

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE ZOOTECNIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a woman in a red dress and white headscarf, holding a book. Above her is a golden crown. The seal is surrounded by a Latin inscription: "UNIVERSITAS SAN CAROLINI CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA QUAETEMALENSIS INTER CETTERAS AMERICAE OCCIDENTALES".

**“DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE AFLATOXINA
(M1) EN LECHE CRUDA PROVENIENTE DE
EXPLOTACIONES LECHERAS ASOCIADAS A
COOPROLECHE EN LA REGION DE LA COSTA SUR DE
GUATEMALA”**

RODRIGO ALEJANDRO BERMUDEZ VALLE

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2011.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE ZOOTECNIA

**“DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE AFLATOXINA
(M1) EN LECHE CRUDA PROVENIENTE DE
EXPLORACIONES LECHERAS ASOCIADAS A
COOPROLECHE EN LA REGION DE LA COSTA SUR DE
GUATEMALA”**

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

POR

RODRIGO ALEJANDRO BERMUDEZ VALLE

AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE:

LICENCIADO ZOOTECNISTA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2011.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

| | |
|--------------------|---|
| DECANO: | Med. Vet. Leonidas Ávila Palma |
| SECRETARIO: | Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina |
| VOCAL I: | Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo |
| VOCAL II: | Mag. Sc. Med. Vet. Dennis Sigfried Guerra Centeno |
| VOCAL III: | Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González |
| VOCAL IV: | Br. Javier Enrique Baeza Chajón |
| VOCAL V: | Br. Ana Lucía Molina Hernández |

ASESORES

M.V Roberto Herman
M.V. Beatriz Santizo
M. Sc. Zoot. Carlos Saavedra
M.A. Zoot. Silvia María Zea
Lic. Zoot. Hugo Peñate Moguel

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

EN CUMPLIMIENTO A LO ESTABLECIDO POR LOS ESTATUTOS DE
LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

PRESENTO A

SU CONSIDERACIÓN EL TRABAJO DE TESIS TITULADO

“DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE AFLATOXINA (M1) EN LECHE CRUDA PROVENIENTE DE EXPLORACIONES LECHERAS ASOCIADAS A COOPROLECHE EN LA REGION DE LA COSTA SUR DE GUATEMALA”

QUE FUERA APROBADO POR LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE

LICENCIADO ZOOTECNISTA

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS** Por darme el don de la vida, y la oportunidad de finalizar cada meta impuesta en mi vida.
- A MIS HIJOS** Matías y mi futuro bebe por ser mi fuerza fortaleza y mis ganas de vivir y la alegría infinita que me dan día a día.
- A MI ESPOSA** Valery Maul, por su gran amor, apoyo incondicional, confianza y paciencia.
- A MIS PADRES** por su apoyo incondicional y su gran amor.
- A MIS HERMANOS** Alvaro, Paulo, Yuri, Jorge, por ayudarme siempre que los necesitaba.
- A MIS SUEGROS** Hugo y Sonia por ser un apoyo incondicional en mi vida y por alentarme a seguir adelante.
- A MIS SOBRINOS** Paulo, Andrea, Jorge, Ariana, Elena, Soley, Giuliana, Stephano, Matias, Sophia, por alegrarme la vida.
- A MIS AMIGOS** Danilo, Gustavo, Sigrid, Luis, Alex, Linda, Kevin, Jorge Berganza y José Rivas mil gracias por su apoyo incondicional, por su cariño y por todos los momentos inmemorables que me permitieron compartir con ustedes.

AGRADECIMIENTOS

- A: Dios por permitirme culminar con sabiduría y paciencia la realización del presente trabajo de investigación y por las bendiciones recibidas.
- A: Mis padres, esposa, hijos, suegros por sus sabios consejos, llevándome siempre por el buen camino a través de su gran amor, ejemplo y apoyo. Este logro es por todo lo que han forjado en mí. Gracias por siempre estar conmigo y confiar en mí, los quiero mucho.
- A: Mis asesores M.V Roberto Herman, M.V Beatriz Santizo, M. Sc. Zoot. Carlos Saavedra, M.A. Zoot. Silvia María Zea y Lic. Zoot. Hugo Peñate Moguel por su colaboración, tiempo y experiencia aportada en este estudio.
- A: Todos mis amigos, catedráticos y personas que en algún momento formaron parte de mi vida académica y dejaron huella en mi corazón y en mi vida para alcanzar mi meta profesional.
- A: La Granja Avícola María por permitirme realizar la pasantía y a la Cámara de Productores de Leche (CPLG) por condescenderme la oportunidad de efectuar el ejercicio profesional supervisado (EPS).
- A: La Universidad de San Carlos de Guatemala, especialmente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, donde orgullosamente me forme para ejercer profesionalmente la zootecnia.

ÍNDICE

| | | |
|-------|--|----|
| I. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. | OBJETIVOS..... | 4 |
| 2.1 | GENERAL..... | 4 |
| 2.2 | ESPECÍFICOS | 4 |
| III. | HIPOTESIS..... | 5 |
| IV. | REVISIÓN DE LITERATURA..... | 6 |
| 4.1 | Características de la Aflatoxina: | 6 |
| 4.1.1 | Aflatoxina B1..... | 8 |
| 4.2 | Toxicología..... | 9 |
| 4.2.1 | Toxicología de la AFM1 | 10 |
| a) | Toxicidad Aguda..... | 10 |
| b) | Toxicidad Crónica | 11 |
| 4.3 | Normativa aplicada al control de aflatoxinas | 12 |
| 4.3.1 | Normativa del FDA..... | 12 |
| 4.3.2 | Normativa Codex Alimentarius | 14 |
| V. | MATERIALES Y MÉTODOS | 15 |
| 5.1 | Localización y Descripción del área | 15 |
| 5.2 | Duración del estudio | 15 |
| 5.3 | Materiales y equipo | 15 |
| 5.4 | Manejo del estudio..... | 16 |
| 5.4.1 | Selección de fincas..... | 16 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5.4.2 | Fase I: Recolección de información general..... | 16 |
| 5.4.3 | Fase II: Toma de la muestra | 16 |
| 5.4.4 | Procedimiento para la toma de las muestras de leche..... | 17 |
| 5.5 | Análisis Estadístico | 18 |
| VI. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 20 |
| 6.1 | RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LA ENCUESTA..... | 20 |
| 6.1.1 | Tipo de alimento..... | 20 |
| 6.1.2 | Tipo de suplemento | 20 |
| 6.1.3 | Modo de almacenamiento del alimento..... | 21 |
| 6.1.4 | Descripción de los hatos..... | 21 |
| 6.2 | Resultado de laboratorio (PRUEBA DE ELISA) | 22 |
| VII. | CONCLUSIONES | 26 |
| VIII. | RECOMENDACIONES | 27 |
| IX. | RESUMEN | 28 |
| | SUMMARY..... | 30 |
| X. | BIBLIOGRAFÍA | 32 |
| XI. | ANEXOS..... | 35 |
| 10.1 | BOLETA DE INSPECCIÓN..... | 36 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | | |
|-------------------------|--|----|
| CUADRO No. 1 | Niveles de acción de la FDA en alimentos para animales y leche. | 13 |
| CUADRO No. 2 | Registros y parámetros de producción de las diferentes lecherías encuestadas..... | 21 |
| CUADRO No. 3 | Resultados de laboratorio (promedio) del contenido de aflatoxina M1 (AFM1) en lecherías estudiadas y norma del FDA (Food & Drug Administration) como comparador..... | 23 |

I. INTRODUCCIÓN

La aflatoxina M1 (AFM1) es el derivado AFB1 y es excretada en la leche de las vacas que consumen AFB1 en la dieta (Henry et al., 2001). En vacas lecheras, el paso de AFB1 a la leche en forma de AFM1 está relacionado de manera lineal con la producción de leche (Veldman et al., 1992). Tanto la AFB1 como la AFM1 son compuestos hepatotóxicos y carcinogénicos y sus efectos sobre la salud pública constituyen una permanente preocupación (Chu, 1991). La presencia de AFM1 ha sido reportada en leche materna (Saad et al., 1995) y su detección es considerada como un biomarcador de exposición a AFB1 (Elnejami et al., 1995). (Citado por Gonzalo J).

La aflatoxina B1 crece en los granos, especialmente en maíz, maníes y semillas de algodón; las raciones de rumiantes normalmente incluyen forrajes y concentrado, lo que aumenta el riesgo de micotoxinas, el alimento contaminado con aflatoxinas, no sólo reduce el desempeño y la salud del animal sino que genera serios riesgos de contaminación láctea. (1)

La AFB1 se absorbe de manera rápida e intensa y se transforma en aflatoxina M1 (AFM1) en el hígado, la cual es eliminada a través de la leche o en la orina; se ha establecido que la AFM1 aparece en la leche 12 horas después que la vaca ha ingerido su alimento. Los análisis de leche por AFM1 en explotaciones lecheras son posibles utilizando la tecnología de prueba (ELISA) de inmunoabsorbente enzimático (10).

Los principales factores que tienen influencia sobre la toxicidad de las micotoxinas en los humanos son: La biodisponibilidad y toxicidad de la micotoxinas, los sinergismos entre ellas, la cantidad de micotoxinas ingerida diariamente en función de la concentración de micotoxinas y de la cantidad de alimento ingerido, la continuidad o intermitencia de ingestión del alimento contaminado, el peso del individuo y el estado fisiológico y de salud de éste, la edad del individuo. Así pues, los niños y los jóvenes son más susceptibles a la toxicidad de las micotoxinas debido a una mayor variación del metabolismo basal, ya que ellos pueden no tener suficientes mecanismos bioquímicos para la detoxificación. En los niños el cerebro continúa su desarrollo durante muchos años después del nacimiento y esto puede causar una mayor susceptibilidad a las micotoxinas que afectan al sistema nervioso central (5).

Las aflatoxinas tienen una gran actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. El principal síntoma que produce es el hepatotóxico, pudiendo también provocar problemas renales. Los principales órganos afectados son: el hígado, riñón y cerebro. (1)

Las aflatoxinas son inmunosupresoras ya que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica (los anticuerpos son proteínas) interrumpiendo la formación del ADN, ARN y proteínas en el ribosoma; la absorción de los aminoácidos se ve alterada y su retención hepática aumenta (6).

En Guatemala, no existe información sobre AFM1 en la leche fluida, polvo y en otros derivados lácteos, por tal motivo, el presente trabajo es de vital importancia para preservar la salud humana.

Aunque en la literatura se sugieren varios niveles de tolerancia para aflatoxina M1 (AFM1), para la realización de este estudio se tomara como guía las normas establecidas por la FDA (Food&DrugAdministration) de los Estados Unidos de Norteamérica (4)

II. OBJETIVOS

2.1 GENERAL

- Generar información sobre la presencia de aflatoxina (M1) en la leche cruda de bovino.

2.2 ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia y concentración de aflatoxina (M1) en términos de (ppb) partes por billón en 6 fincas tecnificadas de la costa sur de Guatemala.
- Establecer si el contenido de aflatoxina M1 está dentro de los rangos permitidos por el FDA (Food and Drug Administration).

III. HIPOTESIS

La cantidad de aflatoxina (M1) encontrada en leche cruda de Cooproleche está dentro de los parámetros permitidos por la FDA (Food and Drug Administration).

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Características de la Aflatoxina:

El nombre de la aflatoxina hace referencia al hecho de ser biosintetizadas por el hongo *Aspergillus flavus* y fue propuesto en 1962 por sus descubridores. La letra, A, hace referencia al género *Aspergillus*, las tres siguientes FLA proceden de la especie *flavus* y el término toxina se refiere a su efecto tóxico. En cuanto a las aflatoxinas B y G se le denomina así por el color de la fluorescencia que emite bajo la luz ultra violeta azul (blue), verde (green), respectivamente. (10)

Las aflatoxinas son metabolitos de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, los cuales producen las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, Se trata de mohos toxigénicos capaces de desarrollarse en gran variedad de sustratos, pudiendo contaminar los alimentos cuando éstos son cultivados, procesados, transformados o almacenados en condiciones adecuadas que favorezcan su desarrollo. El crecimiento de estos mohos y la producción de toxinas dependen de muchos factores como el alimento, su grado de acidez, la temperatura o humedad ambientales y la presencia de microflora competidora.

Los hongos son organismos eucariotes (su ADN está contenido en un núcleo). Muchos de ellos pueden semejar a las plantas, pero los hongos no fabrican su propio alimento a partir de la energía solar como lo hacen las plantas por carecer de clorofila. Los hongos pueden vivir a expensas de tejidos vivos de un organismo, absorbiendo azúcares y aminoácidos simples de las células vivas del hospedante (biótrofos), por lo que ocasionan enfermedades; o bien le causan la muerte por toxinas o la destrucción de tejidos por enzimas y luego utilizan la materia orgánica (necrótrofos).

Las micotoxinas son productos resultantes del metabolismo secundario de los hongos, pueden desencadenar cuadros graves de toxicidad cuando las condiciones medioambientales son favorables para su producción por lo que es muy importante su prevención. (11)

Las aflatoxinas son un grupo de compuestos que cobraron importancia a partir de la muerte repentina en Escocia (1960), de cien mil pavos alimentados con maní infectado con una especie fúngica: *Aspergillus flavus* proveniente del Brasil. Los micelios de ésta y otras especies afines productoras de aflatoxinas, son capaces de colonizar semillas y tortas de oleaginosas de maní, girasol, algodón, soya, sésamo, avellanas, almendras y cereales y sus derivados dispuestos en sacos o silos.

El crecimiento de este hongo se ve afectado por la termohigrotropía, es decir que responde al estímulo de la temperatura y la humedad relativa de la atmósfera y del sustrato. Así, la formación de aflatoxinas en el maíz o maní tiene lugar si este se almacena entre 20° y 40°C con un 10-20% de humedad y con un 70-90% de humedad relativa en el aire: el crecimiento del hongo se ve favorecido si los granos están dañados por insectos o roedores. Pero, aún en ausencia de estas condiciones, si ya han germinado algunas esporas en el sustrato, se pueden formar "nichos ecológicos" que favorecen el desarrollo de sectores con micelios generadores de aflatoxinas porque al crecer produce agua por respiración aumentando así la humedad de algunas semillas o granos (5).

Sustratos ricos en proteínas y bajos en carbohidratos no incrementan la producción de aflatoxinas en el caso de *A. parasiticus*. Mientras tanto, *A. flavus* puede utilizar pocos carbohidratos, pero producir grandes cantidades de aflatoxinas.

La composición química de las aflatoxinas varía con las cepas, el sustrato o materia orgánica sobre el cual crece y las condiciones ambientales del crecimiento del hongo.

El reconocimiento de la actividad carcinogénica de las aflatoxinas ha llevado a interrogantes concernientes al peligro que representan para la salud pública la contaminación de los alimentos con hongos. Hay mayores evidencias en aquellas áreas del mundo donde se ha incrementado la incidencia de carcinoma hepático en la población expuesta a las aflatoxinas donde la nutrición proteica es deficiente (8).

4.1.1 Aflatoxina B1

Aflatoxinas B1 Los mayores niveles de contaminación por aflatoxinas se han registrado en maíz, sorgo, semillas de algodón, cacahuates, nueces, y avellanas. En cereales como el trigo, arroz, centeno o cebada la presencia de estos tóxicos suele ser menor (5).

Aunque se sabe que las aflatoxinas causan cáncer en los animales, la FDA de los Estados Unidos las permite a bajos niveles, ya que se consideran "contaminantes inevitables" de estos alimentos. Se considera que el consumo ocasional de pequeñas cantidades de aflatoxinas ofrece poco riesgo durante la vida y no es práctico intentar quitar la aflatoxina del producto alimenticio contaminado, con el fin de hacerlo comestible (10).

4.2 Toxicología

El Comité Científico de Alimentación Humana de la Unión Europea ha señalado que la AFB1 es un agente cancerígeno genotóxico que contribuye al riesgo de padecer cáncer hepático, incluso a dosis sumamente bajas (9).

La IARC (International Agency for Research on Cancer) también ha clasificado a la aflatoxina B1 dentro de la categoría de sustancias del tipo 1 en base a la existencia de suficientes evidencias acerca de su carácter carcinogénico para el hombre, tanto aisladamente, como en mezclas naturales con las otras aflatoxinas. La misma agencia clasificó la aflatoxina M1 en la categoría 2B como corresponde a un agente carcinogénico para el hombre basándose en los estudios realizados con animales de experimentación, aunque con evidencias insuficientes por el momento (14).

4.2.1 Toxicología de la AFB1

Cuando la AFB1 es absorbida por el tracto gastrointestinal pasa al hígado donde es metabolizada por las monooxigenasas microsomales de las células hepáticas. Los productos de degradación de la aflatoxina B1 y metabolitos no conjugados de este pasan al sistema circulatorio y se distribuye a la leche, huevos, músculos y tejidos comestibles. Aproximadamente el 50% de la AFB1 es eliminada por la bilis en su forma conjugada con glutatión, ácido glucorónico o con sulfato y entre el 15 y el 25% es eliminada por la orina en forma inalterada o previamente metabolizada. Su eliminación es lenta ya que solo el 70-80% se elimina 4 días después de haber sido ingerida según se ha observado en el ratón, mono y rata. En sangre, una elevada proporción de aflatoxina B1 se fija a la albúmina y una pequeña cantidad (del 1-10%) se une covalentemente a las proteínas hepáticas (10).

Los efectos nocivos de la intoxicación por aflatoxinas en los animales (y presumiblemente en humanos) han sido clasificados en dos formas generales:

a) Toxicidad Aguda

Los síntomas de la intoxicación aguda tienen lugar cuando se ingieren grandes cantidades de aflatoxinas, las cuales, como se ha mencionado anteriormente, son absorbidas en el intestino delgado llegando hasta el hígado. La presencia de las aflatoxinas en el hígado da lugar a una infiltración de lípidos que originara necrosis y muerte celular hepática. En el hígado las enzimas oxidasas la biotransforman en una serie de metabolitos algunos altamente reactivos y que tienen la capacidad de unirse covalentemente con el ADN, ARN y proteínas. Los metabolitos originados reaccionan con diferentes proteínas celulares lo cual origina la inhibición de la síntesis de proteínas, además de la inhibición del metabolismo de carbohidratos y de lípidos.

Paralelamente, se observa falta de apetito (anorexia), depresión, ictericia, diarrea y foto sensibilización, llegando a la muerte en el caso de animales, en un periodo que puede variar entre 12 y 27 días tras el consumo del alimento contaminado. (10)

El 4% de la AFM1 pasa a la leche de vaca de 3 a 18 horas después de ser ingerida la AFB1; en la cabra, pasa a la leche el 1%. Por ejemplo, si una vaca consume 6 kilos de concentrado contaminado por 10 $\mu\text{k}/\text{kg}$ de AFB1, con una producción diaria de 20 litros de leche se eliminaría de 0.02 a 0.07 $\mu\text{k}/\text{kg}$ de AFM1 (2)

La AFM1 se detecta en la leche del animal de 12 a 24 horas después de la ingestión de AFB1 alcanzando los niveles más elevados a los 2 ó 3 días y disminuye hasta desaparecer 4 ó 5 días después de su consumo (10).

b) Toxicidad Crónica

La intoxicación crónica que es la forma más frecuente se debe al consumo de alimentos contaminados con niveles bajos de aflatoxinas durante semanas y/o meses. Los síntomas en animales no son muy específicos: reducción de la ganancia de peso, menor índice de conversión, disminución en la producción de huevos y leche y mayor susceptibilidad frente a diversas enfermedades infecciosas. Este último síntoma se debe a los efectos inmunosupresores ocasionados por la reactividad de las aflatoxinas con células T y por la disminución en la actividad fagocitaria de los macrófagos. En general, las aves son más sensibles a las aflatoxinas que los mamíferos. El orden de susceptibilidad en aves es: Patos<pavos<pollos; y en mamíferos en orden es el siguiente: perros<cerdos<terneros<ovejas<ganado bovino.

Una explicación de por qué es menos susceptible el último grupo reside en que las enzimas bacterianas presentes en el rumen tienen la capacidad de degradar a las aflatoxinas haciéndolas perder su toxicidad (10).

Para controlar la cantidad de aflatoxina presente en alimentos para animales y humanos, la FDA (Food & Drug Administration) ha establecido los niveles máximos de aflatoxina que pueden estar presentes en los alimentos para animales, y de AFM1 que pueden estar presentes en la leche. Tales niveles son llamados niveles de acción (12).

4.3 Normativa aplicada al control de aflatoxinas

4.3.1 Normativa del FDA

El nivel de acción para AFM1 en leche es 0.5 ppb. Los niveles de acción para AFB1 en alimento varían. Los niveles de acción son discutidos por debajo de 0.5 (ppb).

Aunque en la literatura se sugieren varios niveles de tolerancia para aflatoxina, los siguientes son los establecidos por la FDA (Food & Drug Administration) de los Estados Unidos de Norteamérica (12).

Cuadro No. 1 - Niveles de acción de la FDA en alimentos para animales y leche.

| Producto | Nivel Acción (ppb)^{1,2,3} |
|---|---|
| Productos de maíz y maní con intención de terminar ganado de carne (por ejemplo: feedlot) | 300 |
| Harina de semilla de algodón con intención de alimentar ganado de carne, cerdos, o aves (sin tener en cuenta edad o estado de crecimiento) | 300 |
| Productos de maíz y maní con intención de terminar cerdos de 100 libras o más | 200 |
| Productos de maíz y maní con intención de cría de de ganado de carne, cerdos, o aves maduras | 100 |
| Productos de maíz, maní y otros alimentos e ingredientes para animales, excluyendo harina de semilla de algodón (para animales inmaduros) | 20 |
| Productos de maíz, maní, harina de semilla de algodón y otros ingredientes para alimento de ganado de leche, especies animales o usos no especificados antes, o cuando el uso de intención es desconocido | 20 |
| Leche | 0.5 (aflatoxina M ₁) |

Fuente: (Michael, P. 2002)

4.3.2 Normativa Codex Alimentarius

Código de prácticas para reducir la aflatoxina B1 presente en las materias primas y alimentos balanceados para animales productores de leche CAC/RCP 45-1997 (10).

El Código de Prácticas para reducir la aflatoxina B1 presente en las materias primas y los piensos suplementarios para animales productores de leche fue adoptado por la Comisión del Codex Alimentarius en su 22º período de sesiones de 1997. El Código ha sido enviado a todos los Estados Miembros y Miembros Asociados de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) y de la OMS (Organización Mundial de la Salud).

En 2001, el Codex Alimentarius de la Comunidad Europea establece un nivel máximo de 0.05 ppb de aflatoxina M1 (14).

Sin embargo en Guatemala no hay normas que regulen la concentración permitida de aflatoxina M1.

La contaminación con aflatoxina M1 de la leche no puede ser completamente prevenida porque la AFB1 ocurre naturalmente en los granos. No es práctico eliminar por completo la AFB1 de los alimentos, ni de la leche. Sin embargo, es posible controlar la cantidad de AFM1 presente en la leche limitando la cantidad de aflatoxina en los alimentos para animales. (12)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización y Descripción del área

El estudio se realizó en seis fincas tecnificadas asociadas a la Cooperativa de Productores de leche (Cooproleche). Las fincas están ubicadas en el municipio de Chiquimulilla, que se encuentra localizado a 135 kilómetros de la ciudad capital a una altitud promedio de 30 msnm en una zona de vida de bosque húmedo subtropical cálido. La temperatura varía entre 23-31 °C y posee una precipitación pluvial media de 1,631mm/año (3).

5.2 Duración del estudio

El estudio se realizó en los meses de julio y agosto, del año 2009, teniendo una duración aproximadamente de 1 mes y medio, donde se recopiló información y se llevó a cabo la toma de muestras.

5.3 Materiales y equipo

A continuación se describen los materiales y equipo que se utilizaron en el estudio:

- Lápiz y lapicero
- Overol
- Salas de ordeño
- Jabón antibacterial
- Animales
- Cucharón de mango largo
- Hielera
- Hielo
- Tanque de enfriamiento
- Botas de hule
- Vehículo
- Cámara fotográfica
- Computadora
- Recipientes estériles

5.4 Manejo del estudio

El estudio se realizó en 2 fases.

5.4.1 Selección de fincas

Las fincas que se seleccionaron para el estudio, tuvo como requisito el consentimiento de los productores para su participación, los cuales llenaron los siguientes aspectos:

- Pertener a la cooperativa (COOPROLECHE) y estar en estado activo.
- Que la finca contara con ordeño mecánico y tanque de enfriamiento.
- Que en la dieta de las vacas se incluyera concentrado.

5.4.2 Fase I: Recolección de información general

En esta fase se obtuvo toda la información necesaria con respecto al estudio a realizar, con el fin de saber qué tipo de alimento es el que se manejaba en la explotación. En esta fase se corrió una boleta de encuesta en la cual se incluyó la siguiente información (ver anexo 1).

5.4.3 Fase II: Toma de la muestra

Se tomaron tres muestras por cada finca en un intervalo de cinco días en horas de la mañana de 5:00 a.m. a 12:00 p.m.

Luego de ser recolectadas las seis muestras diarias, fueron transportadas hacia la facultad de medicina veterinaria y zootecnia para realizar el respectivo análisis el mismo día de las tomas de muestra.

5.4.4 Procedimiento para la toma de las muestras de leche.

Para la toma de muestra se siguieron los siguientes pasos:

1. Se utilizaron bolsas estériles, para la toma de muestra de leche, proporcionados por el laboratorio de avicultura ubicado en el edificio M7 segundo nivel de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
2. Las bolsas fueron identificadas con los siguientes datos:
 - Número de finca
 - Número de muestra
 - Fecha
 - Hora
 - Temperatura de la leche
3. Una vez identificadas, se realizó el lavado de manos con agua y jabón antibacterial para mantener la higiene del proceso.
4. La toma de la muestra de leche fue de 100 ml. y se tomó directamente del tanque de enfriamiento.
5. Para la toma de muestra de leche se utilizó un cucharón estéril de mango largo y cada muestra se colocó en cada bolsa identificada.

6. Después de recolectar la leche, las bolsas se colocaron en una hielera para mantener la cadena de frío a una temperatura de 4°C. .
7. Las muestras de leche fresca recolectadas, fueron transportadas a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia para realizar la prueba de Elisa de inmunoabsorbente enzimático.

Luego de haber recolectado las muestras de leche de cada finca, se procedió a realizar la prueba de Elisa el mismo día de la toma de muestra, con el fin de identificar la presencia o ausencia de aflatoxina M1 (AFM1) en la leche fresca.

Para la discusión de los resultados obtenidos en el análisis de la prueba (ELISA) de inmunoabsorbente enzimático, se compararon con los límites establecidos por el FDA (Food & Drug Administration) norma CPG Sec. 527.400 de los Estados Unidos de Norteamérica (4).

5.5 Análisis Estadístico

Las variables obtenidas de la encuesta fueron analizadas a través de estimadores estadísticos y porcentajes de ocurrencia (promedios, desviación estándar y coeficientes de variación).

Los resultados de los análisis de laboratorio fueron comparados con los estándares de calidad que tiene el FDA (Food & Drug Administration). Norma CPG Sec. 527.400 (4) Los cuales se describieron en el cuadro No. 1 (ver pág. 21).

Aunque en la literatura se sugieren varios niveles de tolerancia para aflatoxina, estos son los establecidos por la FDA (Food & Drug Administration) de los Estados Unidos de Norteamérica (12).

Para controlar la cantidad de aflatoxina presente en alimentos para animales y humanos, la FDA (Food & Drug Administration) ha establecido los niveles máximos de aflatoxina que pueden estar presentes en los alimentos para animales, y de AFM1 que pueden estar presentes en la leche. Tales niveles son llamados niveles de acción. El nivel de acción para AFM1 en leche es 0.5 (ppb). Los niveles de acción para AFB1 en alimento varían. Los niveles de acción son discutidos por debajo de 0.5 (ppb). (12).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LA ENCUESTA

6.1.1 Tipo de alimento

El 100% de las explotaciones lecheras visitadas consumen concentrado y/o alimento balanceado de alguna casa comercial, para identificar las diferentes casas comerciales que proveen el alimento se identificaron con las letras (A) y (B) respectivamente, las cuales están divididas de la siguiente manera: un 83% de las explotaciones consumen alimento balanceado de la casa comercial (A), y solo un 17% consume alimento balanceado de la casa comercial (B).

El ganado lechero produce leche contaminada aflatoxina M1 (AFM1) luego de comer alimentos contaminados con la micotoxina aflatoxina B1 (AFB1). La aflatoxina B1 es metabolizada por enzimas encontradas primariamente en el hígado, en AFM1. Luego que la AFM1 es formada, es excretada en la orina y la leche. Los niveles de acción para AFB1 en alimento y AFM1 en leche han sido establecidos porque las aflatoxinas B1 y M1 pueden causar cáncer en humanos. (2)

6.1.2 Tipo de suplemento

Del total de lecherías encuestadas se obtuvo que el 100% de ellas incluyen alimento balanceado y pasto en la dieta de los animales, Solamente un 33% suplementaba con silo de maíz la dieta de los animales durante la realización de este estudio. Lo cual se relaciona de manera lineal con la transformación de aflatoxina B1 (AFB1) a aflatoxina M1 (AFM1) por la inclusión de almidones en la dieta. (11)

Del total de lecherías, el promedio de animales en ordeño es de 126 vacas con un promedio de producción diaria de 1248 kilos de leche y un consumo de alimento balanceado (concentrado) promedio de 4.8 kilos por animal. Únicamente 2 de las 6 lecherías evaluadas, suplementaban con silo las dietas de sus hatos durante la realización del estudio. Las cuáles eran las fincas identificadas con el número 5 y 6 que ofrecían 10 y 15 kilos por animal respectivamente.

6.2 Resultado de laboratorio (PRUEBA DE ELISA)

El estudio se llevó a cabo con un total de 6 lecherías asociadas a la cooperativa Cooprolleche en la costa sur de Guatemala, de cada lechería se obtuvieron 3 muestras, para un total de 18 muestras que fueron analizadas. Dichos resultados obtenidos de las diferentes pruebas de (ELISA) de inmunoabsorbente enzimático se discuten a continuación.

El nivel de acción para AFM1 en leche es 0.5 ppb. Los niveles de acción para AFB1 en alimento varían. Los niveles de acción son discutidos mayormente debajo, de ese nivel. (2)

Cuadro No.3 Resultados de laboratorio (promedio) del contenido de aflatoxina M1 (AFM1) en lecherías estudiadas y norma del FDA (Food & Drug Administration) como comparador.

| FINCA | PROMEDIO RESULTADO DE AFLATOXINA M1 (AFM1) (PPB) | NORMAS FDA NIVEL DE ACCION ACEPTABLE (PPB) |
|--------------|---|---|
| 1 | 0.04 | 0.5 |
| 2 | 0.05 | 0.5 |
| 3 | 0.04 | 0.5 |
| 4 | 0.05 | 0.5 |
| 5 | 0.06 | 0.5 |
| 6 | 0.07 | 0.5 |

Los parámetros que afectan al nivel de residuos de micotoxinas en animales son: 1.- Especies de los animales, 2.- Concentración de micotoxina, cantidad y duración del consumo de alimento contaminado. 3.- Estado de salud del animal. 4.- Periodo que transcurre desde la retirada del alimento contaminado a la toma de muestras para el análisis de residuos. Estos residuos no solo implican que el animal se vea afectado por la contaminación de la micotoxina original sino también el riesgo para los humanos, al ingerir alimentos de origen animal como leche, huevos y carne. (2)

Todas las muestras de leche provenientes de las explotaciones asociadas a la cooperativa Cooprolche fueron analizadas para detectar la presencia de aflatoxina M1, (AFM1) empleando la prueba de (ELISA) de inmunoabsorbente enzimático. Los resultados mostraron que el 100% de las muestras de leche analizadas presentaron niveles de (AFM1) y en todos los casos se encontró por debajo de 0.5 (ppb) propuesto por las normas de FDA.

De las muestras de leche cruda analizadas en el estudio, un 33% se encontró en el rango de 0.04 (ppb), otro 33% se encontró en 0.05 (ppb) un 17% en el rango de 0.06 (ppb) y el otro 17 %se encontró en el rango de 0.07 (ppb) siendo este último el que presento las concentraciones más elevadas, de (AFM1) aun así, no se encontró en ninguna diferencia entre ellas ya que todas se encuentran en un nivel de acción aceptable establecido por las normas de FDA (Food and Drug Administration)norma CPG Sec. 527.400(4)

Estos resultados anteriormente descritos están acorde a lo observado en países tales como: Portugal que en el año de 1981 se realizó un estudio donde de 74 muestras de leche cruda fueron analizadas. Un 39% fueron positivas en AFM1 en concentraciones comprendidas entre 0.06 y 0.065 (ppb). En Italia y durante los años 1991 y 1994 fueron analizadas un total de 223 muestras de quesos (Grana Padano), el 91% estaba contaminado con AFM1 en concentraciones comprendidas entre 0.005 y 0.100 (ppb).

En Italia y durante 1995, fueron analizadas 159 muestras de leche líquida, 97 de leche en polvo, y 114 de yogur. La leche líquida presentaba rangos de contaminación con AFM1 de < 0.001 a 0.108 (ppb), con una media de 0.0102 (ppb) que equivale al (86%). En la leche en polvo los rangos fueron de < 0.001 a 0.103 (ppb) con una media de 0.0218 (ppb) que equivale al (84%) y en los yogures las contaminaciones fueron entre < 0.001 y 0.496 (ppb), con una media de 0.018 (ppb) que equivale al (80%) (16). En Alemania y durante 1996 fueron encontradas 284 muestras de leche líquida con niveles de AFM1 inferiores a 0.01 (ppb) y en Holanda durante 1994, unas 15 muestras de derivados de leche presentaron contaminaciones inferiores a 0.02 (ppb) y 19 muestras de alimentos para niños a base de leche estaban contaminadas con AFM1 entre 0.02 y 0.06 (ppb).

En cuanto a quesos, estudios efectuado en Francia e Italia durante los años de 1991 a 1995 reflejaron contaminaciones entre < 0.005 y 0.25 (ppb) en un total de 311 muestras analizadas, sin embargo, el mayor porcentaje (65%) presentaba contaminaciones entre 0.005 y 0.10 (ppb) (7).

Sin embargo, en otros países como en USA, Bélgica, India, Alemania, Holanda e Inglaterra reflejaron que en un total de 1561 muestras de leche líquida y con una incidencia de contaminación entre 11 y 82% (a depender del país) media de 40%, las concentraciones de AFM1 oscilaron entre 0.02 y 0.7 (ppb) para la mayor parte de los países menos para la Alemania y para India que oscilaron entre $1.7-6.5$ y 13.3 (ppb), respectivamente (13). Estudios también revelan que en Altiplano Mexicano, donde el 59.1% de todas las muestras presentaron niveles de aflatoxina M1 superior al límite máximo establecido por el FDA y la UE (14)

VI. CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados bajo las condiciones en las que se realizó el presente estudio, se puede concluir
1. De todas las muestras analizadas de las diferentes lecherías evaluadas, se pudo detectar la presencia de aflatoxina M1 (AFM1) en cada una de ellas. Sin embargo todas las concentraciones se encontraban debajo del límite permisible que establece el FDA (Food & Drug Administration) de los Estados Unidos de Norteamérica norma CPG Sec. 527.400(4).
 2. La contaminación con aflatoxina M1 de la leche no puede ser completamente prevenida, porque la aflatoxina B1 (AFB1) ocurre naturalmente en los granos. Por este motivo no es posible eliminar por completo la AFB1 de los alimentos ni la AFM1 en leche, sin embargo es posible controlar la cantidad de AFM1 presente en la leche limitando la cantidad de AFB1 en los alimentos para animales durante su proceso de transformación.
 3. Las dietas ofrecidas a los diferentes hatos durante la realización de este estudio, no afectó los niveles de acción permisibles para aflatoxina M1 en leche cruda según la FDA (Food & Drug Administration) de los Estados Unidos de Norteamérica norma CPG Sec. 527.400(4).
 4. Los resultados obtenidos en este estudio sobre las 18 muestras analizadas para detectar la presencia de Aflatoxina M1 (AFM1) oscilaron desde el nivel de concentración más bajo que fue de 0.04 (ppb) a la concentración más elevada de 0.07 (ppb).

VIII. RECOMENDACIONES

1. A pesar de que los niveles encontrados de aflatoxina M1 en leche cruda de las diferentes fincas en estudio no estuvieron por encima de los niveles de acción establecidos por el FDA, por precaución se recomienda el uso de adsorbentes de micotoxinas de excelente calidad, que ayuden a controlar aún más las concentraciones de estos metabolitos que se producen de manera natural en aquellos alimentos que su contenido de almidones y la humedad se encuentran en límites elevados.
2. Se recomienda realizar este mismo estudio en diferentes zonas en donde los sistemas de alimentación sean aún más altos en ensilajes de granos y/o subproductos de almidones (concentrados) comerciales y así ampliar aún más este tipo de investigación.
3. Se recomienda realizar estudios que permitan evaluar la incidencia de aflatoxinas en diferentes sistemas de explotación pecuaria bajo otras condiciones ambientales, con el fin de controlar aún más los alimentos de origen animal, destinados para consumo humano.

IX. RESUMEN

BERMÚDEZ VALLE, R.A. 2011. Determinación de la presencia de aflatoxina (M1) en Leche Cruda Proveniente de Explotaciones Asociadas a Cooproleche en la Región de la Costa Sur de Guatemala. 34 p.

El estudio se realizó en seis fincas tecnificadas asociadas a la Cooperativa de Productores de leche (Cooproleche). Las fincas están ubicadas en el municipio de Chiquimulilla, a 135 kilómetros de la ciudad capital, a una altitud promedio de 30 msnm en una zona de vida de bosque húmedo subtropical cálido. La temperatura varía entre 23-31 °C y posee una precipitación pluvial media de 1,631mm/año (3).

En la investigación se planteó generar información sobre la presencia de aflatoxina (M1) en la leche cruda de bovino, con el fin de determinar la presencia y concentración de dicha aflatoxina en términos de (ppb) partes por billón y a su vez establecer si esta se encuentra dentro de los rangos permitidos por la FDA (Food and Drug Administration). Las muestras de leche cruda de bovino fueron analizadas a través de la prueba "ELISA", de Inmunoabsorbente enzimático. Estos resultados fueron comparados con los estándares de calidad que regula el FDA y la Norma CPG (Compliance Policy Guides) Sec. 527.400. Este estudio tiene una gran importancia, ya que está dirigido hacia la salud pública humana. Las aflatoxinas tienen una gran actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. El principal síntoma que produce es el hepatotóxico, pudiendo también provocar problemas renales. Los principales órganos afectados son el hígado, riñón y cerebro.

La aflatoxina M1 (AFM1) es el derivado AFB1 y es excretada en la leche de las vacas que consumen AFB1 en la dieta (Henry et al., 2001). En vacas lecheras, el paso de AFB1 a la leche en forma de AFM1 está relacionado de manera lineal con la producción de leche (Veldman et al., 1992).

Las aflatoxinas son inmunosupresoras, ya que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica (los anticuerpos son proteínas) interrumpiendo la formación del ADN, ARN y proteínas en el ribosoma; la absorción de los aminoácidos se ve alterada y su retención hepática aumenta.

Los resultados del estudio demostraron lo siguiente: De todas las muestras analizadas de las lecherías evaluadas, se pudo detectar la presencia de aflatoxina M1 (AFM1) en cada una de ellas. Sin embargo, todas las concentraciones se encontraban por debajo del límite permisible que establece el FDA (Food & Drug Administration) de los Estados Unidos de Norteamérica norma CPG Sec. 527.400; obteniendo un nivel de concentración de 0.04 (ppb) a 0.07 (ppb). También se pudo concluir que las dietas ofrecidas a los diferentes hatos no afectó los niveles de acción permisibles 0.5 (ppb) para aflatoxina M1 en leche cruda según la FDA (Food & Drug Administration).

SUMMARY

BERMUDEZ VALLE, R.A. 2011. Determination of aflatoxin (M1) in raw milk from an association of dairy farms known as Coproleche in the south coast of Guatemala. 34 p.

The study was conducted in six technified farms associated to the Milk Producers Co-operative (Coproleche) in the months of July and August of 2009. The dairy farms are located in the district of Chiquimulilla, located at 135 km from the capital city, at an altitude of 30 meters above sea level with a life zone of warm subtropical moist forest. Temperature varies from 23 to 31°C with an annual average precipitation of 1,631 mm a year.

The purpose of this study was to generate information about the presence of aflatoxin (M1) in cow's raw milk, in order to determine the presence and concentration of aflatoxin in parts per billion (ppm). Furthermore, the study establishes if the presence of aflatoxin is within permissible ranges determined by the FDA (Food and Drug Administration). The cow's raw milk samples were analyzed by an enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA). These results were compared to quality standards regulated by the FDA and the CPG norm (Compliance Policy Guides) Sec. 527.400. Aflatoxin is carcinogenic, teratogenic and mutagenic causing health difficulties in particularity liver, kidney and brain problems.

Moreover, aflatoxin M1 appears in milk as the direct result of intake of aflatoxin B1 contaminated feed by dairy cows. This happens because in dairy cows, the conversion of AFB1 in milk to AFM1 is related lineally to the milk production process.

In addition, aflatoxin is immunosuppressive since it inhibits phagocytosis and protein synthesis (antibodies are proteins) interrupting the making of DNA, RNA and proteins in the ribosome. Therefore this process alters the absorption of amino acids and elevates hepatic retention.

The results of this study reveal that all the analyzed samples were found to be contaminated with aflatoxin M1 (AFM1). However, all the concentrations were lower than the limits recommended by the FDA (Food and Drug Administration) and CPG (Compliance Policy Guides) establish. Sec. 527.400., with a concentration range between 0.04 (ppb) and 0.07 (ppb). One can also conclude that the diet offered to the different herds did not altered the permissible ranges (0.5 ppb) given by the FDA (Food and Drug Administration) for aflatoxina M1 in raw milk.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Albert, T. 2008 The International Agency for Research on Cancer (IARC). (en línea). Consultado 4 abr. 2009. Disponible en <http://www.iarc.fr/>
2. Alberto, G. 2005. Aflatoxina M1 en Leche. Riesgos para la Salud Pública. (en línea). Consultado 1 feb. 2009 Disponible en http://www.engormix.com/aflatoxina_m1_leche_riesgos_s_articulos_372_MYC.htm
3. Cruz S, JR. de la 1982. Clasificación de Zonas de Vida a nivel de Reconocimiento. Guatemala Instituto Nacional Forestal. 42 p.
4. FDA (Food and Drug Administration). 2009. CPG Sec. 527.400 Whole milk, lowfat milk, skim milk-aflatoxina M1 (en línea). Consultado 01 feb. 2011. Disponible en <http://www.fda.gov/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/ucm074482.htm>
5. Foyel, M. 2008 Que son las aflatoxinas. (en línea). Consultado 12 mar. 2009. Disponible en http://www.foyel.com/cartillas/41/que_son_las_aflatoxinas.html
6. Gimeno, A. 2002. Residuos de Aflatoxina M1 y otras micotoxinas en leche y derivados; control y recomendaciones (en línea). Portugal. Consultado 11 ene. 2011. Disponible en http://www.engormix.com/articles_view.asp?AREA=GDL165&id=114&pag=0

7. _____. 2004. Aflatoxina M1 en la leche: Riesgos para la salud pública, prevención y control (en línea). Portugal. Consultado 12 ene. Disponible en <http://www.adiveter.com/ftp/articles/articulo1790.pdf>
8. Gonzalo J. 2007 Aflatoxina M1: Un Carcinógeno en la Leche. (en línea). Consultado 4 ene. 2009. Disponible en <http://www.lmvltda.com/index.php?section=21>
9. Herwing, V. 2009. Comités científicos para la seguridad de los consumidores la salud pública y el medio ambiente (en línea). Consultado 4 abr. 2009. Disponible en <http://europa.eu/scadplus/leg/es/lvb/l28153.htm>
10. José, M. 2000. Micotoxinas en Alimento. (en línea). consultado 25 may. 2009. Disponible en http://books.google.com.gt/books?id=wgRVcFvk--IC&pg=PA185&lpg=PA185&dq=que+causa+la+aflatoxina+en+las+vacas&source=bl&ots=IQYX0eIM1&sig=a12rLEE2FbHUnZ4WoRXT8N_3q5M&hl=es&ei=TqaoSeDcOtKgtwen8YjgDw&sa=X&oi=book_result&resnum=6&ct=result#PPA189,M1
11. Luis, M. 2008. AgroBioTek.(en línea). Consultado 12 mar. 2009. Diponible en <http://www.agrobiotek.com/agrobiotek/>
12. Michael, P. 2002 Aflatoxina M1 en leche (en línea). Consultado 15 mar. 2009. Disponible en http://www.engormix.com/aflatoxina_m1_leche_s_articulos_315_MYC.htm

13. REDALYC (Red de revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, MX). 2009. Aflatoxinas totales en raciones de bovinos y AFM1 en leche cruda obtenida en establos del estado de Jalisco (en línea). México. Consultado 05 feb. 2011. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/613/61312116009.pdf>

14. Viale, T. 2006 Código de prácticas para reducir la aflatoxina B1 presente en las materias primas y piensos suplementarios para animales productores de leche. (en línea). Consultado 2 abr. 2009. Disponible: <http://www.codexalimentarius.net/search/advancedsearch.d>

XI. ANEXOS

10.1 BOLETA DE INSPECCIÓN

Fecha: _____

1. Número de la finca: _____

2. Nombre del Encargado: _____ Tel.: _____

3. Tipo de Alimento.

Concentrado _____

Silo _____

Heno _____

Otros _____

4. Concentrado: Comercial _____

Hecho en finca _____ *

* Ingredientes _____

5. modo de almacenaje del alimento concentrado

Bodega _____

Cuenta con tarimas para colocar el alimento _____

Cuenta con buena ventilación _____

Se cuenta con control de roedores _____

Se cuenta con control de manejo del alimento _____

Galera techada _____

Aire libre _____

6. Ensilaje: Lo compra _____

Lo elabora _____

Lleva melaza _____

Es de maíz _____

Es de sorgo _____

Es de Napier _____

Otros _____

7. Número de animales en ordeño _____

8. Litros de leche producidos por ordeño _____

9. Cantidad de alimento ofrecido por animal _____

.....
Br. Rodrigo Alejandro Bermúdez Valle

.....
MV. Roberto Herman

.....
M.V. Beatriz Santizo

.....
MSc. Carlos Saavedra

.....
M.A. Silvia María Zea

.....
Lic. Zoot. Hugo Peñate Moguel

IMPRÍMASE:

.....
Med. Vet. Leonidas Ávila Palma

DECANO