

## Aflatoxinas en alimentos y leche de vacas de 18 establecimientos comerciales de las regiones centro-sur y este de Uruguay

### Aflatoxins in food and cow milk from 18 commercial farm in the south-central and eastern regions of Uruguay

Alejandra Capelli<sup>1</sup> 0000-0003-1388-0345

Gonzalo Suárez<sup>2</sup> 0000-0003-2452-3546

Carmen García y Santos<sup>1</sup> 0000-0002-2485-0099

<sup>1</sup>Área Toxicología, Departamento de Patología. Facultad de Veterinaria. UdelaR. Alberto Lasplaces 1550, Montevideo, Uruguay.

Email: [acapelli@fvet.edu.uy](mailto:acapelli@fvet.edu.uy)

<sup>2</sup>Área Farmacología, Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria. UdelaR.

Veterinaria (Montevideo) Volumen 55  
Nº 212 (2019) 52-56

DOI: 10.29155/VET.55.212.2

Recibido: 12/03/2019

Aceptado: 22/07/2019



#### Resumen

Las micotoxinas, metabolitos secundarios producidos por hongos toxicogénicos que contaminan alimentos destinados al hombre y/o animales que una vez ingeridos pueden ocasionar problemas en la salud. Existen más de 250 micotoxinas, siendo las aflatoxinas una de las más estudiadas ya que son potenciales carcinogénicos. Las aflatoxinas consumidas por los animales son metabolizadas y excretadas en parte por leche como aflatoxina M<sub>1</sub>, representando un riesgo potencial para humanos. La fuente de aflatoxinas para los animales son los alimentos, por ello los niveles máximos permitidos están regulados, así como la presencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche y derivados. El objetivo del presente estudio fue evaluar 18 establecimientos lecheros comerciales de Uruguay, la presencia natural de aflatoxinas en alimentos destinados a vacas lecheras en producción y su correlación con la presencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche de los animales que estaban consumiendo esos alimentos. Se seleccionaron establecimientos comerciales remitentes de las zonas centro-sur y este del Uruguay, se tomaron muestras de los alimentos que consumían los animales y de la leche del tanque de frío al momento de la visita. Las aflatoxinas fueron cuantificadas mediante la técnica de Elisa, obteniéndose el 100% de muestras de alimento contaminadas y el 91,8% de muestras de leche con niveles de aflatoxinas. Los niveles de aflatoxinas no se correlacionaron con los de aflatoxina M<sub>1</sub>. La aflatoxina M<sub>1</sub> determinada en este estudio no representó riesgo para la salud ya que no superó los niveles máximos permitidos para el consumo en Uruguay.

**Palabras clave:** Micotoxinas, Aflatoxina M<sub>1</sub>, Ganado lechero, Salud Pública.

#### Summary

Mycotoxins are secondary metabolites produced by toxicogenic fungi species. They can contaminate humans and animals' food and once ingested can cause health harms. There are more than 250 mycotoxins, being aflatoxins one of the most studied due to their potential carcinogenic effect. It is known that the aflatoxins consumed by animals are metabolized and excreted in part by milk as aflatoxin M<sub>1</sub>, representing a potential risk for human health. Aflatoxins source for animals is feed, therefore, the maximum permitted levels are regulated, as well as the presence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and derivatives. The aim of the present study was to evaluate the natural presence of aflatoxins in the feeds destined to dairy cows in production in 18 commercial dairy farms of Uruguay. It also aimed to determine the correlation between the consumption of those feeds and the presence of aflatoxin M<sub>1</sub> in the milk of the animals. In order to achieve this objective, feed and milk samples were taken randomly from 18 dairy farms located in the south central area and the east region of Uruguay. Milk was taken from the cold tank. Aflatoxins were quantified by Elisa technique. The totally of the feed samples and 91.8% of the milk samples were contaminated with some aflatoxin levels. The levels of aflatoxins did not correlate with those of aflatoxin M<sub>1</sub>. The levels of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk did not exceed the maximum consumption levels allowed in Uruguay, thus did not represent a risk for human health.

**Keywords:** Mycotoxins, Aflatoxin M<sub>1</sub>, Dairy cattle, Public health.

---

## Introducción

---

En Uruguay la intensificación de los sistemas de producción láctea, han conducido a un aumento en la cantidad y variedad de los alimentos destinados a cubrir las necesidades energéticas de las vacas en producción (Cajarville et al., 2012). Actualmente, los suplementos energéticos ocupan un 60% de la alimentación de los bovinos lecheros y el 40% restante es en base a pastoreo (INALE, 2014). Son las reservas forrajeras (henos y ensilados), los concentrados energéticos (granos de cereales) y los proteicos (harinas de oleaginosas), sustratos ideales para el crecimiento de hongos toxicogénicos (Ellis et al., 1991; Yiannikouris y Jouany, 2002). Entre estos hongos, los géneros *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium* son los más frecuentes en este tipo de alimentos (Pittet, 1998). La importancia de estos géneros, está dada por su capacidad de producir micotoxinas, metabolitos secundarios que consumidos con alimentos afectan la salud del hombre y animales (Swanson, 1987). Sumado al riesgo en salud pública, las micotoxinas provocan serios perjuicios económicos, afectando la calidad y cantidad de las cosechas. Iqbal et al. (2013) estiman que el 25% de granos de cereales y oleaginosas en el mundo están contaminados con micotoxinas. Tanto el desarrollo de estos hongos, como la producción de micotoxinas, se asocian a factores ambientales, principalmente temperatura y humedad (Coulombe, 1993).

En la actualidad se conocen más de 250 micotoxinas, siendo las más importantes para el ganado bovino las aflatoxinas, fumonisinas, tricotecenos, ocratoxina A y zearalenona (Gallo et al., 2015). A su vez, son las aflatoxinas (AF) las de mayor relevancia en salud pública, ya que, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasifica la aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) como carcinogénica, perteneciente al Grupo IA (IARC, 2002). En adición a este efecto, es conocido que las AF consumidas por los animales, son metabolizadas y excretadas en parte como aflatoxina M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) a través de la leche (Galvano et al. 1998). Éste alimento representa entonces un riesgo potencial para humanos debido a que AFM<sub>1</sub> es resistente a procesos térmicos y de pasteurización (Galvano et al., 1996). Esta micotoxina es clasificada en el grupo 2B como posible micotoxina carcinogénica para el hombre (IARC, 2012).

La fuente de AF para los animales, son los alimentos, por ello los niveles máximos están reglamentados en diversas regiones del mundo. La Unión Europea, establece el límite en 5 µg/kg de AFB<sub>1</sub> en alimentos destinados a vacas lecheras. En Uruguay, la Dirección General de Servicios Agrícolas del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, recomienda un límite máximo de AF de 20 µg/kg en alimentos destinados a vacas lecheras en producción, de acuerdo a la reglamentación vigente del MERCOSUR. En Brasil a través del Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (Sindirações, 2009), se establecen los mismos valores como límites máximos. En cuanto a la AFM<sub>1</sub>, Uruguay se rige por el reglamento del MERCOSUR (2002), donde el límite para consumo humano es de 0,5 µg/L para leche fluida, el mismo nivel establece Brasil a través de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA, 2002). La Unión

Europea establece un límite inferior, 0,05 µg/L de AFM<sub>1</sub> para leche fluida (Reglamento (EU) N° 165/2010, 2010). Debido a la contaminación con AF en los alimentos destinados a los animales y su posterior excreción por leche, es fundamental el control a lo largo de la cadena agroalimentaria láctea. En este sentido, el objetivo del presente estudio fue evaluar en establecimientos lecheros comerciales de las zonas centro-sur y este del Uruguay, la presencia natural de AF en los alimentos destinados a vacas lecheras en producción y de AFM<sub>1</sub> en la leche de los animales que consumían esos alimentos.

---

## Materiales y métodos

---

### Colección de muestras

Se colectaron muestras de 18 establecimientos lecheros comerciales remitentes, seleccionados aleatoriamente de predios menores a 50 hectáreas, ubicados en los departamentos de Canelones, Lavalleja y San José. De cada establecimiento se retiró una muestra de 250 mL de leche del tanque de frío (n= 18) y una muestra de 2 kg por cada uno de los suplementos alimenticios (n=37) que consumían las vacas al momento de la toma de muestra de leche (variando de 1 a 3 muestras por productor). Debido a la variabilidad de suplementos colectados, se agruparon en dos grupos, “ensilados” (22/37 [59%]) y “concentrados” (15/37 [41%]). Las muestras de ensilados (silo bolsas) se obtuvieron manualmente de la abertura mediante calador colocado en tres direcciones (superior, media e inferior) en cinco puntos diferentes. Mientras que, para los concentrados, muestras representativas se obtuvieron directamente de las bolsas que estaban siendo administradas a las vacas en producción. Las muestras individuales de cada suplemento fueron homogeneizadas, refrigeradas y trasladadas para su procesamiento al Laboratorio de Toxicología de Facultad de Veterinaria (FV-UdelaR). Los suplementos se almacenaron en bolsas y la leche en frascos herméticos a -18°C hasta el momento de los análisis, en un plazo menor a 30 días. Los tipos de alimentos muestreados fueron para el grupo “ensilados” silo de grano húmedo de sorgo (11/22 [50%]), de planta entera de sorgo (1/22 [5%]) y de planta entera de maíz (10/22 [45%]), mientras que el grupo “concentrados” estuvo integrado por afrechillo de arroz (3/15 [20%]), pellet de soja (1/15 [6,6%]), lex de maíz (1/15 [6,6%]), ración totalmente mezclada (3/15 [20%]), cascarilla de soja (3/15 [20%]) y de cebada (1/15 [6,6%]), maíz americano (2/15 [13%]) y semitín de arroz y trigo (1/15 [7%]).

### Determinación de pH y Humedad

Para medir pH se pesaron 10 g de muestra y se homogeneizaron con 100 mL de agua destilada utilizando un pH metro digital (pH 5+, Oakton, Vernon Hills, IL, USA) previamente calibrado con una solución buffer de pH 7 a 25°C. El porcentaje de humedad, se calculó como la diferencia entre 100 y la materia seca, determinando la materia seca de acuerdo al método oficial de la AOAC, procedimiento 934.01 (AOAC, 1997). Ambas mediciones se realizaron por triplicado.

## Determinación de aflatoxinas en alimentos y leche

Los niveles de AF ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) se cuantificaron mediante ensayos de inmunoabsorbancia ligado a una enzima (ELISA) competitivo directo Ridascreen® Aflatoxin, R-Biopharm, Alemania. Para ello se pesaron 5g de la muestra de alimento, realizando la extracción de las AF con metanol al 70%. Se filtró y se diluyó con agua destilada. Se utilizaron 50  $\mu\text{L}$  de muestra diluida para la técnica de ELISA (RIDASCREEN® FAST). Los niveles de  $\text{AFM}_1$  ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ) se determinaron por duplicado con la misma metodología, utilizando un kit Ridascreen® Aflatoxin  $\text{M}_1$  de R-Biopharm, Alemania. Las mediciones se realizaron con espectrofotómetro (Bio-Tek® Instruments. Inc. Modelo EL301, Winooski, VT, USA) a una longitud de onda de 450 nm. Los resultados de los niveles de AF y de  $\text{AFM}_1$  fueron calculados con software especializado RIDA®SOFT (R-Biopharm – Alemania). Los niveles de AF fueron calculados según la curva de calibración provista por el fabricante con valores estándares de 2, 4, 10, 20, 50 y 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,994. Para  $\text{AFM}_1$ , la curva de calibración fue generada con las soluciones estándares 0, 5, 10, 20, 40 y 80  $\mu\text{g}/\text{L}$ , con un  $R^2$  de 0,989.

## Análisis de datos

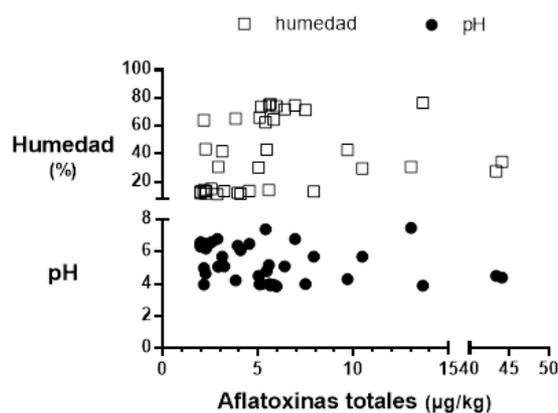
Los datos se analizaron en primera instancia con estadística descriptiva y se presentan como promedio  $\pm$  desvió estándar o porcentaje. El análisis estadístico se realizó sobre la variable de respuesta AF (previa transformación logarítmica) mediante modelos lineales mixtos (MLM), ajustando como efecto fijo a “suplemento”, “pH” y “humedad”. La identificación del “establecimiento” y el “tipo de alimento” anidado al establecimiento fue incluido en el modelo como efecto aleatorio. Para la simplificación de los modelos se incluyeron las interacciones y la significación de cada variable, se utilizó el criterio de información de Akaike (Sakamoto et al. 1978) con los análisis estadísticos de estimación de máxima verosimilitud restringida (REML) y la representación gráfica de los supuestos. Para la comparación entre los distintos niveles de tratamiento se consideró un nivel de confianza de 0,05. Todos los análisis fueron realizados utilizando la función *lmer* de la librería «nlme» del software R, versión 3.2.2 (R Development Core Team, 2015). Finalmente, se aplicó la prueba de correlación de Pearson para relacionar las concentraciones de AF con  $\text{AFM}_1$ .

## Resultados y Discusión

Del análisis de los datos de AF surge que en el presente estudio los valores de porcentaje de humedad y pH no representaron ser variables predictivas significativas ( $P > 0,05$ ), siendo el suplemento la única variable explicativa en el modelo final.

Los valores de pH variaron de 3,85 a 7,50 con un promedio de 5,29 (6,08 y 4,75 para concentrados y ensilados respectivamente), mientras que para los valores de humedad variaron de 11,6 a 76,5 con un promedio de 37,5 (14,1 y 56,4 para concentrados y ensilados respectivamente). Si bien, otros autores indican el riesgo que implica la relación entre humedad/pH y la presencia

de hongos, en nuestro estudio los valores de AF indicaron una distribución aleatoria e independientemente al rango de valores de porcentaje de humedad y pH (Figura 1).



**Figura 1:** Valores de aflatoxinas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) en función del pH y humedad (%) en suplementos alimenticios de 18 establecimientos lecheros de las regiones centro-sur de Uruguay.

La mayoría de las muestras de los suplementos alimenticios (34/37 [91,8%]) presentaron niveles de AF, los resultados se expresan en la tabla 1. Dos de las 34 muestras (5,8%) superaron los niveles de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  máximo recomendado por el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) para raciones destinadas a ganado lechero. Ambas muestras fueron silos de granos húmedos de sorgo sugiriendo un potencial riesgo de contaminación en este tipo de alimentos. Se evidenció una mayor variabilidad en la concentración de AF en los ensilados con respecto a los concentrados (tabla 1). La incorporación de la variable “tipo de alimento” anidada al “establecimiento” en los efectos aleatorios contribuyó a explicar 21,7% de la variabilidad de los resultados ( $R^2_{\text{m}} = 19,6 - R^2_{\text{c}} = 41,3$ ). Estos datos adquieren una importancia significativa considerando la gran difusión del ensilaje de granos húmedos y la variabilidad de granos que existe en Uruguay para su elaboración (Chakling y Brasesco, 1997). Más aún en los establecimientos lecheros donde existe una diversidad en la composición y cantidad de alimentos destinados a vacas lecheras en producción (Cajarville et al., 2012). Estudios específicos realizados en 20 muestras de silos de grano húmedo de sorgo, encontraron baja contaminación de hongos toxicogénicos, reportando un 10% con niveles de AF (García y Santos et al., 2012). La técnica utilizada para la cuantificación fue la misma que la del presente trabajo. Los niveles encontrados fueron inferiores a los recomendados por el MGAP. En México, Velázquez et al. (2009), utilizando la metodología de ELISA, reportaron porcentajes de contaminación similares a los encontrados en nuestro trabajo. De las muestras que analizaron, el 92,5% (37/40) de las raciones para bovinos lecheros presentaron niveles de AF en un rango de 4,8 a 24,9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . De estas un 9,3% presentaron niveles superiores a 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , límite máximo permitido por la legislación de ese país.

Todas las muestras de leche ( $n=18$ ) presentaron niveles de  $\text{AFM}_1$ , en un rango comprendido entre 0,005 a 0,08  $\mu\text{g}/\text{L}$ . De estas, el 11% mostraron niveles superiores a 0,05  $\mu\text{g}/\text{L}$ , límite

**Tabla 1.** Presencia natural de aflatoxinas, discriminadas por tipo de suplemento alimenticio utilizado en 18 establecimientos lecheros de las regiones centro-sur de Uruguay.

Suplementos	Porcentaje	Media [rango]	Media estimada [IC]
	% (n)	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Concentrados	80 (12/15)	3,9 [2,0 a 10,6]	3,3 [2,4 a 4,7]
Ensilados	100 (22/22)	9,5 [2,2 a 44,1]	5,3 [3,6 a 7,8]*

Los valores se expresan en porcentaje, media aritmética de los datos observados [rango] y estimados por el modelo estadístico [intervalo confianza 95% (IC)]; \*  $p = 0,003$ , MLM.

establecido para la exportación de leche entera a la Unión Europea. El consumo prolongado de bajas concentraciones de AFM<sub>1</sub>, como las analizadas, representaría un factor de riesgo para la salud pública, debido a que la leche es un componente importante de la dieta humana, principalmente en niños (López et al., 2003; Prandini et al., 2009). Sin embargo, ninguna de las muestras superó los niveles permitidos por la reglamentación vigente del MERCOSUR (0,5  $\mu\text{g}/\text{L}$ ).

Otros autores evaluaron leche cruda en México, utilizando un kit de ELISA de RomerLabs®, reportando 80% (32/40) de muestras con niveles de AFM<sub>1</sub>, con un rango de 0,006 a 0,065  $\mu\text{g}/\text{L}$ . El 7,5% de las muestras (3/40) superaron los niveles de 0,05  $\mu\text{g}/\text{L}$  permitidos para la comunidad europea (Velázquez et al., 2009). En Brasil Sassahara et al., (2005) reportaron 24% de muestras de leche cruda (10/42), con niveles AFM<sub>1</sub> presentando el 7% de las mismas, niveles superiores a los permitidos por ANVISA. La leche fue analizada mediante kit de ELISA comercial (Ridascreen® Afla M<sub>1</sub>, Fast, Alemania). Para el mismo país, estudios realizados en leche consumo, utilizando como herramienta de medición la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), reportaron un 82% (50/61) de muestras positivas para AFM<sub>1</sub> (Prado et al., 1999). Los rangos determinados fueron de 0,006 a 0,077  $\mu\text{g}/\text{L}$ . El 5% (3/61) alcanzaron niveles superiores a la normativa europea (0,05  $\mu\text{g}/\text{L}$ ). En Argentina un estudio realizado por Michlig et al. (2016) en leche proveniente de tanque de frío de establecimientos comerciales, reportaron 38,8% (62/160) muestras con niveles inferiores a 0,5  $\mu\text{g}/\text{L}$ , cuantificados por la metodología de HPLC, no superando los niveles permitidos por la reglamentación del MERCOSUR.

Los niveles de AFM<sub>1</sub> reportados en los distintos trabajos fueron muy diversos, ello podría explicarse principalmente por la alimentación que recibían los animales y por la metodología de análisis empleada para la determinación de AFM<sub>1</sub>. Los alimentos que reciben los animales pueden presentar distinto grado de contaminación, según las regiones, época del año, factores climáticos y condiciones de almacenamiento (Sassahara et al., 2005). Es conocido que en regiones tropicales existe mayor riesgo de contaminación por AF totales que en regiones templadas. (Yiannikouris y Jouany, 2002). También son los métodos analíticos utilizados los que pueden intervenir en la diversidad de los resultados. Peng et al. (2016) desarrollaron y validaron un ensayo de inmunoabsorción con anticuerpos monoclonales para determinar niveles de AFM<sub>1</sub> en leche con

una alta correlación positiva ( $r=0,99$ ), demostrando que el método ic-ELISA es muy confiable. No obstante, Rosi et al. (2007) recomiendan que las muestras positivas obtenidas por la metodología de ELISA sean confirmadas por HPLC debido a posibles interferencias que puedan existir en dicha metodología. En el presente estudio, los niveles de AF no se correlacionaron con los niveles de AFM<sub>1</sub> ( $r=0,003$ ;  $p=0,91$ ). La falta de asociación pudo deberse a que la AFM<sub>1</sub> excretada en leche, es derivada de la AFB<sub>1</sub> y en este trabajo se determinó AF totales y no AFB<sub>1</sub>. A su vez, Turner et al. (2009) mencionan que las micotoxinas en los alimentos no se distribuyen de manera homogénea ni suelen encontrarse en grandes cantidades, lo que podría influir sobre el muestreo y posterior análisis de las mismas.

## Conclusiones

En la mayoría de los alimentos evaluados en este estudio se cuantificaron niveles de AF, siendo los ensilados los de mayor contaminación. En leche, los niveles de AFM<sub>1</sub> no representaron riesgo para la salud pública, ya que no superaron los niveles máximos permitidos para su consumo en Uruguay. No obstante, la presencia de éstos metabolitos demuestra un riesgo potencial, por lo que es importante seguir realizando estudios para determinar la incidencia de AF en alimentos y AFM<sub>1</sub> en leche.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por la Comisión de Investigación y Desarrollo Científico (CIDEC).

## Bibliografía

ANVISA (2002). Regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, no amendoim, no milho. Resolução-RDC nº 274. Disponible en: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/274\\_02rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/274_02rdc.htm)

AOAC (1997). *Official Methods of Analysis* (16th ed, 3rd revision). Gaithersburg: AOAC International.

Cajarville, C., Mendoza, A., Santana, A., Repetto, J. L. (2012). En tiempos de intensificación productiva, ¿cuánto avanzamos en el conocimiento de los nuevos sistemas de alimentación de la vaca lechera? *Veterinaria (Montevideo)*, 48(supl.1), 35-39.

Chakling, D., Brasesco, R. (1997). Ensilaje de grano húmedo: una alternativa promisorio. *Rev Plan Agrop*, 76, 22-25. Disponible en: [https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R76/R\\_76\\_22.pdf](https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R76/R_76_22.pdf)

Coulombe, R. A. Jr. (1993). Biological Action of Mycotoxins. *J Dairy Sci*, 76, 880-891.

Ellis, J. W. O., Smith, P., Simpson, B. K. (1991). Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 30(4), 403-439.

Gallo, A., Giuberte, G., Frisvad, J. C., Bertuzzi, T., Nielsen, K. F. (2015). Review on mycotoxin issues in ruminants: occurrence in forages, effects of mycotoxin ingestion on health status and animal performance and practical strategies to counteract their negative effects. *Toxicon*, 7(8), 3057-3111.

Galvano, F., Galofaro, V., De Angelis, A., Galvano, M., Bognanno, M., Galvano, G. (1998). Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy. *J Food Prot*, 61(6), 738-741.

- Galvano, F., Galofaro, V., Galveno, G. (1996). Occurrence and Stability of Aflatoxin M1 in Milk and Milk Products: A Worldwide Review. *J Food Prot*, 59(10), 1079-1090.
- García y Santos, C., Hugo, I., Suárez, G., Capelli, A., Domínguez, R., Sosa, S., Cajarville, C. (2012). Dinámica del pH en microsilos experimentales, con distintos niveles de humedad y el agregado de inoculante. *Veterinaria (Montevideo)*, 48 (supl. 1), 142.
- IARC (2002). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. En: *Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans* (Vol. 82, pp. 1-556). Lyon: World Health Organization.
- IARC (2012). Aflatoxins. En: *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans* (Vol. 100F, Chemical Agents and Related Occupations, pp. 225-248). Disponible en: [https://publications.iarc.fr/\\_publications/media/download/5290/768636f6a2249bd9f230b2f1944a0b582765e341.pdf](https://publications.iarc.fr/_publications/media/download/5290/768636f6a2249bd9f230b2f1944a0b582765e341.pdf)
- INALE (2014). Encuesta lechera 2014. Disponible en: [www.inale.org/innovaportal/v/3597/4/innova.../encuesta-lechera-inale-2014.html](http://www.inale.org/innovaportal/v/3597/4/innova.../encuesta-lechera-inale-2014.html)
- Iqbal, S., Asi, M., Jinap, S. (2013). Variation of aflatoxin M1 contamination in milk and milk products collected during winter and summer seasons. *Food Control*, 34(2), 714-718.
- López, C., Ramos, L., Ramadán, S., Bulacio, L. (2003). Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food Control*, 14(1), 31-34.
- MERCOSUR (2002). Reglamento técnico MERCOSUR sobre límites máximos de aflatoxinas admisibles en leche, maní y maíz. GMC/RES. N° 25/02. Disponible en: [http://www.mercosur.int/msweb/Normas/normas\\_web/Resoluciones/ES/Res\\_025\\_002\\_RTM\\_Aflatoxinas%20en%20Lech-Man%C3%AD-Ma%C3%ADz\\_Acta%202\\_02.PDF](http://www.mercosur.int/msweb/Normas/normas_web/Resoluciones/ES/Res_025_002_RTM_Aflatoxinas%20en%20Lech-Man%C3%AD-Ma%C3%ADz_Acta%202_02.PDF)
- Michlig, N., Signorini, M., Gaggiotti, M., Chiericatti, C., Basilico, J. C., Repetti, M. R. (2016). Risk factors associated with the presence of aflatoxin M1 in raw bulk milk from Argentina. *Food Control*, 64, 151-156.
- Peng, D., Yang, B., Pan, Y., Wang, Y., Chen, D., Liu, Z., Tang, W., Tao, Y., Yuan, Z. (2016). Development and validation of a sensitive monoclonal antibody-based indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of the aflatoxin M1 levels in milk. *Toxicon*, 113, 18-24.
- Pittet, A. (1998). Natural occurrence of mycotoxins in food and feeds: an updated review. *Rev. Med. Vet (Toulouse)*, 149(6), 479-492.
- Prado, G., Oliveira, M. S., Abrantes, F. M., Santos, L. G., Soares, C. R., Veloso, T. (1999). Ocorrência de aflatoxina M1 em leite consumida na cidade de Belo Horizonte - Minas Gerais / Brasil - agosto/98 a abril/99. *Food Sci Technol*, 19(3), 420-423.
- Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M., Piva, G. (2009). On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food Chem Toxicol*, 47(5), 984-991.
- R Development Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponible en: <http://www.R-project.org/>
- Reglamento (EU) N° 165/2010 de la comisión de 26 de febrero de 2010 que modifica, en lo que respecta a las aflatoxinas, el Reglamento (CE) no 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. (2010, 27 de febrero). *Diario Oficial De La Unión Europea*. Disponible en: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/calidad/aflatoxina.pdf>
- Rosi, P., Borsari, A., Lasi, G., Lodi, S., Galanti, A., Fava, A., Girotti, S., Ferri, E. (2007). Aflatoxin M1 in milk: reliability of the immunoenzymatic assay. *Int Dairy J*, 17(5), 429-435.
- Sakamoto, Y., Akaike, H. (1978). Analysis of cross classified data by AIC. *Ann Inst Statist Math*, 30 (1), 185-197.
- Sassahara, M., Pontes Netto, D., Yanaka, E. K. (2005). Aflatoxin occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk in the North of Paraná state. *Food Chem Toxicol*, 43(6), 981-984.
- Sindirações (2009). *Compêndio brasileiro de alimentação animal* 2009. São Paulo.
- Swanson, B. G. (1987). Mycotoxins on fruits and vegetables. *Acta Hortíc*, 207, 49-62.
- Turner, W. N., Subrahmanyam, S., Piletsky, S. A. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins: A Review. *Anal Chim Acta*, 632(2), 168-180.
- Velázquez, W. R., Martínez, S. P., Espinosa, V. H. I., Vera, M. A. N., Palacios, E. D. L., Rojo F. (2009). Aflatoxinas totales en raciones de bovinos y AFM<sub>1</sub> en leche cruda obtenida en establos del estado de Jalisco, México. *Tec Pecú México*, 47(2), 223-230.
- Yiannikouris, A., Jouany, J. P. (2002). Mycotoxins in feed and their fate in animals: a review. *Anim Res*, 51(2), 81-99.

## Nota de Contribución:

Alejandra Capelli 34%

Gonzalo Suárez 33%

Carmen García y Santos 33%