M., & Guiné, R. P. F. (2021). Mycotoxins Affecting Animals, Foods, Humans,



and Plants: Types, Occurrence, Toxicities, Action Mechanisms, Prevention, and Detoxification Strategies-A Revisit. *Foods* (Basel, Switzerland), 10(6), 1279. <https://doi.org/10.3390/foods10061279>

Awuchi, C. G., Ondari, E. N., Nwozo, S., Odongo, G. A., Eseoghene, I. J., Twinomuhwezi, H., Ogbonna, C. U., Upadhyay, A. K., Adeleye, A. O., & Okpala, C. o. R. (2022). Mycotoxins' Toxicological Mechanisms Involving Humans, Livestock and Their Associated Health Concerns: A Review. *Toxins*, 14(3), 167. <https://doi.org/10.3390/toxins14030167>

Beia, I. S., Ciceoi, R., Beia, V. E., Bădulescu, L., Smedescu, D. I., & Fintineru, A. (2023, 1 enero). MYCOTOXINS - INCIDENCE, IMPACT ON FEED, FOOD SAFETY, FOOD CHAIN AND ECONOMIC LOSSES. <https://doaj.org/article/00a310aba91c456082a3abdcc91046e2>

Bouras, N., Smaoui, S., Guerfali, M., Atoui, A., Ebada, S. S., Ali, D. S., Wu, Q., & Khaneghah, A. M. (2025). Comprehensive insights into Ochratoxin A: Prevalence and regulatory frameworks in the Maghreb region. *Toxicon*, 269, 108642. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2025.108642>

Capodicasa, C., Bastiani, E., Serra, T., Anfossi, L., & Catellani, M. (2022). Design of a Diagnostic Immunoassay for Aflatoxin M1 Based on a Plant-Produced Antibody. *Toxins*, 14(12), 851. <https://doi.org/10.3390/toxins14120851>

Chen, Y., Liu, X., Li, J., & Liu, X. (2025). Development of a Sensitive Enzyme Immunoassay Using Phage-Displayed Antigen-Binding Fragments for Zearalenone Detection in Cereal Samples. *Foods*, 14(5), 746. <https://doi.org/10.3390/foods14050746>

Ganesan, A. R., Mohan, K., Rajan, D. K., Pillay, A. A., Palanisami, T., Sathishkumar, P., & Conterno, L. (2021b). Distribution, toxicity, interactive effects, and detection of ochratoxin and deoxynivalenol in food: A review. *Food Chemistry*, 378, 131978. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131978>

Ghaemmaghami, S. S., Rouhanipour, H., & Sharifi, S. D. (2023). Aflatoxin levels in poultry feed: a comparison of mash and pellet forms. *Poultry Science*, 103(1), 103254. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103254>



Guerrero A, & Parreño J. (2018). Determinación de micotoxinas por el método de ELISA en soya para aves en producción en la provincia de Chinchipe, año 2016. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 84(1), 27-40. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v84i1.162>

Guerrero, C. E. B., Loo, J. D. O., & Briones, C. A. R. (2025). Prevalencia de micotoxinas en alimento comercial para pollos Broiler. *Revista Alfa*, 9(25), 191-207. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v9i25.341>

Instituto Colombiano Agropecuario - ICA (1999). Directivas técnicas de alimentos para animales y sales mineralizadas. https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.ica.gov.co/getdoc/7d27ee5ecfe447a2868e7c53f4e49473/directivastecnicasalimentosanimales.aspx&ved=2ahUKEwjkkMj83quOAxV8TTABHf86H3AQFnoECAsQAQ&sqi=2&usq=AOvVaw2yEWuCxylSkRk-VmS_9Bay

Iram, S., Fareed, S. K., Chaudhary, M., Iqbal, M. U. N., Ghani, R., Khan, T. A., & Abbas, T. (2019). Identification of *Aspergillus flavus* and aflatoxin in home mix layer poultry feed in relation to seasons in Karachi, Pakistan. *Tropical Animal Health And Production*, 51(6), 1321-1327. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01818-0>

Janik, E., Niemcewicz, M., Podogrocki, M., Ceremuga, M., Gorniak, L., Stela, M., & Bijak, M. (2021c). The Existing Methods and Novel Approaches in Mycotoxins' Detection. *Molecules*, 26(13), 3981. <https://doi.org/10.3390/molecules26133981>

Kemboi, D. C., Ochieng, P. E., Antonissen, G., Croubels, S., Scippo, M., Okoth, S., Kangethe, E. K., Faas, J., Doupovec, B., Lindahl, J. F., & Gathumbi, J. K. (2020b). Multi-Mycotoxin Occurrence in Dairy Cattle and Poultry Feeds and Feed Ingredients from Machakos Town, Kenya. *Toxins*, 12(12), 762. <https://doi.org/10.3390/toxins12120762>

Li, Z., Li, Z., Li, X., Fan, Q., Chen, Y., & Shi, G. (2023). "Green" Extraction and On-Site Rapid Detection of Aflatoxin B1, Zearalenone and Deoxynivalenol in Corn, Rice and Peanut. *Molecules*, 28(7), 3260. <https://doi.org/10.3390/molecules28073260>



Lin, Y., Wang, S., Deng, X., Liu, N., & Wang, J. (2024). Toxicity and metabolism of deoxynivalenol and its reversal by *Bacillus subtilis* in broiler chickens. *Animal Feed Science And Technology*, 316, 116062. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.116062>

Maphaisa, T. C., Akinmoladun, O. F., Adelusi, O. A., Mwanza, M., Fon, F., Tangni, E., & Njobeh, P. B. (2025). Advances in mycotoxin detection techniques and the crucial role of reference material in ensuring food safety. A review. *Food And Chemical Toxicology*, 115387. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2025.115387>

Mehtab, U., Tahir, M., Abbas, R., Abbas, A., Hussain, K., Siddiqui, F., Mohsin, M., Rani, Z., Rehman, A., & Yasin, R. (2022). Ochratoxin A occurrence, its pathological effects on poultry health and decontamination approaches. *Journal Of The Hellenic Veterinary Medical Society*, 72(4), 3257. <https://doi.org/10.12681/jhvms.29355>

Meneely, J., Greer, B., Kolawole, O., & Elliott, C. (2023). T-2 and HT-2 Toxins: Toxicity, Occurrence and Analysis: A Review. *Toxins*, 15(8), 481. <https://doi.org/10.3390/toxins15080481>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2013). Resolución 4505 de 2013. https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%204506%20de%202013.pdf

Ministerio de Salud y Protección Social. (2014). Resolución 2671 de 2014. https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%202671%20de%202014.pdf

Ministerio de Salud y Protección Social. (2015). Resolución 3709 de 2015. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-3709-de-2015.pdf>

Morris Navarro, L. (2011). Determinación de aflatoxinas en muestras de maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) para consumo humano en cinco departamentos de la Costa Caribe Colombiana mediante cromatografía de alta eficiencia durante seis meses en 2011. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8318>



Muñoz, D. J., Rodríguez, R., Mota, J. J., & Suarez, L. R. (2015). AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS EN ALIMENTOS CONCENTRADOS PARA MASCOTAS DOMÉSTICAS (PERROS Y GATOS). *Revista Científica*, XXV(6), 432-438.

Navale, V., Vamkudoth, K. R., Ajmera, S., & Dhuri, V. (2021). Aspergillus derived mycotoxins in food and the environment: Prevalence, detection, and toxicity. *Toxicology reports*, 8, 1008–1030. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.04.013>

Ochieng, P. E., Scippo, M., Kemboi, D. C., Croubels, S., Okoth, S., Kang'ethe, E. K., Doupovec, B., Gathumbi, J. K., Lindahl, J. F., & Antonissen, G. (2021). Mycotoxins in Poultry Feed and Feed Ingredients from Sub-Saharan Africa and Their Impact on the Production of Broiler and Layer Chickens: A Review. *Toxins*, 13(9), 633. <https://doi.org/10.3390/toxins13090633>

Okechukwu, V. O., Adelusi, O. A., Kappo, A. P., Njobeh, P. B., & Mamo, M. A. (2023). Aflatoxins: Occurrence, biosynthesis, mechanism of action, and effects, conventional/emerging detection techniques. *Food Chemistry*, 436, 137775. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137775>

Olariu, RM, Fiț, NI, Bouari, CM, y Nadăș, GC (2025). Micotoxinas en la producción de pollos de engorde: Impacto en el crecimiento, la inmunidad, la eficacia de las vacunas y la seguridad alimentaria. *Toxins*, 17 (6), 261. <https://doi.org/10.3390/toxins17060261> Organización Mundial de la Salud (OMS). (2023). Micotoxinas. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>

Pecorelli, I., Guarducci, N., Von Holst, C., Bibi, R., Pascale, M., Ciasca, B., Logrieco, A. F., & Lattanzio, V. M. T. (2020). Critical Comparison of Analytical Performances of Two Immunoassay Methods for Rapid Detection of Aflatoxin M1 in Milk. *Toxins*, 12(4), 270. <https://doi.org/10.3390/toxins12040270>

Ramos A. J., Marín Sillué, S., Molino Gahete, F., Vila Donat, P., & Sanchis Almenar, V. (2020). Las micotoxinas: el enemigo silencioso. *Arbor*, 196(795), a540. <https://doi.org/10.3989/arbor.2020.795n1004>



Salazar-González, C., Velásquez-Ortiz, D. & Gómez-López, E. (2020). Detección de micotoxinas producidas por especies de *Fusarium* en Colombia. *Agronomía Colombiana*, 38 (2), 197–204. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v38n2.77176>

Shanmugasundaram, R., Lourenco, J., Hakeem, W. A., Dycus, M. M., & Applegate, T. J. (2023). Subclinical doses of dietary fumonisins and deoxynivalenol cause cecal microbiota dysbiosis in broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Frontiers In Microbiology*, 14, 1106604. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1106604>

Shanmugasundaram, R. (2025). Current approaches to the ongoing challenges of mycotoxins in poultry diets: Understanding and combating mycotoxins for sustainable poultry production. *The Journal Of Applied Poultry Research*, 34(4), 100586. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2025.100586>

Singh, J., & Mehta, A. (2020). Rapid and sensitive detection of mycotoxins by advanced and emerging analytical methods: A review. *Food Science & Nutrition*, 8(5), 2183-2204. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1474>

Twarużek, M., Skrzydlewski, P., Kosicki, R., & Grajewski, J. (2021b). Mycotoxins survey in feed materials and feedingstuffs in years 2015–2020. *Toxicon*, 202, 27-39. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.09.005>

Vallejo D. y Posada J. (2018). Micotoxinas en materias primas para alimentación animal en Colombia. Pereira : Universidad Tecnológica de Pereira. <https://hdl.handle.net/11059/10176>

Veratox for Aflatoxin | Mycotoxin Testing. (s. f.). <https://www.neogen.com>. <https://www.neogen.com/es/categories/mycotoxins/veratox-aflatoxin/>

Veratox for DON 2/3 | Mycotoxin Testing. (s. f.). <https://www.neogen.com>. <https://www.neogen.com/es/categories/mycotoxins/veratox-don-2-3/>

Veratox for Ochratoxin | Mycotoxin Testing. (s. f.). <https://www.neogen.com>. <https://www.neogen.com/es/categories/mycotoxins/veratox-ochratoxin/>

Veratox for T-2/HT-2 | Mycotoxin Testing. (s. f.). <https://www.neogen.com>. <https://www.neogen.com/es/categories/mycotoxins/veratox-t2-ht2/>



Wang, L., Hua, X., Shi, J., Jing, N., Ji, T., Lv, B., Liu, L., & Chen, Y. (2022). Ochratoxin A: Occurrence and recent advances in detoxification. *Toxicon*, 210, 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.02.010>

Yu, J., & Pedroso, I. R. (2023). Mycotoxins in Cereal-Based Products and Their Impacts on the Health of Humans, Livestock Animals and Pets. *Toxins*, 15(8), 480. <https://doi.org/10.3390/toxins15080480>