

INOCUIDAD

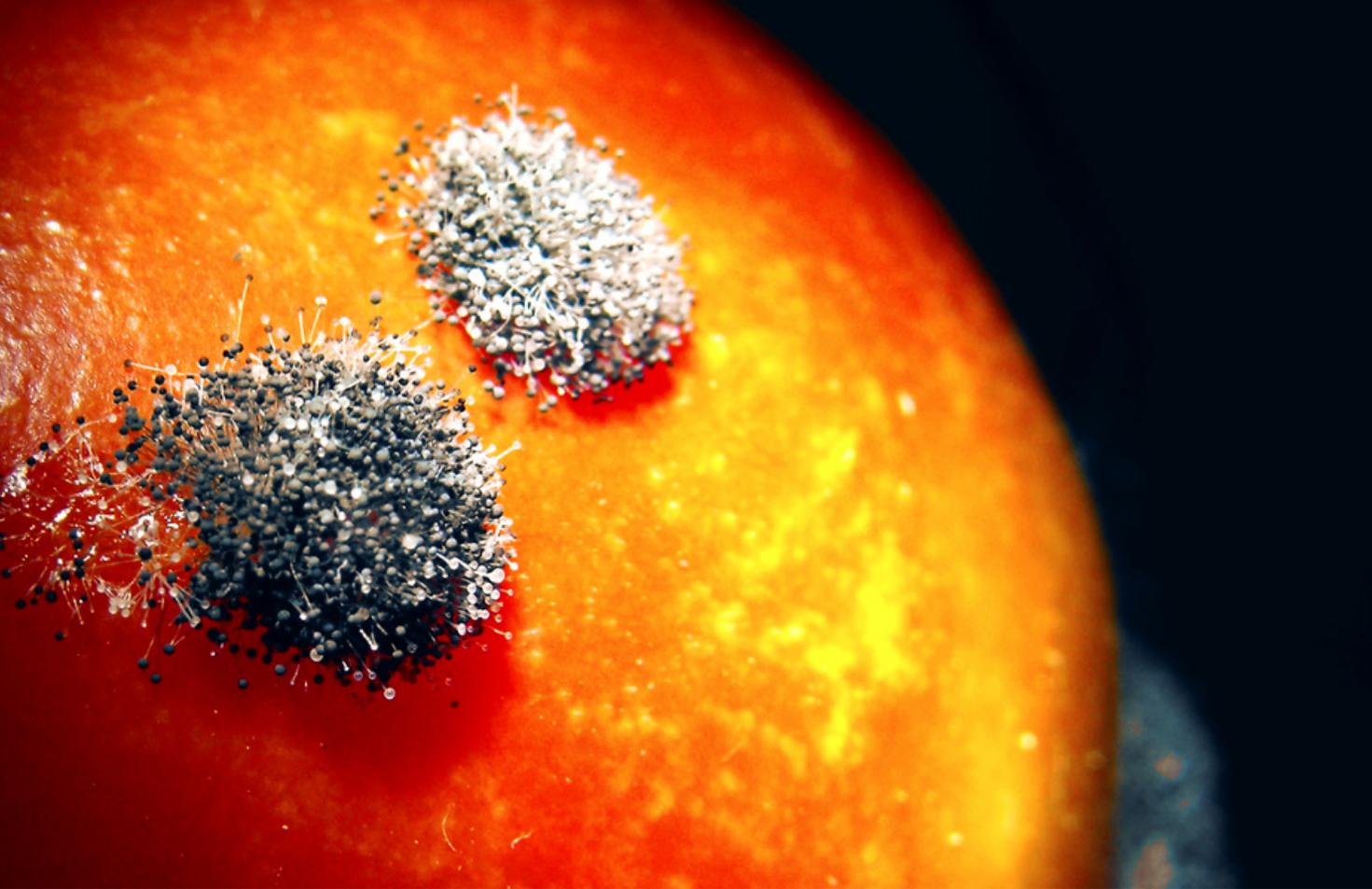
Micotoxinas

Los Mayores Desafíos para su Detección



Las micotoxinas se encuentran entre las sustancias de mayor relevancia en la seguridad alimentaria. Sin embargo, su análisis presenta algunos desafíos para los laboratorios. La detección de las micotoxinas es una tarea con varias complicaciones y, por lo tanto, muchas veces no se realizan los análisis del modo correcto.

Las micotoxinas generalmente se encuentran en bajas concentraciones y pueden estar presentes en diversos alimentos, incluidos cereales, nueces, café y productos lácteos. Algunas matrices, como las especias, contienen sustancias interferentes que dificultan el análisis. Los piensos para la alimentación de los animales también son difíciles de analizar porque su composición exacta no siempre es clara.



Las micotoxinas pueden ser altamente tóxicas incluso a bajas concentraciones. En consecuencia, la Unión Europea ha establecido valores límite que son muy estrictos en algunos casos.

Estos son los mayores desafíos en el análisis de micotoxinas, y cómo dominarlos a todos.

La matriz alimenticia es compleja

Las complejas matrices en las que se realizan análisis de micotoxinas son un desafío importante para los laboratorios. La multiplicidad de alimentos obliga al desarrollo de metodologías de aislamiento y purificación de las toxinas previo a su análisis.

La muestra no es representativa

Otra dificultad es que las micotoxinas se distribuyen de manera desigual en los alimentos. En los llamados “bolsillos de micotoxinas”, la concentración puede ser muy alta, mientras que el

resto del lote puede no verse afectado. El muestreo representativo es por lo tanto esencial, y un tamaño de muestra más grande siempre es más significativo que un tamaño de muestra más pequeño. En productos con un gran tamaño de partícula, como higos o nueces, los hongos se distribuyen de manera particularmente heterogénea. En consecuencia, las cantidades de muestra deben ser mayores que las de los productos con un tamaño de partícula más pequeño, de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 401/2006.

La preparación de la muestra no se realiza correctamente

Antes de cada análisis, la muestra debe prepararse adecuadamente. Dependiendo de la prueba y la matriz en particular, puede ser necesario un pro-

cedimiento diferente; éste debe encontrarse en las indicaciones de uso del *kit* de prueba correspondiente. Para matrices complejas, tales como especias, una preparación de muestra que comprende homogeneización y extracción no es suficiente, tales muestras requieren una limpieza previa utilizando, por ejemplo, columnas de inmunoafinidad.

El *clean up* de una muestra consiste en la extracción de la toxina y la eliminación de los contaminantes de la matriz. La extracción se realiza generalmente con un solvente que es apropiado para la dupla matriz-analito. Generalmente para matrices simples, la extracción con solventes es suficiente para el análisis posterior. Para matrices más complejas es necesario purificar la muestra con columnas de fase sólida o de inmunoafinidad.

Las Columnas de Fase Sólida (SPE) están formuladas y diseñadas para proporcionar una purificación óptima del extracto de muestra antes del análisis de micotoxinas por ELISA o cromatografía. Generalmente presentan formatos de purificación de un paso, son fáciles de utilizar y permiten purificar rápidamente incluso las matrices más complejas. Tienen una vida útil prolongada y no necesitan ser almacenadas en refrigeración.

Las Columnas de Inmunofinidad (IAC) consisten de una suspensión de gel con anticuerpos monoclonales específicos para la micotoxina en cuestión. El uso de anticuerpos monoclonales hace que las columnas de inmunofinidad sean altamente específicas para la toxina blanco y ofrecen una sensibilidad aumentada, debido a la posibilidad de concentrar la toxina en cuestión.

Es importante la utilización de columnas SPE y IAC desarrolladas, elaboradas y despachadas bajo normas de calidad – ISO 001 /ISO 3485 – que garantizan productos de calidad consistente que siempre cumplan con los criterios de funcionalidad.

La concentración está por debajo del límite de detección

Las micotoxinas pueden ser altamente tóxicas incluso a bajas concentraciones. En consecuencia, la Unión Europea ha establecido valores límite que son muy estrictos en algunos casos,

por ejemplo, para la Aflatoxina B1 en especias, solo 5 µg/kg. Para detectar concentraciones tan bajas, el método de análisis debe ser muy sensible y preciso. Con sus bajos límites de detección, hay pruebas ELISA, así como pruebas cuantitativas de flujo lateral que permiten la detección de contaminaciones muy bajas: la Aflatoxina M1 en la leche ya puede detectar un rango que comienza en 5 ng/l (ppt).

Pueden estar presentes múltiples micotoxinas

Una dificultad adicional es el hecho de que existe una gran cantidad de micotoxinas diferentes. Actualmente se conocen más de 300 tipos de toxinas fúngicas, de las cuales, sin embargo, solo algunas están reguladas por ley. Varios tipos de micotoxinas pueden aparecer simultáneamente; no es raro encontrar diferentes tricotecenos en un producto. En Europa, por ejemplo, este año, se detectaron niveles significativos de toxina T-2 / HT-2 además del DON en algunas regiones. Otros productos pueden contener ocratoxina junto con Aflatoxina. Por lo tanto, a veces no es suficiente analizar alimentos para una única micotoxina.

Las micotoxinas enmascaradas no se detectan

En los últimos años, se ha hablado mucho sobre las llamadas “micotoxinas enmascaradas”. Este término, también denominado micotoxinas asociadas a la matriz o modificadas, describe me-

Determinación de Micotoxinas

soluciones analíticas para varios productos



RIDASCREEN®
ELISA sensibles para una detección cuantitativa



RIDASCREEN® FAST
ELISA cuantitativo para resultados rápidos



Immunoaffinity and Clean-up columns
Purificación de muestras antes de HPLC /GC/LC-MS/MS y ELISA



RIDA® QUICK RQS
Pruebas de Flujo Lateral para una detección cuantitativa



RIDA® QUICK
Pruebas de flujo Lateral para una detección semi cuantitativa



Trilogy®
Columnas de inmunofinidad, estándares, material de referencia certificado y ahora rondas interlaboratorios





Los Materiales de Referencia para micotoxinas consisten básicamente en una matriz contaminada con la o las micotoxinas de interés, por ejemplo muestras de maíz o trigo contaminadas con una concentración de micotoxina claramente definida.

tabolitos o intermediarios metabólicos de micotoxinas. Estos compuestos se originan en la planta, durante el desarrollo fúngico. A menudo ocurren en las toxinas de *Fusarium* y se cree que son tan tóxicos como la toxina original. Como su estructura química está alterada, el análisis es más complejo. Los mejores métodos de análisis para la detección de micotoxinas enmascaradas son, por ejemplo, las columnas de inmunoafinidad.

Los análisis de micotoxinas no se controlan correctamente

Uno de los componentes importantes del aseguramiento de la calidad en el análisis de alimentos para micotoxinas

es el uso de Materiales de Referencia. Estos contribuyen a la obtención de resultados confiables. Cuando se analizan alimentos y piensos para la presencia de micotoxinas, es necesario el análisis de materiales con concentración conocida para asegurar que los resultados obtenidos son correctos, con una alta precisión y exactitud. Actualmente los laboratorios de análisis requieren certificaciones internacionales para poder demostrar correcta funcionalidad y confiabilidad. Uno de los requisitos para dicha certificación es el uso de Materiales de Referencia.

Los Materiales de Referencia para micotoxinas consisten básicamente en una matriz contaminada con la o las mi-

cotoxinas de interés. Es muy importante que las matrices sean naturalmente contaminadas de modo que las toxinas estén asociadas a la matriz de la misma forma que lo están en la muestra que se va a analizar. Estos Materiales están caracterizados en cuanto a su composición, y tienen descrita la concentración de micotoxina en cuestión con su intervalo de confianza. Este valor es el que sirve como valor comparativo para evaluar el resultado del análisis. Hay varios Materiales de Referencia, por ejemplo muestras de maíz o trigo contaminadas con una concentración de micotoxina claramente definida.

Los materiales de referencia desempeñan un papel esencial para muchas

tareas en el laboratorio. En particular, estas incluyen:

- Calibración de instrumentos.
- Validación de métodos.
- Entrenamiento de empleados.
- Pruebas de rendimiento/competencia.
- Control de procesos y garantía de calidad en la rutina diaria de laboratorio.

La calidad de los materiales de referencia es crítica para la precisión y la

comparación con los resultados obtenidos del análisis. Deben ser lo suficientemente homogéneos y trazables. Hay otro tipo de materiales de referencia, los Materiales de Referencia Certificados (CRM), que son producidos por instituciones acreditadas y están sujetos a pruebas estrictas. Los Materiales de Referencia Certificados generalmente contienen un certificado con información sobre métodos validados, incertidumbre de medición y trazabilidad. De acuerdo con ISO / IEC 17025, los laboratorios acreditados están obligados a utilizar Materiales de Referencia Certificados.

El Material de Referencia y el Material de Referencia Certificado para el análisis de micotoxinas están disponibles en el mercado. La gama incluye una serie de materiales para los más diversos requisitos en el análisis de micotoxinas. Las muestras de cereales como el maíz, el trigo, la cebada, el mijo y el arroz están disponibles así como matrices más complejas, como alimentos balanceados para animales, todas están contaminadas con una o más micotoxinas en diferentes concentraciones. 

*Dra. Cristina D'Aiutolo,
Asesora Científico-Técnica para Latinoamérica.
R-BIOPHARM LATIN OAMÉRICA*