



---

---

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo  
Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas  
División de Estudios de Posgrado

**TESIS**  
**“Detección de Ocratoxina A en suero y estimación de  
ingesta alimentaria en mujeres embarazadas del  
Hospital de la Mujer de Morelia, Michoacán”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**P R E S E N T A**  
**LICENCIADA EN NUTRICIÓN**

Karen Fabiola Tena Rojas

*Directora de Tesis*

Doctora en Ciencias Farmacéuticas  
Virginia Ángelica Robinson Fuentes



Morelia Michoacán México  
Junio 2018

El Comité Tutorial designado por la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Aprobó la tesis presentada por

Licenciada en Nutrición KAREN FABIOLA TENA ROJAS

Doctora en Ciencias Biológicas

Martha Eva Viveros Sandoval

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

---

Doctora en Ciencias Especialidad Farmacología

Marcia Yvette Gautherea Torres

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

---

Doctor en Ciencias Especialidad Biotecnología

Héctor Eduardo Martínez Flores

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

---

Doctora en Ciencias Biológicas

Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

---

Esta tesis fue realizada en el programa de posgrado  
Maestría en Ciencias de la Salud de la  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo  
Acreditado en el Programa Nacional de Posgrado de Calidad – CONACYT  
Como programa consolidado



La autora de esta tesis, estudiante de la facultad de Ciencias Médicas y Biológicas

“Dr. Ignacio Chávez”

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Agradece al CONACYT la beca otorgada para realización de la

Maestría en Ciencias de a Salud

## **AGRADECIMIENTOS**

Mi mayor agradecimiento va dirigido a todas las mujeres participantes en el proyecto y a sus recién nacidos, sin los cuales este trabajo no hubiera podido realizarse. Siempre me maravillará la implicación de las madres sobre todo lo que concierne a la maternidad y la de su participación en un proyecto de investigación, sabiendo que no obtendrán de él un beneficio personal a corto plazo, si no que contribuirán a que se avance a mejorar la salud en otras poblaciones.

A mi directora de tesis, D.C. Virginia A. Robinson Fuentes por haberme involucrado en el mundo de las micotoxinas, por haber guiado cada trabajo, haberme ayudado a hacerme autónoma en el análisis de datos y haber supervisado todo el trabajo científico que comporta esta tesis.

A mi comité tutorial, por la retroalimentación dada en todos los seminarios, que motivó a la autora de esta tesis a complementar y mejorar su trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, por todos los buenos momentos, las incontables tazas de café y cada una de las pláticas que enriquecieron el día a día, sin duda fueron parte de mi inspiración profesional y personal.

Al hospital de la Mujer Morelia y todo el personal, que muy amablemente colaboró en este trabajo permitiendo llevar a cabo toda la etapa de muestreo en la mejor disposición.

A las estudiantes de la licenciatura en fisioterapia de la Universidad de Durango, por haber colaborado arduamente en la etapa de muestreo.

A mis compañeros ahora maestros Manuel Alejandro Vargas y Alejandra Díaz Tena por su apoyo incondicional, consejos y orientación que me proporcionaron durante todo el proceso de esta maestría. Gracias infinitas! Me sentí muy apoyada sin lugar a dudas.

**DEDICATORIA**

**Esta Tesis va dedicada con todo mi amor y agradecimiento**

**A:**

*¡Mamá esta Tesis es tuya!, gracias por cuidar a lo más preciado que tengo en esta vida y a mi motivación absoluta, mis hijas Romina y Valentina , sin tu apoyo este sueño no hubiera sido concretado.*

*Mi papá que tu dedicación y esfuerzo diario han motivado e impulsado mi desarrollo profesional que junto con mi querida son uno de los pilares que me mantienen a flote, gracias por cuidar de mis pequeñas.*

*Gracias Hermanos , Luis por tu cálido afecto y ayuda incondicional con mi pequeñas y a ti querida hermana, Brenda que me sigues sorprendiendo con tu inteligencia, empeño y determinación.*

*A mí querido esposo por su apoyo incondicional en cada una de las etapas de este proyecto.*

## ABREVIATURAS

ADN	Ácido Dexosirribunucleico
AOAC	Asociación de Oficial de Químicos Analíticos
CAM	Cuestionario de Antecedentes Médicos
CCAE	Comité Científico de Alimentación Europea
CFCA	Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos
DHA	Ácido Docosahexanoico
DO	Densidades ópticas
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay:
EPA	Ácido Eicosapentanoico
FAO	Food and Agriculture Organization
HC	Hidratos de Carbono
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HRP	Peroxidasa de Rábano
IDC	Ingesta Diaria Continua
IDP	Ingesta Diaria Promedio
IDT	Ingesta Diaria Tolerable
IMC	Índice de Masa Corporal
IOM	Institute of Medicine
JECFA	Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios
OTB	Ocratoxina B
OTC	Ocratoxina C
PC	Peso Corporal
PPG	Peso pregestacional
PTDI	Ingesta provisional diaria Tolerable
rpm	Revoluciones por minuto
SNUT	Sistema de Nutrimientos
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
UMSNH	Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
WHO/OMS	World Health Organization /Organización Mundial de la Salud

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 MICOTOXINAS .....</b>	<b>13</b>
2.1.2 Breve Historia sobre las micotoxinas .....	13
2.1.3¿Qué son las micotoxinas?.....	13
2.1.4 Efectos tóxicos de las micotoxinas .....	14
2.1.5 Interés mundial sobre las micotoxinas.....	15
2.1.6 Diversidad de micotoxinas.....	16
2.1.7 Clasificación IARC.....	17
2.1.8 Efectos fisiopatológicos de las micotoxinas.....	18
<b>2.2 OCRATOXINA (A).....</b>	<b>20</b>
2.2.1 Definición .....	20
2.2.2 OTA en alimentos y leche materna.....	21
A. OTA en cereales y derivados .....	21
2.2.3 Ingesta Diaria Tolerable.....	28
2.2.4 Ocratoxina A y embarazo .....	29
2.2.5- Toxicidad de la OTA .....	32
2.2.6- Legislación de la OTA.....	36
2.2.7.- Determinación y cuantificación de OTA.....	38
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>39</b>
<b>4. HIPÓTESIS .....</b>	<b>40</b>
<b>5. OBJETIVOS .....</b>	<b>40</b>
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
<b>6.1 Diseño de estudio .....</b>	<b>41</b>
6.1.1- Tipo y Clasificación del estudio .....	41
6.1.2- Universo o población.....	41
6.1.3.- Muestra.....	41
6.1.4. - Definición de las unidades de observación: .....	42
6.1.7.-Criterios de eliminación: .....	43
6.1.8 .- Definición de variables y unidades de medida: .....	44
6.1.9.- Selección de las fuentes, métodos, técnicas y procedimientos de recolección de la información.....	44
6.1.10 Definición del plan de procesamiento y presentación de la información: .....	47
<b>7. ASPECTOS ÉTICOS.....</b>	<b>53</b>
<b>8. RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
<b>8.1 CUESTIONARIO DE ANTECEDENTES MÉDICOS .....</b>	<b>54</b>
<b>8.2 CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS.....</b>	<b>60</b>
<b>8.3 DETERMINACIÓN DE OTA EN SUERO .....</b>	<b>65</b>
8.3.1 Resultados a partir de la determinación de OTA Por ELISA .....	65
8.3.2 Determinación de la relación entre presencia de OTA en suero e ingesta alimenticia por ecuación de Klaassen .....	67

8.3.3 Determinación de Ingesta Diaria Continua de OTA a partir de concentración de OTA en Maiz en Morelia Michoacán. ....	68
8.3.4 Comparación entre niveles de concentración OTA en suero y diferentes variables.....	69
<b>9. DISCUSIÓN.....</b>	<b>84</b>
<b>10.CONCLUSIONES.....</b>	<b>97</b>
<b>11.PERSPECTIVAS .....</b>	<b>98</b>
<b>12.REFERENCIAS .....</b>	<b>100</b>
<b>13. ANEXOS .....</b>	<b>109</b>
<b>13.1 CARTAS DE ACEPTACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>109</b>
<b>13.2 CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO .....</b>	<b>111</b>
<b>13.3 CUESTIONARIO SOBRE ANTECEDENTES MÉDICOS .....</b>	<b>112</b>
<b>13.4 CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS:.....</b>	<b>113</b>
<b>13.5 FUNDAMENTO DE LA PRUEBA ELISA “KIT HELIKA” .....</b>	<b>123</b>

## RESUMEN

**Introducción:** La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina producida por los hongos *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium verrucosum* principalmente. Contamina una gran variedad de alimentos de consumo humano: cereales (maíz, trigo, arroz, cebada, avena), café, cerveza, vino, frutos secos, legumbres, chocolates así como el grupo de oleaginosas. La contaminación de estos productos se da por las condiciones inadecuadas almacenamiento y transporte. A largo plazo provoca toxicidad crónica al consumir dichos alimentos contaminados con OTA. La ocratoxina A está clasificada como “posiblemente cancerígeno para el ser humano” (grupo 2B según IACR). Se sabe que puede tener efectos carcinogénicos, mutagénicos así como teratogénicos. La exposición humana a OTA se relaciona con varias nefropatías como la nefropatía endémica de los balcanes y la nefropatía tunecina, ambas enfermedades crónicas y progresivas que derivan en atrofia tubular y fibrosis periglomerular que pueden acompañarse de tumores malignos del tracto urinario superior. En cuanto a sus propiedades teratogénicas se han encontrado en diversos estudios con modelos animales que son capaces de provocar o aumentar efectos adversos al feto y por lo tanto puede ser también perjudicial para la salud humana. El embarazo es una etapa susceptible a los efectos de esta micotoxina, tanto para la madre como para el producto; la exposición a OTA en etapas temprana de la vida, aumenta la probabilidad de cáncer en etapas posteriores de la vida. La OTA se excreta por orina, heces y leche materna. **Objetivo general:** Evaluar la exposición a Ocratoxina A en pacientes embarazadas del Hospital de la Mujer de Morelia. **Material y Métodos:** Estudio observacional, descriptivo y transversal. **Criterios de inclusión:** a) Sean pacientes del Hospital de la Mujer de Morelia y que firmen carta de consentimiento informado. b) Que acudan al laboratorio para toma de muestra sanguínea; c) Que deseen participar, contestando: un cuestionario de antecedentes médicos (CAM), un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA), permitiendo que se les tomen medidas antropométricas (peso, talla, tiempo gestacional) para datos de control así como la extracción de 5 mL extras de muestra sanguínea. Los datos obtenidos del CFCA y CAM, se procesaran por el software SNUT. Las muestras sanguíneas se procesaron en el laboratorio de Desarrollo Analítico, el suero se separó por medio de centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C y se almacenaron a -25°C hasta su análisis por método de ELISA, con ayuda de un Kit comercial “Quantitative Assay for OTA in Human and Animal Serum and Milk Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 96-wellkit”. **Resultados:** Se reclutaron 152 pacientes; de este total, se obtuvieron los CAM, CFCA, las medidas antropométricas y la muestra sanguínea. Se determinó la presencia de OTA en suero en el 100% de las muestras, con una concentración por arriba de la recomendación 5 ng /kg /día propuesta por el comité científico de alimentación en Europa presentando un intervalo de 5.12 hasta 9.5 ng/ml y una Media: 6.2 ng/ml. En cuanto al análisis dietético se observó que el aporte calórico (2335 kcal /día) está dado principalmente por el grupo de hidratos de carbono y grasas, en un 49.9 % y 36.7 % de las calorías totales por día respectivamente, se notó un bajo porcentaje de consumo de proteínas en un 13.4%, también se observó un bajo consumo de vitamina E y ácidos grasos esenciales con una media de 10.52 mg/día y 3.1 gr/día respectivamente. Se notó diferencia significativa  $P=0.032$  para las comparaciones entre la relación OTA y Grupos de Edad así como entre Embarazadas y No embarazadas  $P=0.000$  **Conclusión:** La población de Mujeres Embarazadas del Hospital de Mujer se encuentran expuesta a OTA y la ingesta diaria continua de la población rebasa los límites permitidos de Ingesta Diaria Tolerable según Comité Científico de Alimentación en Europea.

Palabras Clave: Ocratoxina A, exposición humana, suero Humano, Embarazo, ELISA

### ABSTRACT

**Introduction:** Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin produced mainly by the fungi *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium verrucosum*. This mycotoxin contaminates a wide variety of foods for human consumption such as cereals (corn, wheat, rice, barley, oats), coffee, beer, wine, nuts, chocolate and legums. The contamination of these products is due to inadequate storage and transportation conditions. Ochratoxin A is classified as "possible carcinogenic to humans" (group 2B according to IACR). It is known to produce carcinogenic, mutagenic as well as the endemic nephropathy of the Balkans and the Tunisian nephropathy, both chronic and progressive diseases that result in tubular atrophy and periglomerular fibrosis that can be accompanied with malignant tumors of the upper urinary tract. Regarding the teratogenic effects, several studies with animal models, have shown different adverse effects on the fetus and therefore can also be harmful to human health. Pregnancy is a stage susceptible to the effects of this mycotoxin, both for the mother and for the fetus; exposure to OTA in early life increases the likelihood of cancer later in life. OTA is excreted through urine, feces and breast milk. **Objective:** To evaluate the exposure to Ochratoxin A in pregnant patients of the Hospital de la Mujer de Morelia. **Material and Methods:** Observational, descriptive and transversal study. Inclusion criteria: a) Patients of the Hospital de la Mujer de Morelia that signed an informed consent letter. b) Turn up to the laboratory to provide a blood sample; c) Willing to participate, by answering: a medical history questionnaire (CAM), a food consumption frequency questionnaire (CFCA), and allowing the researcher to take anthropometric measurements (weight, height, gestational time) for the control data as well as the extraction of 5 mL more of blood sample. The data obtained from CFCA and CAM were processed by the SNUT software. The blood samples were processed in the laboratory of Analytical Development, the serum was obtained by centrifugating at 3500 rpm for 10 minutes at 4 ° C and stored at -25 ° C until further analysis. Ota concentrations in serum samples were obtained by an ELISA analysis (Commercial kit "Quantitative assay for OTA in human and animal serum and Immunosorbent assay linked to milk enzyme (ELISA) 96-wellkit"), following the manufacturers instructions. **Results:** 152 patients were recruited, data from CAM, CFCA, anthropometric measures and blood sample were obtained. The presence of OTA in serum was determined in 100% of the samples, with a concentration above the recommendation of 5 ng/kg/day, proposed by the European Food Scientific Committee, with a range of 5.12 to 9.5 ng/ml and a mean of 6.2 ng/ml. Regarding the dietary analysis, it was found that the caloric intake (2335 kcal/day) is mainly composed by carbohydrates and fats, in 49.9% and 36.7% of the total calories per day, respectively; protein represented a low percentage of consumption (13.4%), and low consumption of vitamin E and essential fatty acids with an average of 10.52 mg/day and 3.1 g/day respectively. A significant difference was noted between OTA and Age Groups  $P=0.032$  and  $P=0.000$  was found between OTA in pregnant and Non-Pregnant **Conclusion:** The population of Pregnant Women of the Women's Hospital are exposed to OTA and the daily daily intake of the population exceeds Tolerable Tolerable Daily Intake limits according to the European Food Scientific Committee.

Keywords: Ochratoxin A, human exposure, Human serum, Pregnancy, ELISA

## **1. INTRODUCCIÓN**

Las micotoxinas son sustancias producidas por ciertos hongos pertenecientes principalmente a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*; suelen encontrarse en una gran variedad de productos agrícolas y son los contaminantes naturales de los alimentos más extendidos a nivel mundial. Son altamente tóxicos, pueden producir mutaciones (mutágenos), cáncer (cancerígenos), malformaciones en los fetos (teratógenos) y así como disminución de la inmunidad (inmunosupresores). Debido a su gran variedad de efectos tóxicos, y sobre todo a su extrema resistencia al calor (termorresistencia), la presencia de las micotoxinas en los alimentos es considerada de alto riesgo para la salud humana y de los animales.<sup>1</sup>

La contaminación de los alimentos con micotoxinas depende de las condiciones ambientales ya que estas pueden propiciar el crecimiento del hongo y por ende la producción de las toxinas. Por tanto, la mayoría de los productos agrícolas pueden ser susceptibles de contaminación casi en cualquier momento, desde su producción en el campo, durante su cosecha, en el transporte y en el almacenamiento.<sup>2</sup>

La información en México respecto a la incidencia y los niveles de contaminación por micotoxinas en los alimentos está limitada por muchos factores, entre ellos los recursos disponibles para realizar investigaciones, las facilidades de los laboratorios para llevar a cabo los análisis, la calidad de los procedimientos de muestreo además de la sensibilidad de los métodos de cuantificación utilizados.<sup>1</sup> De la extensa variedad de micotoxinas, alrededor de una veintena han sido particularmente investigadas, y seis de estas se consideran importantes desde el punto de vista alimentario y de salud, entre las cuales, la ocratoxina A (OTA), es la micotoxina a estudiar en este proyecto.

Los resultados sobre los efectos tóxicos de la OTA ponen de manifiesto la necesidad de evaluar la exposición humana a dicha micotoxina, varios estudios han analizado OTA en fluidos biológicos para relacionar la exposición humana a esta toxina con los trastornos del sistema urinario, ya que el riñón es el principal órgano diana de su toxicidad. Así, en muchos países se ha detectado la presencia de OTA en plasma

humano, lo que indica una exposición muy generalizada de la población a esta micotoxina.<sup>2</sup>

Añadido a lo anterior, la OTA ha demostrado tener efectos cancerígenos y nefrotóxicos. promueve efectos negativos sobre la función del sistema inmunológico que conducen a la teratogénesis y así como daños al ADN. Por otra parte, también se ha informado que esta toxina está relacionada con la nefropatía endémica de los Balcanes en seres humanos<sup>3</sup>. Además, la agencia Internacional para la Investigación sobre el cáncer (IARC), por sus siglas en inglés), clasifica a la OTA en la categoría 2B, lo que significa que es un probable carcinógeno en humanos.<sup>2</sup>

Otro de los problemas de salud pública relacionado a la exposición crónica a OTA, son los efectos teratogénicos.<sup>4</sup> Las mujeres embarazadas son un grupo de riesgo al cual se le debe tener mayor vigilancia, por lo que una evaluación integral de riesgos ambientales sobre todo en aquellas zonas donde puede haber mayor contaminación de productos, también debería incluir la evaluación de riesgo sobre los efectos dañinos a la salud. La etapa fetal es considerada como la más riesgosa y vulnerable a los tóxicos que la rodean, debido a un alto nivel de absorción, un sistema de detoxificación y eliminación inmaduro, una proliferación celular muy activa, y un inmaduro mecanismo de reparación, que hacen al feto más vulnerable a una exposición tóxica en comparación a un adulto; por lo tanto, se considera esta etapa como la más susceptible de todos los grupos de edad para estresores ambientales<sup>4</sup>; aunado a todo lo anterior se han detectado cantidades considerables de OTA en leche materna, por lo cual la susceptibilidad a la exposición no solo es durante la etapa gestante, sino en la etapa de lactancia.<sup>3</sup>

Es por todo esto que la detección temprana a la exposición de OTA antes y durante el embarazo, podrían ser estrategias para reducir los efectos negativos de esta micotoxina, a partir de pautas alimenticias que disminuyan o controlen la toxicidad de esta micotoxina y por lo tanto prevengan las posibles comorbilidades.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 MICOTOXINAS**

#### **2.1.2 Breve Historia sobre las micotoxinas**

Sin saber en aquel entonces, los primeros indicios que se tuvieron sobre las micotoxinas fueron comunicadas por un cronista del siglo X, describiendo una enfermedad que afectaba a numerosas partes de Europa en el año 943, donde narraba la muerte de personas afectadas por crisis epilépticas, vomito, locura, dolores insoportables y una sensación de quemazón o fuego interno.

La enfermedad se conoció como el “fuego de San Antonio” debido a la sensación abrasadora experimentada por las víctimas, muchas de las cuales visitaban el santuario de San Antonio en Francia con la esperanza de curarse.

Se sabe ahora, que el “fuego de San Antonio”, después llamado ergotismo, se debía al consumo de centeno contaminado con “alcaloides ergóticos” encontrados en pan negro consumido (elaborado de diversos componentes algunos de ellos por cornezuelo de centeno contaminado) por la población para mitigar el hambre. Estos alcaloides producidos por el hongo *Claviceps purpurea* o cornezuelo del centeno, alcanzaron proporciones epidémicas en muchas partes de Europa en el siglo X.<sup>4,5.</sup>

#### **2.1.3; Qué son las micotoxinas?**

Al hablar del reino de los hongos, se hace referencia a un grupo de organismos, los cuales se clasifican en levaduras y hongos filamentosos o mohos. Los mohos son organismos eucariotas multicelulares y filamentosos, que están constituidos por micelios verdaderos que constituyen su cuerpo vegetativo, carecen de clorofila y están formados por una serie de células alineadas.<sup>1</sup>

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por determinados mohos y las enfermedades que causan estas micotoxinas se denominan “micotoxicosis”. Añadiendo otra definición, las micotoxinas son “metabolitos fúngicos cuya ingestión, inhalación o

absorción cutánea reduce la actividad, propaga enfermedades o causa la muerte de animales y personas que se encuentren expuestos a estas. <sup>6</sup>

Se especula que las micotoxinas han causado enfermedades desde que el hombre comenzó a cultivar plantas de forma organizada. Se ha sospechado, por ejemplo, que la intensa reducción demográfica experimentada en Europa occidental durante el siglo XIII se debió a la sustitución trigo por centeno ya que este tenía un costo mucho menor. Sin embargo el centeno es considerado como una importante fuente de micotoxinas del hongo *Fusarium*. <sup>7</sup>

La producción de toxinas de *Fusarium* en cereales almacenados durante el invierno ocasionó la muerte de miles de personas en Siberia durante la segunda guerra mundial, y acabó con la vida de pueblos enteros, Tiempo después fue nombrada por el gobierno ruso en 1943 como “aleucia tóxica alimentaria” (ATA) ante la gran proporción de muertes por esta micotoxicosis, que se caracterizaba por la presencia de leucopenia, vómito, inflamación aguda del aparato digestivo, anemia, insuficiencia circulatoria y convulsiones. <sup>8</sup>

#### **2.1.4 Efectos tóxicos de las micotoxinas**

Como ya se mencionó brevemente, las micotoxinas se encuentran en diversos alimentos y piensos y se han relacionado con diversas enfermedades de animales y humanos. <sup>8,9</sup> Por lo cual, la exposición a estas puede producir toxicidad tanto aguda como crónica, con resultados que van desde efectos nocivos en los sistemas nervioso central, cardiovascular, respiratorio, aparato digestivo y sistema inmunitario, hasta la muerte.

El mecanismo de acción de las micotoxinas sobre el sistema inmune difiere dependiendo del tipo de micotoxina que se trate; sin embargo, se identifican los siguientes mecanismos<sup>4</sup>:

- La inmunosupresión se manifiesta como una disminución de los linfocitos T o B, retraso en la actividad macrofagocítica y neutrofílica, disminuyendo la actividad del complemento, obstaculizando así la respuesta inmunitaria y reduciendo la resistencia a enfermedades infecciosas.

- Actúan sobre el metabolismo de los glúcidos y lípidos; la Ocratoxina A, Citrinina, Aflatoxina B1 y Rubratoxina actúan en el metabolismo de los glúcidos, mientras que en el de lípidos actúan, Aflatoxinas, Ocratoxinas, Citrinina y tricotenos.

Se debe tomar en cuenta la posible interrelación entre las distintas micotoxinas consumidas conjuntamente ya que pueden presentar efecto sinérgico, aditivo o potenciador, sobre la salud humana y esto dependerá de la cantidad y cronicidad de exposición a éstas.

### **2.1.5 Interés mundial sobre las micotoxinas.**

Las micotoxinas son objeto de interés mundial debido a las importantes pérdidas económicas que ocasionan al perjudicar la salud de las personas, la productividad de los animales y el comercio nacional e internacional.<sup>1</sup>

Se considera que alrededor del 25% de las cosechas anuales a nivel mundial están contaminadas con algún tipo de micotoxina llegando incluso a valores de contaminación muy altos con un intervalo de 80% a incluso un 100% de las cosechas; estos niveles de contaminación son generados comumente por granos que fueron expuestos a ataque de insectos o cosechados y/o almacenados en condiciones inapropiadas de higiene propiciando de esta forma el crecimiento de los hongos micotoxigénicos.<sup>9</sup>

Por ejemplo, se ha calculado que, en los Estados Unidos de América y Canadá, las pérdidas anuales debidas a los efectos de las micotoxinas en las industrias forrajeras y ganaderas son del orden de 5 000 millones de dólares.<sup>10</sup>

En los países en desarrollo como México, donde los alimentos básicos (como el maíz y el cacahuate) son susceptibles de contaminación, tanto la población como el ganado se verán probablemente afectadas de forma significativa por la morbilidad, así como los decesos prematuros relacionados con la contaminación por micotoxinas.

### 2.1.6 Diversidad de micotoxinas

En climas tropicales y subtropicales el desarrollo fúngico se ve favorecido por factores como condiciones altas de humedad y alta temperatura. Los hongos crecen y proliferan bien en cereales, principalmente maíz, trigo, cebada, así como sorgo y arroz, porque contienen un sustrato altamente nutritivo para el desarrollo de los hongos micotoxigénicos. En la **Tabla 1** se muestran los principales hongos micotoxigénicos.<sup>12</sup>

<b>Tabla 1. Principales micotoxinas, hongos productores, alimentos más contaminados y condiciones favorables para su presentación</b>			
Micotoxina	Principales hongos productores	Alimentos más propensos a la contaminación	Principales factores de producción
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> y <i>A. parasiticus</i> .	Cacahuate, castañas, nueces, maíz y cereales en general.	Almacenamiento en condiciones inadecuadas.
Zearalenona	<i>Fusarium</i>	Maíz y cereales de invierno.	Bajas temperaturas asociadas a alta humedad.
Fumonisinias	<i>Fusarium</i>	Maíz y cereales de invierno.	Estación seca seguida de alta humedad y temperaturas moderadas.
Tricoticeños	<i>Fusarium</i>	Maíz y cereales de invierno.	Bajas temperaturas, alta humedad y problemas de almacenamiento.
Ocratoxina A	<i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i>	Maíz y granos almacenados.	Deficiencias de almacenamiento.

El crecimiento fúngico y la producción de micotoxinas en cereales, puede ocurrir en diversas fases del proceso, tanto en la maduración, cosecha, transporte, procesamiento o en el almacenamiento de los granos. Por eso se reitera que la reducción de la humedad de los cereales a través del secado es de fundamental importancia para prevenir la contaminación; otros factores que influyen en el crecimiento de estos, son la presencia de oxígeno, el tiempo para el crecimiento del hongo, lesiones o agresiones a la integridad de los granos producidas por insectos, daño mecánico o térmico, cantidad del inóculo fúngico además de la interacción y competencia entre los linajes fúngicos.<sup>1,9,11</sup>

En la actualidad existen más de 400 micotoxinas y estas son producidas por aproximadamente una centena de hongos. Las principales micotoxinas pueden ser

divididas en tres grupos; Las aflatoxinas producidas por hongos del género *Aspergillus*, como *A. flavus* y *A. parasiticus*; las ocratoxinas, producidas por los hongos *Aspergillus* y diversas especies de *Penicillium*; y las fusariotoxinas, que tienen como principales representantes a los tricotecenos, la zearalenona y las fumonisinas, producidas por diversas especies del género *Fusarium*<sup>6</sup>.

Los principales hongos productores de micotoxinas, conocidos como micotoxicogénicos, corresponden a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Cada uno de estos géneros puede generar diferentes tipos de micotoxinas, de la misma forma que un determinado tipo de micotoxina puede ser producida por diferentes especies de hongos como se muestra en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Micotoxinas de mayor importancia mundial y los correspondientes hongos toxicogénicos productores. Adaptado de Miller (1994). <sup>13</sup>					
MICOTOXINAS					
OCRATOXINA A	TRICOTECENOS	ZEARALENONA	FUMONISINA B1	AFLATOXINAS	
HONGOS PRODUCTORES					
<i>Penicillium verrucosum</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Fusarium sporotrichoides</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Aspergillus parasiticus</i>
					<i>Aspergillus flavus.</i>

### 2.1.7 Clasificación IARC

Una de las principales características de las micotoxinas es que son tóxicas a bajas concentraciones (potentes) y su acción es acumulativa, con efectos retardados en el tiempo.<sup>9</sup>

Según la toxicidad crónica, las micotoxinas se clasifican como carcinogénicas o potencialmente carcinogénicas como se muestra en las **Tablas 3 y 4**, de acuerdo a la “*International Agency for Cancer Research*” (IARC.)

**Tabla 3. Clasificación por grupo de acuerdo a su papel como carcinógeno según IARC.<sup>14</sup>**

GRUPO	CARACTERÍSTICAS
Grupo 1	El agente es carcinógeno en humanos
Grupo 2A	Agente probablemente carcinógeno en humanos; existe limitada evidencia sobre humanos pero suficiente en animales.
Grupo 2B	Agente posiblemente carcinógeno; la evidencia en humanos es limitada y tampoco suficiente evidencia con animales de experimentación.
Grupo 3	El agente no es carcinógeno para humanos y no puede incluirse en otro grupo.
Grupo 4	El agente probablemente no es carcinógeno en humanos; la evidencia disponible tanto en humanos como en animales de experimentación así lo sugiere.

**Tabla 4. Clasificación micotoxinas según IARC.<sup>15</sup>**

MICOTOXINA	CLASIFICACIÓN IARC
Aflatoxina	1
Aflatoxina M <sub>1</sub>	2B
Citrinina	3
Esterigmatocistina	2B
Fumonisina B <sub>1</sub>	2B
Ocratoxina A	2B
Patulina	3
Toxinas derivadas de <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium crookwellense</i> (Zearalenona, Deoxinivalenol, Nivalenol, Fusarenona X)	3
Toxinas derivadas de <i>Fusarium sporotrichiodes</i> (toxina T-2)	3

### 2.1.8 Efectos fisiopatológicos de las micotoxinas.

La micotoxicosis implica enormes perjuicios de orden económico, sanitario y comercial; principalmente por sus propiedades anabolizantes, estrogénicas, carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas que promueven una peor calidad de vida tanto para humanos como animales. En la **Tabla 5** se muestran los efectos fisiopatológicos causados por las diferentes micotoxinas.

Cuando existe un consumo constante de micotoxinas en los alimentos, se van a presentar efectos cuya variabilidad es debida a las estructuras químicas de las mismas, a las características intrínsecas de animales y humanos, así como también a la diversidad de especie, raza, sexo, edad, factores ambientales, manejo, condiciones nutricionales e interacción con otras sustancias químicas.<sup>16</sup>

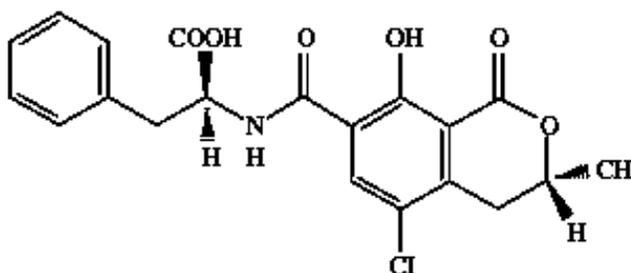
**Tabla 5. Principales efectos fisiopatológicos producidos por las micotoxinas.<sup>17</sup>**

MICOTOXINA	EFFECTOS FISIOPATOLÓGICOS
Aflatoxina B y G	Daño hepático agudo, cirrosis, inducción de tumores, disminución de la eficacia del sistema inmunitario, teratogénesis, excreción por la leche, acumulación en tejidos.
Citrinina	Nefrotoxicidad, toxicidad renal en monogástricos (poliuria, proteinuria, creatinuria, glucosuria, enzimuria y aumento de nitrógeno ureico en sangre), temblores corporales, inmunosupresión.
Esterigmatocistina	Hepatotóxica, nefrotóxica, causa alteración pulmonar y diarreas; mutágenas <i>in vivo</i> , inductoras de tumores y teratógenas.
Fumonisinias	Neurotóxicos (leucoencefalomalacia), nefrotóxicos, edema pulmonar y cerebral. Hepatotóxicos y lesiones cardíacas. Los órganos afectados son: cerebro, pulmón, hígado, riñón y corazón.
Ocratoxinas	Nefropatía endémica de los Balcanes, acumulación en riñón, tubulonefritis, hígado y músculo, vómitos, teratogénesis, mutagénesis.
Patulina	Trastornos gastrointestinales y neurológicos, temblores corporales, mutágena e inductora de tumores.
Rubratoxina	Gran congestión (con hemorragias) de hígado, riñón, glándulas suprarrenales, pulmón, bazo, tracto gastrointestinal y congestión vascular en los tejidos subcutáneos y hemorragias en víscera abdominal e inmunosupresión.
Tricotecenos: toxina T2, nivalenol, deoxinivalenol y diacetoxiscirpenol.	Vómitos, taquicardia, diarrea, pérdida de la atención, hemorragias, edemas, necrosis de los tejidos cutáneos, destrucción de tejidos hematopoyéticos, disminución de los glóbulos blancos y plaquetas circulantes, meningitis hemorrágicas(cerebro), alteración del sistema nervioso, rechazo del alimento, lesiones necróticas en diferentes partes de la boca, degeneración patológica de las células de la médula ósea, nódulos linfáticos e intestinal.
Zearalenona	Síndrome estrogénico, problemas reproductivos, excreción por leche junto con su derivados alfa y beta zearalenol en animales.

## 2.2 OCRATOXINA (A)

### 2.2.1 Definición

Las ocratoxinas son producidas por algunas especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. De las cuales la más tóxica es la ocratoxina A, (C<sub>20</sub> H<sub>18</sub> O<sub>6</sub> NCl) formada por una dihidroisocumarina unida por el grupo 7-carboxilo a una molécula de fenilalanina mediante enlace amida como se muestra en la **Figura 1**.



**Figura 1.** Estructura química de la Ocratoxina A. <sup>18</sup>

Es muy estable a altas y bajas temperaturas, es incolora, soluble en disolventes orgánicos polares, poco soluble en agua, con características de ácido débil y capaz de emitir fluorescencia al ser excitada con luz ultravioleta <sup>19</sup>. Se detectó por primera vez en muestras de maíz africanas en 1965 por Van der merwe y colaboradores <sup>20</sup>

Los cereales, en humanos, y los piensos, en animales, constituyen las principales fuentes de exposición alimentaria a la OTA, aunque también pueden encontrarse niveles notables de contaminación en otros alimentos.

Los granos de café verde, la carne y sus derivados, las uvas, el vino, las pasas e higos secos <sup>21</sup>, el chocolate, las legumbres, la cerveza y las especias <sup>22</sup>, constituyen fuentes dietéticas a considerar sólo en caso de altas ingestas. Otras fuentes no convencionales de OTA son el té, las infusiones, el regaliz, el aceite de oliva y los alimentos infantiles a base de cereales. <sup>23</sup>

Las prácticas agrícolas y las condiciones medioambientales (humedad y temperatura) durante el almacenamiento y el transporte afectan de forma directa a los niveles de OTA en los alimentos<sup>23</sup>. Asimismo, se ha demostrado que una alta actividad de agua favorece la producción de OTA en los alimentos<sup>25</sup>.

Además de la OTA, existen otros tipos de ocratoxinas como son la ocratoxina B (OTB) que se caracteriza por ser un derivado no clorado de la OTA con carácter menos tóxico y la ocratoxina C (OTC) éster de la OTA con escaso potencial tóxico, ambos productos de la hidrólisis de OTA y OTB, respectivamente, que se caracterizan por carecer de toxicidad<sup>26</sup>.

## **2.2.2 OTA en alimentos y leche materna**

### **A. OTA en cereales y derivados**

Los cereales constituyen la principal fuente de ingesta dietética de OTA aportando alrededor del 50% del total de la ingesta de acuerdo a diversos estudios.<sup>27-43</sup>

La **Tabla 6** muestra el intervalos y media de contaminación en diferentes cereales, estos cereales presentan contaminación de la micotoxina de un intervalo amplio de contaminación de 0.3 a 23,75  $\mu\text{g}/\text{kg}$  lo que evidencia la susceptibilidad de éstos a ser contaminados.

Diversos autores aseguran que la presencia de OTA en los cereales se debe principalmente a las condiciones del grano en la cosecha, la realización de las diferentes operaciones de desecación y a la calidad del almacenamiento<sup>44-47</sup>.

**Tabla 6. Concentración de Ocratoxina A en granos de cereales encontradas en varios estudios <sup>26</sup>**

CEREAL EN GRANO	MEDIA (µg/kg)	INTERVALO (µg/kg)
<b>TRIGO</b>	-	0,3 – 231
	1,47	N.D. – 1,4
	267	0,60 – 1024
	0,3	N.D. – 32
	19,6	N.D. – 66
	0,42	N.D. – 1,73
	55	N.D. - 250
<b>CEBADA</b>	-	0,3 – 117
	0,3	0,3
	5,45	1,20 -9,70
	0,8	N.D. -0,9
	17,2	N.D. – 162
	0,17	0,04 – 0,80
	96	N.D. – 940
<b>MAÍZ</b>	1,7	N.D. – 5,2
	1,47	N.D – 2,54
	44	27 – 64
	266	3 – 1.738
	1,08	N.D. – 7,22
<b>SORGO</b>	174,8	N.D.-2106
	117	8 – 950
<b>CENTENO</b>	1,38	0,82-2,5
	6,75	4,73 – 8,80
	0,9	N.D.-63
	1,05	N.D. -1,59
<b>ARROZ</b>	23,75	N.D. – 26,2
	-	N.D. – 3,52
	0,75	N.D. – 2,78
	4,15	N.D. -32,4
	1,4	N.D.-2,3
	44	N.D. -150
	-	N.D.-12,5

N.D.: Límite de concentración no detectado

Los granos de cereales y los productos transformados o procesados tales como las harinas procedentes de granjas ecológicas donde los productos de la granja se utilizan para la alimentación de la familia y de sus animales, los excedentes se destinan al mercado ya sea como materias primas o productos procesados, muestran que hay valores mayores de

concentración de OTA en comparación a los encontrados en granos de granjas convencionales con fines comerciales.<sup>27</sup>

Por ejemplo, la contaminación de OTA en cultivo ecológico del centeno fue 6 veces superior que la existente en el cultivo convencional<sup>48</sup>. Sin embargo, en el caso de trigo no ha sido reportado este hecho. En el caso del arroz, la contaminación por OTA fue superior en los productos procedentes de la práctica ecológica.

El uso limitado de los productos fitosanitarios y las prácticas de cultivo realizadas, aumentan el riesgo de producción de OTA<sup>49</sup>, esto pone en evidencia la inadecuada practica higiénica y el mal almacenamiento por parte de estas granjas. Uno de los factores claves para el control de las micotoxinas es el contenido de humedad en el momento de la cosecha, ya que se ha reportado que ante un aumento de humedad se produce un aumento moderado de la concentración de OTA.

Cuando el nivel de humedad aumenta por encima del 14%, la contaminación por OTA aumenta de moderado a severo<sup>43</sup>. Por consiguiente, existe una correlación positiva significativamente moderada entre la contaminación por OTA y el contenido de humedad en la cebada y el maíz<sup>50</sup>.

Ejemplificando de nueva cuenta, en el caso del arroz, la producción de OTA, se da debido a la alta cantidad de aminoácidos contenidos en el cultivo de arroz silvestre en comparación al arroz blanco. Estos aminoácidos fungen a manera de nutriente para el hongo micotoxigénico<sup>48</sup>.

La idea anterior corrobora un estudio previo en arroz blanco<sup>39</sup> en el que ninguna de las muestras de arroz blanco analizadas muestra indicios de estar contaminadas, en contraste con otras muestras de arroz marrón, arroz basmati y arroz silvestre. Es importante mencionar que no solo el grano cosechado presentará contaminación de OTA debido a las condiciones inadecuadas de almacenamiento o higiene en general, también sus productos derivados.

Además, aún cuando los granos son procesados por diversos mecanismos físico-químicos, son varios los estudios que evidencian la presencia de OTA como contaminante de estos productos <sup>23,30,37,51-64</sup>; algunos de ellos altamente consumidos por la población infantil como es el caso del cereal para desayuno. En la **Tabla 7**, se muestra un resumen sobre los diferentes intervalos de concentración de OTA en los productos derivados de cereales.

<b>Tabla 7. Concentración de OTA en productos derivados de cereal.</b> <sup>23,30,37,51-64</sup>		
<b>Productos derivados de cereales</b>	<b>MEDIA (µg/kg)</b>	<b>Intervalo (µg/kg)</b>
Harina de trigo	0,3	N.D. – 16
	0,5	N.D. – 19
	0,75	-
	0,09	N.D. – 0,48
	-	N.D. – 2,1
Harina de centeno	0,8	N.D. – 30
	1,8	N.D. -68
Harina de maíz	6,39	3,86-15,67
Harina de avena	0,09	N.D.-0,18
Pan	2,19	1,82-2,55
Pan de maíz	0,43	-
	0,44	-
	0,28	N.D.-0,36
Pan de trigo	0,45	-
	-	0,03-0,81
	-	0,04 – 10,81
	13	0,14 -149
	0,3	N.D. – 0,43
	0,21	N.D.-0,41
Pan blanco	3,36	N.D. -11,40
Pan integral	7,84	3,54 – 12,61
Cereales para el desayuno	0,265	-
	-	N.D. – 8,8
	-	N.D. – 1,4
	-	N.D. – 224,6
	0,752	N.D. – 1,84
	0,11	N.D. – 0,87

En la **Tabla 7** se puede observar que algunos datos superan los valores propuestos por la CE (5 ug/kg para cereales no elaborados y 3 ug/kg para productos derivados). Como se comentó anteriormente estos altos valores se producen por contaminación ambiental, inadecuada gestión de las prácticas agrícolas y estabilidad de la molécula frente a la aplicación de tratamientos térmicos durante su transformación en productos derivados. Es por ello que la contaminación con OTA en cereales y derivados plantea una gran preocupación, especialmente en los países en vías de desarrollo<sup>65</sup>.

Otras fuentes de ingesta alimentaria por ocratoxina A abarcan alimentos infantiles a base de cereales como cebada y arroz, que pueden superar hasta en un 25% del nivel de ocratoxina A propuesto por la comisión europea.<sup>66,67</sup>

Por otra parte se ha visto una creciente preocupación en la sociedad vinícola, ya que diversos estudios han reportado que en los vinos hay una gran concentración de esta micotoxina, también ha sido reportado que en los vinos tintos hay una mayor concentración de OTA en comparación a los vinos rosados y blancos.<sup>68</sup>

También se ha detectado OTA en cerveza, específicamente por la contaminación de la cebada o la malta y así como otros derivados de cereales usados en el proceso de elaboración; afortunadamente, se ha visto que esta concentración disminuye frente al proceso de malteado, fermentación y mosto.<sup>69</sup>

Se ha detectado OTA también en café en grano verde y tostado, así como infusiones de café<sup>70,71,72</sup>. Aún cuando el proceso de tostado y molienda disminuye la concentración de OTA, la destrucción de la micotoxina no alcanza más de un 50%.<sup>73</sup>

En México, existen pocos estudios sobre la presencia de micotoxinas en los alimentos; un estudio realizado en Nayarit, demostró la presencia de micotoxinas en maíz forrajero (zearalenona, fumonisina B1, toxina T-2 y diacetoxiscirpenol) y café verde (ocratoxina A). Todas las muestras de maíz analizadas presentaron contaminación por fumonisina B1 con una concentración promedio de 2.541 µg/kg. Un 15% de las muestras contenían

zearalenona, con un promedio de 1.610 µg/kg. De los tricotecenos estudiados, sólo una muestra presentó contaminación por toxina T-2 (7 µg/kg), no habiéndose detectado diacetoxiscirpenol en ninguna de las muestras. En un 67% de las muestras de café verde analizadas se encontró contaminación por ocratoxina A, con un promedio de 30,1 µg/kg. Donde se concluyó que la contaminación por micotoxinas es un problema real en los dos productos agrícolas estudiados.<sup>74</sup>

Este hecho es importante ya que se debe recordar que la exposición a OTA en humanos es directa (Consumo de alimentos contaminados) o indirecta (Consumo de carnes por ejemplo lechones de engorda o derivados de animales con alto consumo de OTA como leche).<sup>75</sup>

En un estudio llevado a cabo en el Laboratorio de Desarrollo Analítico de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) en 2016, se analizó maíz, café, cerveza y algunos cereales para detectar la concentración de OTA en dichos alimentos, los datos encontrados en este estudio se muestran a continuación en las **Tablas 8, 9 y 10**.<sup>76</sup>

La **Tabla 8** muestra la concentración en el grupo de cereales, el 100% de las muestras presentó un exposición a OTA de los cuales los cereales para desayuno, frituras de maíz y harinas de maíz son los productos que más contaminación presentaron, rebasando el límite propuesto por organismos internacionales, a excepción de los granos de maíz cuya media de concentración no rebasa dichos límites.

PRODUCTO	MUESTRAS POSITIVAS	PORCENTAJE DE EXPOSICIÓN	CONCENTRACIÓN PROMEDIO (µg/kg)	INTERVALO LOS (µg/kg)	LIMITE (µg/kg)
Granos de maíz	18/18	100%	3.415	2.732 – 4.163	5
Cereales para desayuno	4/4	100%	3.509	3.197- 3.696	3
Frituras de maíz	7/7	100%	3.219	2.991- 3.44	3
Harinas de maíz	2/2	100%	3.381	2.989- 3.44	3

En cuanto al café, también se detectó la presencia de OTA en 100% de las muestras, en la **Tabla 9**, se puede observar que el promedio de concentración para los tres tipos de granos evaluados, se mantiene dentro dentro del límite propuesto, con un límite inferior de 1.779µg/kg y un límite máximo de 4.405 µg/kg para café de grano , lo que podría indicar un proceso de cosecha y selección aceptable, pero no libre de ocratoxina A.

<b>Tabla 9. Concentración promedio de OTA en Café <sup>76</sup></b>				
<b>PRODUCTO</b>	<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	<b>CONCENTRACIÓN PROMEDIO(µg/kg)</b>	<b>INTERVALOS (µg/kg)</b>	<b>LIMITE (µg/kg)</b>
CAFÉ DE GRANO (Molido y Tostado)	16/16	2.82	1.779 – 4.405	5
CAFÉ DE GRANO (Verde)	1/1	3.417		5
CAFÉ SOLUBLE 100% PURO	3/3	2.859	2.897 – 3.096	10

En cuanto a la cerveza, se encontró una contaminación del 100% en todas las muestras analizadas, para las muestras de cerveza, light, clara y oscura, dichos datos se muestran en la **Tabla 10**, donde se observa un intervalo de concentración promedio desde 0.0557 hasta 1.162 , donde la cerveza light evidencia contener mayor concentración en comparación a la cervezas clara y oscura.

<b>Tabla 10. Concentración de OTA en cerveza. <sup>76</sup></b>			
<b>PRODUCTO</b>	<b>MUESTRAS POSITIVAS</b>	<b>CONCENTRACIÓN PROMEDIO (µg/kg)</b>	<b>INTERVAL OS (µg/kg)</b>
CERVEZA CLARA	17/17	0.825	0.471-1.51
CERVEZA LIGHT	7/7	1.162	0.562 – 1.70
CERVEZA OSCURA	5/5	0.057	0.647 – 1.625

Dicho estudio concluye, que existe la presencia de OTA en los diversos productos analizados provenientes todos del estado de Michoacán, aun cuando algunos no superan los límites referencia, el autor menciona que se debe poner atención especial en el consumo, producción y reglamentación de los productos que si sobrepasan dichos límites. Además, sólo se analizaron algunos alimentos representativos, pero existen otros más que se consumen comúnmente y que no han sido analizados.

### **B. OTA y Leche materna**

No existe mucha información sobre la concentración de OTA en leche materna; sin embargo, en un estudio realizado en Irán se reportó la presencia de OTA en la leche materna en 84 muestras de un total de 87, de las cuales el 96.6% tuvieron resultados positivos con una concentración de  $24.57 \pm 13.6$  ng/L. Según el estándar europeo de 40 ng/L, 16% de las muestras presentaron una concentración mayor. Concluyendo en este estudio que la presencia de OTA denota el consumo de la misma de fuentes contaminadas, por lo cual su detección es indispensable.<sup>3</sup>

### **2.2.3 Ingesta Diaria Tolerable**

La ingesta diaria tolerable (IDT) es una estimación de la cantidad de una sustancia presente en el aire, alimentos o agua potable que puede ingerirse diariamente a lo largo de la vida sin riesgos visibles en la salud. En México no existe una ingesta diaria tolerable específica para OTA, por lo que las recomendaciones a las que hace referencia este trabajo se basan en las establecidas por el Comité Científico de Alimentación de la Unión Europea (CCAE), de acuerdo a los datos de carcinogenicidad y genotoxicidad de la OTA al momento de la publicación de las normas, de tal manera que se concluyó reducir la exposición tanto como fuera posible, a una exposición de máximo 5ng/kg de peso por día.<sup>77</sup>

Es decir, un individuo de 70 kg, no debería de ingerir más de 350 ng OTA/día; si esta persona consumiera 60 – 70 g diarios de cereales contaminados uniformemente con 5ng OTA/g, ya estaría aportando un cantidad considerable en su dieta; si fuera para niños la cantidad sería menor para alcanzar esos valores, por lo cual los límites máximos permisibles son más bajos para lactantes y niños de corta edad a 0.50 ng/g.

En mujeres embarazadas aún no hay legislación; sin embargo, un equipo de investigadores<sup>78</sup> ha propuesto parámetros de ingesta diaria estimada (IDE) en relación al nivel de exposición ya sea alto, medio o bajo; esto de acuerdo a la concentración de ocratoxina A en suero reportada por ellos. En la **Tabla 11** se muestra el Nivel de exposición de acuerdo a las variables OTA en suero e IDE de acuerdo a dichos autores.

<b>Tabla 11. Concentración de OTA máxima permitida en suero según la IDE .<sup>78</sup></b>		
<b>Nivel de Exposición</b>	<b>Nivel OTA suero</b>	<b>Ingesta Diaria Estimada (IDE)</b>
Alto	1.53 ng/mL	3.26 ng/kg/pc/día
Medio	0.26 ng/mL	0.55 ng/kg/pc/día
Bajo	0.20ng/mL	0.43 ng/kg/pc/día

#### **2.2.4 Ocratoxina A y embarazo**

El periodo fetal tiene una vulnerabilidad excepcional a los efectos perjudiciales que resultan *in útero* a la exposición a productos químicos ambientales.<sup>79, 80</sup> La gestación es un período crítico para cada especie debido al desarrollo de eventos biológicos importantes, tales como la organogénesis, el desarrollo de la plasticidad cerebral y programación endocrina entre otros.

Por lo tanto, la exposición a agentes tóxicos durante la gestación puede interferir con la integridad del desarrollo y conducir a resultados adversos en la salud en etapas posteriores de la vida.

Además, debido al metabolismo y a un sistema de desintoxicación inmaduro, el período fetal es más susceptible de todos los grupos de edad al estrés ambiental y existe más evidencia que demuestra que el consumo de alimentos contaminados con productos químicos tales como: hidrocarburos policíclicos aromáticos<sup>81</sup>, flavonoides<sup>82</sup>, aspartame<sup>83</sup> y aflatoxinas y ocratoxinas<sup>84</sup> son capaces de provocar o aumentar efectos adversos en la

salud del feto, ya que al parecer, muchos de estos componentes llegan al feto a través de la vía transplacentaria; esto ha sido verificado en estudios hechos con animales y por lo tanto, pueden ser también perjudiciales para la salud humana.

#### **A. Exposición fetal a OTA durante el embarazo.**

Existe evidencia de que la transferencia transplacentaria de OTA sucede desde una etapa temprana del periodo gestacional, donde hay una acumulación sérica de OTA en el feto, hasta el final del embarazo.

Actualmente, hay 2 estudios que comparan la presencia de OTA a nivel sérico en el feto y la madre al momento del alumbramiento, donde se muestra duplicada la cantidad de OTA en el cordón umbilical en comparación con la cantidad de OTA en sangre materna<sup>85,86</sup>; por lo cual existe evidencia de OTA en la circulación fetal y este hecho, no solo confirma la exposición, si no también sugiere un mecanismo de transporte activo de OTA de la madre hacia el feto; además, el adelgazamiento de la barrera placentaria hacia el término del embarazo, muestra que hay más permeabilidad a la presencia de tóxicos ambientales<sup>87</sup>. Por otro lado, la cantidad de OTA transportada vía trasplacentaria disminuye conforme se llega a la última etapa del embarazo. Este hecho fue demostrado en un estudio en ratas donde se determinó la transferencia de OTA transplacental en las primeras etapas de gestación.<sup>88</sup>

Por otro lado, estudios epidemiológicos en humanos<sup>89,91,92</sup>, han demostrado que cuando la exposición ambiental a tóxicos se da desde etapas tempranas de la vida, como en la etapa *in útero*, hay una mayor predisposición al desarrollo enfermedades tales como cáncer y enfermedades crónicas tanto etapas tempranas y tardías de la vida.

Además, el mecanismo de eliminación de sustancias tóxicas del cuerpo se realiza por 2 grandes procesos, metabolismo y excreción. En el feto, el metabolismo hepático, específicamente el proceso enzimático, no se encuentra adecuadamente desarrollado.<sup>93</sup> Esto es relevante ya que aun cuando el feto tiene la capacidad de eliminar a nivel urinario,

los desechos tóxicos terminan en el líquido amniótico, susceptibles a ser ingeridos de nueva cuenta por el feto.<sup>94</sup>

Entonces, la exposición temprana y la continua circulación de la micotoxina en el feto durante el embarazo puede interferir con su desarrollo, además aumenta la susceptibilidad del individuo a sufrir daños a la salud, debido a un mecanismo de protección inmaduro, así como interferencia en el desarrollo y consecuente aparición de enfermedades.

### **B. Evaluación del riesgo materno a OTA basado en el nivel en suero.**

Hasta la fecha, la mayoría de las estimaciones de la exposición para la evaluación del riesgo se basan en los datos del consumo alimenticio en comparación a los niveles correspondientes de contaminantes. Para proceder al cálculo, se requieren datos de la cantidad total consumida de productos alimenticios por individuos, así como el nivel de contaminación de OTA total en los respectivos productos alimenticios de dicha región.

Sin embargo, hay ausencia de datos poblacionales nacionales del consumo de alimentos contaminados con OTA, probablemente, porque un estudio muy específico en cuanto al análisis del consumo dietético total por persona por estudio, sería muy costoso y requeriría mucho tiempo.

En el caso de la OTA, la concentración en suero podría ser una alternativa para el cálculo de la ingesta diaria. Sin embargo, no es posible realizar una correlación exacta entre la concentración sérica de OTA y el consumo de alimentos contaminados por OTA debido a que no hay suficientes estudios y los pocos que existen, presentan datos inconsistentes entre diversos estudios, además de no ser posible de controlar muchas más variables.<sup>95 -100</sup> De cualquier forma, la cantidad sérica de OTA es proporcional al consumo dietético y puede llegar a estimar o aproximar esta relación, por medio de otras herramientas, como se retomará más adelante.

## 2.2.5- Toxicidad de la OTA

### A. Toxicocinética

En la **Figura 2** se muestra a manera de resumen el mecanismo toxicocinético de la OTA. La OTA se absorbe en el tracto gastrointestinal y pasa a la circulación sistémica, detectándose en sangre y tejidos. Las concentraciones más altas se detectan en los órganos de mayor actividad metabólica como riñón, hígado, músculo y grasa<sup>101</sup>. Durante su distribución, la OTA tiene una alta capacidad de fijación a las proteínas plasmáticas, y presenta una semivida de eliminación larga, con valores en el cerdo de 72-120 horas y en el hombre 840 horas (35 días), siendo la fracción libre de toxina < 0,2%.<sup>102-104</sup> Tanto la OTA como sus metabolitos se excretan por vía renal y hepatobiliar. También se han observado niveles de OTA en las secreciones lácteas,<sup>105</sup> lo cual constituye un riesgo para el recién nacido afectándolo de manera directa en su crecimiento y desarrollo futuro.<sup>106, 107</sup> Un caso excepcional es el de los rumiantes ya que la OTA no es excretada por vía láctea debido a su previa degradación por acción de la microflora del rumen<sup>108</sup>.



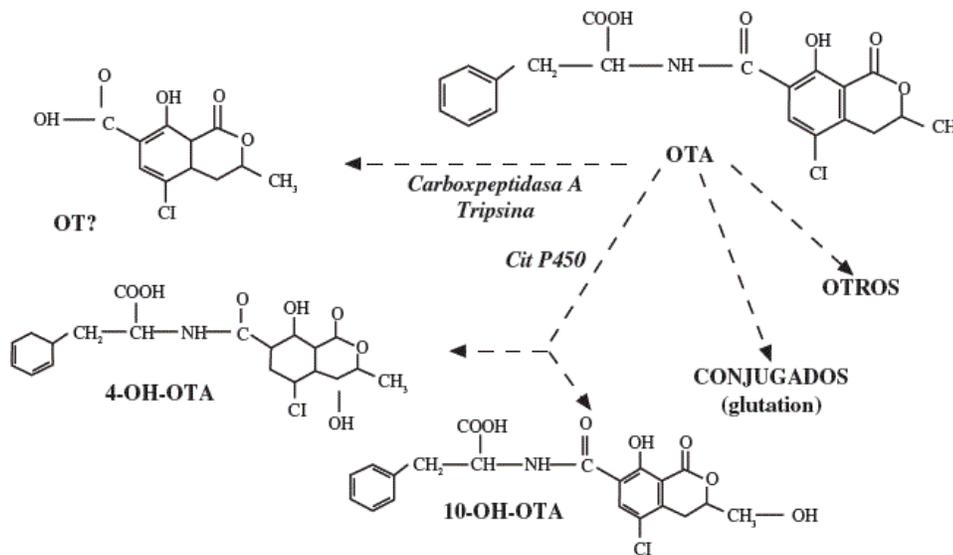
**Figura 2.** Toxicocinética de la OTA.<sup>101 - 119</sup>

En la **Figura 3** se aprecia el metabolismo de Ocratoxina A; se producen derivados hidroxilados 4-OH-OTA así como 10-OH-OTA; este último, solamente ha sido descrito *in vitro* después de la incubación de la OTA con microsomas de hígado de conejo<sup>109</sup> y productos de conjugación con glutatión.

La OTA puede actuar como sustrato de la enzima fenilalanina hidroxilasa dando lugar como producto final a la Tyr-OTA que es metabolizado a los principales metabolitos hepáticos que parecen ser los epímeros (4R y 4S)-OH-OTA en cuya formación está implicado el sistema citocromo P450<sup>110</sup>.

Se ha demostrado que, en la formación de estos metabolitos, principalmente el epímero R y en menor medida el S, participan las isoformas de P450 1A1/1A2, 2B1 y 3A1/3A2.<sup>111</sup>

La OTA puede actuar como sustrato de la enzima fenilalanina hidroxilasa dando lugar como producto final a la Tyr-OTA que es metabolizado a 4R/S-hidroxitirosin-OTA y otros metabolitos.

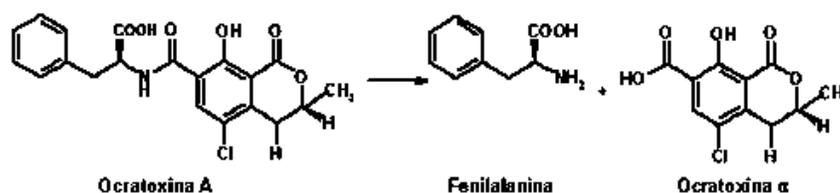


**Figura 3.** Metabolismo de Ocratoxina A <sup>18</sup>

Con el fin de contrarrestar los efectos toxicos derivados por la contaminación de micotoxinas en los alimentos, en el año 2003 después de un intenso proceso de selección y

análisis por un grupo de investigadores, se escogió una levadura por sus excelentes propiedades para biotransformar ocratoxina A.

Esta levadura llamada *Trichosporon mycotoxinivorans* (MTV) biotransforma la ocratoxina A (OTA) a ocratoxina alfa. En la **Figura 4** se muestra el proceso de biotransformación de OTA a OTA alfa.<sup>112, 113</sup> La ocratoxina  $\alpha$  (OT $\alpha$ ) se da como producto del hidrólisis de la OTA, el cual es 500 veces menos tóxico que ocratoxina A.<sup>112, 113</sup>



**Figura 4.** Biotransformación la Ocratoxina A (OTA) a Ocratoxina alfa.<sup>112, 113</sup>

### B. Toxicodinamia

Los principales mecanismos de acción de la Ocratoxina A mediante los cuales ejerce su toxicidad son:

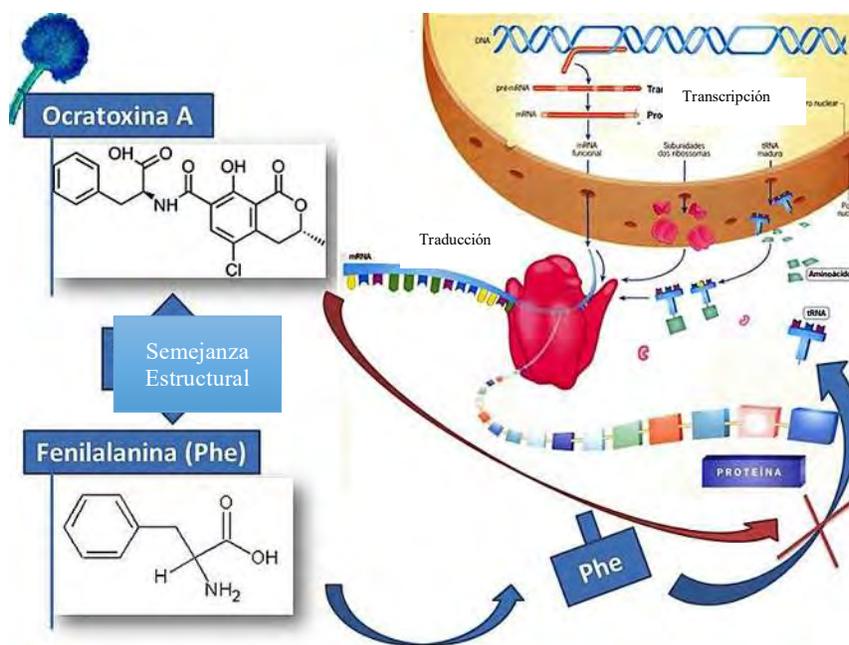
- *Alteración sobre la respiración celular:* actúa inhibiendo competitivamente la actividad de la ATPasa, la succinato deshidrogenasa y la citocromo C oxidasa lo que genera efectos similares a los producidos en una lesión celular, obteniendo como productos finales radicales hidroxilados por peroxidación lipídica<sup>114-116</sup>.
- *Alteración de la síntesis de proteínas:* Este mecanismo se produce a nivel post-transcripcional por inhibición competitiva de la Phe-ARNt sintetasa<sup>11</sup> y como consecuencia de esto, se interrumpe la síntesis proteíca; a pesar de que la afinidad de la OTA por la Phe-tRNA sintetasa es mucho menor que la que presenta la propia Phe, la OTA es probablemente muy efectiva cuando se acumula en las células, ya que la concentración intracelular de Phe es pequeña en la **Figura 5** se muestra el mecanismo molecular por el cual la OTA inhibe el proceso de traducción<sup>16</sup>.

Estudios *in vitro* con células renales demuestran un efecto inductor de la OTA sobre la caspasa y la protein kinasa<sup>118</sup> que induce a la alteración de la síntesis de ADN con

sus consiguientes lesiones.<sup>119</sup>

Por otra parte, los efectos genotóxicos y carcinogénicos, que son los que más preocupan desde el punto de vista de la salud humana, son consecuencia de la capacidad de la OTA para producir aductos y roturas sencillas en el ADN directamente por la generación de especies reactivas.

- *Secuestro de calcio microsomal*: Este mecanismo constituye una reacción temprana y ligada al fenómeno de peroxidación lipídica. Diversos estudios tanto *in vitro* como *in vivo*<sup>121</sup> demuestran que la OTA produce una inhibición en el bombeo y captación del calcio a través del retículo endoplasmático del hepatocito. Experimentalmente, se ha demostrado que los niveles de calcio descenden entre un 43,5% (al tratar ratas con 10 mg/kg p.c) y un 80% (al tratar con altas concentraciones de OTA en un cultivo de microsomas hepáticos de rata)<sup>104</sup>.



**Figura 5.** Mecanismo molecular de la OTA para la inhibición de la síntesis proteica, durante el proceso de traducción.<sup>119</sup>

## 2.2.6- Legislación de la OTA

Actualmente existen los Reglamentos de la Unión Europea (CE) 1881/2006 y 576/2006 que establecen los límites permitidos de OTA en distintos alimentos para consumo humano mostrados en la **Tabla 12** y para alimentación animal mostrados en la **Tabla 13** <sup>122</sup>

**Tabla 12. Los límites máximos de contenido de OTA en productos para consumo humano. Reglamento (CE) 1881/2006 y posteriores modificaciones (105/2010 y 594/2012).**<sup>127</sup>

PRODUCTO	CONTENIDOS MÁXIMOS ppb ( µg/kg)
Cereales en grano sin transformar (incluidos arroz y alforfón)	5.00
Productos derivados de los cereales (incluidos productos transformados a base de cereales y cereales de grano destinado a consumo humano directo)	3.00
Uvas pasas (corinto, sultanas y otras)	10.0
Café tostado en grano y molido	5.00
Café soluble (instantáneo)	10.0
Vino (tinto, blanco, rosado, espumoso) y otras bebidas a base de vino y cocteles aromatizados de productos vinícolas.	2.00
Jugo de uva y otras bebidas incluidas néctar y jugo reconstituido.	2.00
Mosto de uva (incluido mosto reconstituido para consumo humano directo)	2.00
Alimentos a base de cereales y alimentos infantiles	0.50
Alimentos dietéticos destinados a uso médico y alimentos para lactantes	0.50
Café verde, frutos secos (excepto uvas pasas), cacao, productos cárnicos y especias (incluidas especias desecadas)	15.0
Regaliz (ingrediente para infusiones)	20.0
Extracto de regaliz para uso en bebidas y confitería	80.0
Gluten de trigo no destinado a la venta directa al consumidor	8.00

**Tabla 13. Los límites máximos de contenido de OTA en productos alimenticios para alimentación animal. Reglamento (CE) 576/2006.** <sup>128</sup>

PRODUCTO	CONTENIDOS MÁXIMOS ppm ( mg/kg)
Materias primas para piensos	
Cereales y productos a base de cereales	0.25
Piensos complementarios y complementos	
- para cerdos	0.05
- para aves de corral	0.10

Mientras que otros Organismos Internacionales se han encargado de fijar los valores máximos de exposición a OTA en seres humanos con recomendaciones de Ingesta Diaria Tolerable (IDT) que oscilan entre los 14 ng de OTA/kilogramo de peso corporal/día (European Food Safety Authority 2006) y los 17ng/kg pc/día (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food and Additives 2007, JECFA) <sup>123</sup>.

El Consejo Nórdico de Ministros propuso una ingesta provisional diaria tolerable de 5 ng/kg peso corporal /día similar a la Ingesta Provisional Diaria Tolerable (PTDI) establecida en Canadá (1.2 – 5.7 ng/kg peso corporal).

En México, aunque existen normas oficiales que reglamentan aflatoxinas en alimentos (NOM 188-SSA1-2002), no se cuenta con límites máximos permitidos ni con valores de IDT a OTA <sup>124</sup>.

La evaluación de OTA en 2001 por parte de JECFA, calculó la exposición humana a la OTA a partir de distintas fuentes alimentarias entre estas el vino. Este planteamiento proporciono los siguientes datos; en primer lugar, existe una ingesta media total de OTA de alrededor de 45 ng/kg de peso corporal semanales para un individuo de 60 kg. A partir de estos cálculos se observó que el vino constituye la segunda fuente más importante de exposición humana a la OTA en Europa, con una ingesta media de aproximadamente 9 ng/kg de peso corporal semanales, en comparación con una ingesta de 25 ng/kg de peso corporal semanales procedentes de los cereales y sus derivados, que constituyen la principal fuente de exposición humana a la OTA. El café y el mosto sólo aportaban de 2 a 3 ng/kg de peso corporal semanales al total de exposición a la OTA.

El grupo de trabajo Nórdico sugirió una concentración máxima de ingesta diaria tolerable de OTA de 5ng/kg de peso al día; en recién nacidos, lactantes y niños de corta edad, la legislación impone unos límites máximos permisibles más bajos en alimentos destinados a estos (0,50 ng/g) <sup>125</sup>. Recientemente, en base a las regulaciones de la Unión Europea en

cooperación con la EFSA, la concentración máxima semifinal tolerable de OTA se estableció en 120ng/kg de peso corporal y la IDT de 20ng para niños <sup>126</sup>.

### **2.2.7.- Determinación y cuantificación de OTA**

En la actualidad las técnicas analíticas para la determinación y cuantificación de OTA en diferentes tipos de muestras buscan: facilitar la preparación de la muestra, automatizar los procedimientos y alcanzar una alta sensibilidad al analito <sup>129</sup>.

Entre las técnicas más novedosas caben destacar: la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a la espectrometría de masas (MS/MS), la HPLC acoplada a un detector de fluorescencia, la técnica cualitativa y cuantitativa del ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) mediante el uso combinado de anticuerpos monoclonales así como la detección de metabolitos fúngicos con actividad tóxica mediante bioensayos sobre *Artemia salina* <sup>130</sup>.

La HPLC es el único método certificado por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) <sup>121</sup>; pero tiene la desventaja de que utiliza equipos muy costosos y los solventes que se utilizan son poco amigables con el medio ambiente; mientras que métodos como ELISA, son aceptados y resultan igualmente eficientes en las determinaciones de OTA a un menor costo.

Por otro lado, para conocer y evaluar la exposición a la OTA existen los métodos convencionales, que combinan datos de contaminación en alimentos con datos de ingesta poblacional; además, se han propuesto otros métodos basados en biomarcadores para determinar OTA en plasma sanguíneo y en orina cuyos resultados pueden correlacionarse con los obtenidos por los métodos comunes<sup>131</sup>. Estos últimos tienen la ventaja de no verse afectados por el efecto de las diferentes matrices alimentarias en la biodisponibilidad y de reducir la variabilidad entre individuos asociada a la absorción intestinal<sup>132</sup>. Actualmente existe una controversia de cuál biomarcador ofrece los mejores resultados de exposición humana a OTA, sí los urinarios o las concentraciones detectadas en plasma.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Las Micotoxinas y las micotoxicosis representan un problema en el ámbito internacional debido a las pérdidas económicas que ocasionan pero además, porque representan un problema de salud pública, que ha cobrado relevancia en las últimas tres décadas.<sup>133</sup>

El consumo crónico de micotoxinas, como la Ocratoxina A se considera como un factor de riesgo importantes que afecta la salud humana <sup>134</sup>.

La evaluación sistemática de la exposición a estas toxinas, es importante, principalmente en aquellos grupos vulnerables como mujeres embarazadas y sus productos, ya que el consumo crónico de estas durante las etapas tempranas del embarazo puede ocasionar daños al ser en desarrollo no sólo en las etapas iniciales de la vida y si no también en las posteriores.

La OTA es una micotoxina poco estudiada y que es de importancia en la salud pública en México debido a la ausencia de datos sobre su incidencia y consumo en humanos. La evaluación del riesgo de la OTA ha ido aumentando poco a poco en otros países.

En México no existen datos sobre la exposición al consumo de OTA en *mujeres embarazadas*; además, se tienen algunos datos sobre la presencia de OTA en ciertos alimentos, como por ejemplo los cereales. Esto es importante porque la dieta mexicana, incluyendo la de las mujeres embarazadas, está basada en este tipo de alimentos.

Este estudio permitirá conocer el grado de exposición de las mujeres embarazadas a la OTA de acuerdo a su patrón de consumo de alimentos y sobre todo, por sus niveles séricos. La información aquí obtenida, representa un primer estudio de este tipo en el estado de Michoacán.

#### **4. HIPÓTESIS**

El 60% de las mujeres embarazadas del hospital de la Mujer de Morelia, presentan concentraciones de Ocratoxina A en suero medio-altas y rebasa la ingesta diaria tolerable por consumo dietético.

#### **5. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la exposición a Ocratoxina A en pacientes embarazadas del Hospital de la Mujer de Morelia, mediante la determinación de su concentración en suero y de acuerdo a su patrón de consumo de alimentos.

#### **6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar el patrón alimentario de las mujeres embarazadas.
2. Evaluar la cantidad de OTA presente en suero de las pacientes embarazadas.
3. Determinar la cantidad de OTA ingerida de acuerdo a la frecuencia de consumo de alimentos.
4. Verificar la relación entre el patrón de consumo de alimentos y las concentraciones de OTA en suero

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1 Diseño de estudio**

#### **7.1.1- Tipo y Clasificación del estudio**

Estudio observacional, descriptivo y transversal.

#### **7.1.2- Universo o población.**

Mujeres Embarazadas que sean pacientes ambulatorias del Hospital de la Mujer de Morelia, Michoacán, que acudieron al laboratorio para toma de muestra sanguínea de primera vez y que desearon participar.

#### **7.1.3.- Muestra.**

Debido a que en el estado de Michoacán no hay datos sobre la incidencia ni prevalencia de exposición humana a OTA; el tamaño de la muestra se calculó de acuerdo a las estadísticas reportadas en la literatura internacional en relación a la exposición humana a OTA, considerando para el cálculo de la muestra la prevalencia más baja encontrada. Los datos encontrados en la literatura de la prevalencia más alta y la más baja se muestra en la **Tabla 14**.

<b>Tabla 14. Porcentaje de contaminación por OTA en suero en diferentes países.</b>		
<b>Estudio</b>	<b>Prevalencia (%)</b>	<b>Referencia</b>
• Determinación de OTA en plasma humano y en café de Costa Rica por un método de ELISA	95	Quintana et al. 2007.
• Biomarkers of human exposure to ochratoxin A	60	Mantle-Scott. 2005.
• Maternal-Fetal Cancer Risk Assessment of Ochratoxin A during Pregnancy	81.6	Chit Shing Jackson Woo and Hani El-Nezami 2016

Se utilizó la fórmula para población finita:

$$n = \frac{Nz^2pq}{d^2(N - 1) + z^2pq}$$

Dónde:

- n= Tamaño de muestra
- p= Prevalencia más baja de OTA en sangre encontrada en la literatura (60%).  
p=0.6
- q= 1- p
- z= Valor crítico de la distribución normal estandarizada. Se utilizará un nivel de confianza del 95%. z=1.96
- d= Precisión o error máximo permisible del 5%. Error tipo 1. d= 0.05.
- N: Población de mujeres embarazadas que son pacientes ambulatorias y acuden a toma de muestra sanguínea de primera vez al Laboratorio del Hospital de la Mujer al mes aproximadamente. N= 200

Al sustituir dichos valores en la fórmula anterior, se obtiene lo siguiente:

$$n = \frac{(200)(1.96)^2((0.6)(1 - 0.6))}{0.05^2(200 - 1) + ((1.96)^2 (0.6)(1 - 0.6))}$$
$$n = 129.9$$

$n = 130$
-----------

Se agregaron 20 muestras más por posibles pérdidas, dando una **n** final de 150 pacientes.

#### 7.1.4. - Definición de las unidades de observación:

- Concentración de ocratoxina A:** cantidad medible de Ocratoxina A en suero sanguíneo medida en ng/mL mediante una prueba de ELISA<sup>135</sup>.
- Peso corporal:** En sentido estricto, debería usarse el término de masa corporal en lugar de peso corporal. La masa corporal es un concepto que se emplea para designar la cantidad de materia presente en un cuerpo humano<sup>136</sup>.
- Estatura:** La estatura se define como la distancia que existe entre el vértex y el plano de sustentación. También se le denomina como talla en bipedestación o talla de pie, o simplemente como talla<sup>136</sup>
- IMC (índice de masa corporal):** es una medida de asociación entre la masa y la talla de un individuo ideada por el estadístico belga Adolphe Quetelet, por lo que también se conoce como índice de Quetelet<sup>136</sup>

- e. **ELISA:** por sus siglas en inglés Enzyme-linked Immunosorbent Assay (análisis por inmunoadsorción con enzimas ligadas). Técnica inmunológica de gran sensibilidad y especificidad que se utiliza para detectar antígenos y anticuerpos<sup>135</sup>.
- f. **Indicadores Dietéticos:** datos sobre la alimentación de un individuo o una población que nos permiten evaluar alteraciones en la dieta. Para medirlos se utilizan técnicas de evaluación dependiendo del tipo de unidades en que se manejarán los alimentos, la temporalidad, el periodo de estudio, la forma de registro, las tablas de valor nutrimental de referencia, las ingestiones nutrimentales de referencia.<sup>136</sup>
- g. **CFCA:** Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos: herramienta de evaluación de indicadores dietéticos.

#### **6.1.5.- Criterios de inclusión:**

Mujeres embarazadas que:

- a) Fueran pacientes del Hospital de la Mujer de Morelia.
- b) Que acudieran al laboratorio para toma de muestra sanguínea
- c) Que desearan participar:
  - Contestando un Cuestionario de Antecedentes Médicos
  - Contestando un Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos
  - Permitiendo que se les tomen medidas antropométricas: peso, talla, tiempo gestacional, para datos de control.
  - Permitiendo que se les extraigan 5ml extras de muestra sanguínea.

#### **7.1.6.- Criterios de exclusión:**

- a) mujeres no embarazadas b) mujeres que acudan al laboratorio para toma de muestra sanguínea que hayan participado anteriormente.

#### **7.1.7.-Criterios de eliminación:**

- a) Mujeres que no contesten correctamente o de manera incompleta el Cuestionario de Antecedentes Médicos (CAM) y/o el Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA).

b) Mujeres que aún cuando contesten el CFCA y/o CAM se nieguen a tomar la muestra de sangre.

### 7.1.8.- Definición de variables y unidades de medida:

En la **Tabla 15**, se muestran a manera de resumen las variables a estudiar en relación a los instrumentos de medición.

<b>Tabla 15. Tabla de clasificación de variables a estudiar.</b>			
<b>Variables</b>	<b>Operacionalización de variables</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Escala de medición</b>
<i>Variables bioquímicas</i> Concentración de OTA en suero sanguíneo	Concentración total OTA determinada por método de ELISA	Dependiente	Cuantitativa (ng/ml)
<i>Variables dietéticas</i> Ingesta de alimentos	Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA) del Instituto Nacional de Salud Pública	Independiente	Cuantitativa (% , gr) Cualitativa (adecuada, equilibrada, variada, completa)
<i>Variables antropométricas</i> Peso	Manual de procedimiento para proyectos de nutrición del Instituto Nacional de Salud Pública	Independiente	Cuantitativa (kg)
Talla	Manual de procedimiento para proyectos de nutrición del Instituto Nacional de Salud Pública	Independiente	Cuantitativa (m)
Índice de masa corporal pregestacional (IMC)	Fórmula de Quetelet y Clasificación de la OMS para calculo de IMC pregestacional	Independiente	Cuantitativa (kg/m <sup>2</sup> ) Cualitativa ordinal (Clasificación OMS)

### 7.1.9.- Selección de las fuentes, métodos, técnicas y procedimientos de recolección de la información.

#### a) Cuestionario de Antecedentes Médicos (CAM)

Para conocer datos demográficos e información sobre su estado general de salud, se utilizó el Cuestionario de Antecedentes Médicos, (basado en el Cuestionario de Antecedentes Médicos del Hospital General de México con modificaciones de acuerdo al interés del

presente estudio) (**ANEXO 13.3**), en el que se recabó: a) información general: nombre, edad, lugar de origen, domicilio y el no. de registro, b) el peso y la talla medidos, así como el IMC calculado, c) los Antecedentes Patológicos Personales, d) Antecedentes de conductas sociales: consumo de alcohol y tabaquismo.

#### **b) Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA)**

Para conocer los patrones de consumo de alimentos y estimar la ingesta diaria promedio de alimentos susceptibles a contaminación con OTA, se utilizó el Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA) del Instituto Nacional de Salud Pública y el software SNUT versión 3.0 (Sistema de Evaluación de Hábitos Nutricionales y Consumo de Nutrimientos), creados y validado para su estudio en mujeres mexicanas (**ANEXO 13.4**). Dichas herramientas evalúan la cantidad y calidad de la dieta.

El cuestionario consta de 12 secciones, en donde se interroga la frecuencia de consumo de alimentos durante el último año, de un total de 104 alimentos. Dichas secciones son las siguientes: 1) Productos lácteos, 2) Frutas, 3) Huevo, carnes y embutidos, 4) Verduras, 5) Leguminosas, 6) Cereales, 7) Golosinas, 8) Bebidas, 9) Aceites, 10) Antojitos, 11) Otros alimentos, 12) Azúcares, sal y suplementos nutricionales.

#### **c) Instrumentos para la antropometría:**

Se tomaron las medidas antropométricas de peso corporal y talla según las técnicas descritas en el Manual de procedimientos para proyectos de nutrición del Instituto Nacional de Salud Pública<sup>130</sup>. Las técnicas se citan a continuación:

Condiciones necesarias para la toma de medidas **antropométricas**:

- La exploración se realizará en una estancia suficientemente amplia y a una temperatura confortable.
- El material deberá ser el mismo cada vez y deberá encontrarse calibrado y comprobada su exactitud antes de iniciar la toma de las medidas.
- La exploración se iniciará marcando los puntos anatómicos y las referencias antropométricas necesarias para el estudio.
- Las medidas se tomarán siguiendo un orden práctico y cómodo para el estudiado.

- Las mediciones deberán llevarse a cabo por el mismo evaluador previamente estandarizado.

### **Peso corporal**

- *Instrumental:* Báscula o balanza para pesar personas. La medida del peso corporal se expresa en kilogramos (kg.), con una precisión de 0.1 kg.
- *Técnica:* El sujeto se sitúa de pie en el centro de la plataforma de la báscula distribuyendo el peso por igual en ambas piernas, sin que el cuerpo este en contacto con nada que haya alrededor y con los brazos colgando libremente a ambos lados del cuerpo. La medida se realiza sin zapatos ni adornos personales y por duplicado<sup>130</sup>.

### **Estatura:**

- *Instrumental:* Estadímetro. La medida de la estatura se expresa en centímetros (cm), con una precisión de 1 mm.
- *Técnica:* El sujeto se coloca de pie, completamente estirado, con los talones juntos y apoyados en el tope posterior y de forma que el borde interno de los pies forme un ángulo de aproximadamente 60 grados. Las nalgas y la parte alta de la espalda contactan con la tabla vertical del estadiómetro. El antropometrista coloca la cabeza del estudiado en el plano de Frankfort y realiza una tracción de la cabeza a nivel de los procesos mastoides, para facilitar la extensión completa de la columna vertebral. Se indica al sujeto que realice una inspiración profunda sin levantar la planta de los pies y manteniendo la posición de la cabeza. Se desciende lentamente la plataforma horizontal del estadiómetro hasta contactar con la cabeza del estudiado, ejerciendo una suave presión para minimizar el efecto del pelo. En esta medida el sujeto deberá estar descalzo. Se realizó por duplicado<sup>135</sup>.

### **IMC (índice de masa corporal)**

- Se calcula según la expresión matemática.<sup>136</sup>

$$IMC = \frac{\text{Peso kilogramos}}{\text{Talla metros}^2}$$

- Posteriormente en la **Tabla 16**, se muestran los diagnósticos establecidos de acuerdo al resultado de IMC obtenido.

IMC kg/m <sup>2</sup>	Clasificación
<18.5	desnutrición
18.5-24.9	normal
25.0-29.9	sobrepeso
30.0-34.9	obesidad I
35.0-39.9	obesidad II
>39.9	obesidad III

Esta herramienta es importante ya que permite calcular el IMC previo al embarazo y por lo tanto verificar el aumento de peso de la madre durante la gestación. En la **Tabla 17** se muestran, que según las directrices emitidas por el *institute of medicine* (IOM) para saber si la ganancia de peso durante el embarazo es adecuada, se debe comparar el peso gestacional actual de la mujer expresado como IMC frente al objetivo de aumento de peso según tamaño corporal antes del embarazo.<sup>138</sup>

IMC	INTERVALO	GANANCIA DE PESO POR TRIMESTRE	GANANCIA DE PESO POR SEMANA
<18,5	12,5 - 18	2,3kg/trim	0,5 kg/sem
18,5 a 24,5	11,5 - 16	1,6 kg/trim	0,4 kg/sem
25 a 29,9	7 - 11,5	0,9 kg/trim	0,3 kg/sem
30 o más	6 - 7	ND	ND

### 7.1.10 Definición del plan de procesamiento y presentación de la información:

#### a) Etapa de Muestreo:

Esta etapa abarcó un total de 6 meses del 2017. En la **Figura 6**, se muestra el proceso de selección de muestra llevado a cabo en el Hospital de la Mujer Morelia.

- Se invitó a las mujeres embarazadas, que acudían a su cita de laboratorio para toma de muestra sanguínea. Si accedían a participar se capturaba la firma en la Carta de Consentimiento Informado.

También se les explicó de manera práctica y con lenguaje de fácil comprensión lo que implicaba el proyecto de manera resumida.

- Una vez que firmaron la Carta de Consentimiento informado, se procedió a la aplicación de las herramientas de medición:

1) CAM: 3 minutos aproximadamente

2) CFCA: 15 minutos aproximadamente

- Llegado el turno de la participante para pasar a la toma de muestra sanguínea se solicitó al químico 2.5 mL extras de sangre en tubos BD Vacutainer SST ®. DORADO para suero.
- Los tubos con la muestra sanguínea se almacenaron en una hielera con Gel Packs® (bolsas plásticas llenas de gel refrigerante) para mantener las muestras a una temperatura de refrigeración de 4°C y posteriormente fueron transportadas al Laboratorio de Desarrollo Analítico de la Facultad de Medicina de la UMSNH en un plazo no mayor a 4 horas.
- Posterior a la toma de muestra sanguínea y si no se concluyó la parte 3 “Antropometría” (Anexo 13.3), del CAM se le pidió a la participante que continuara la evaluación, utilizando una báscula Omrom® portátil, también se procedió a medición de estatura con un estadímetro marca SECA® portatil con capacidad de 220 kg y longitud de 2 m. con precisión de 100g y 5 mm, respectivamente. Para toma de medidas antropométricas se estimó un tiempo de 30 segundos aproximadamente. Por duplicado (peso y talla)
- Por último, se le entrego una copia de la Carta de Consentimiento Informado con los datos del contacto para que la participante pueda solicitar información posteriormente, si así lo desea.

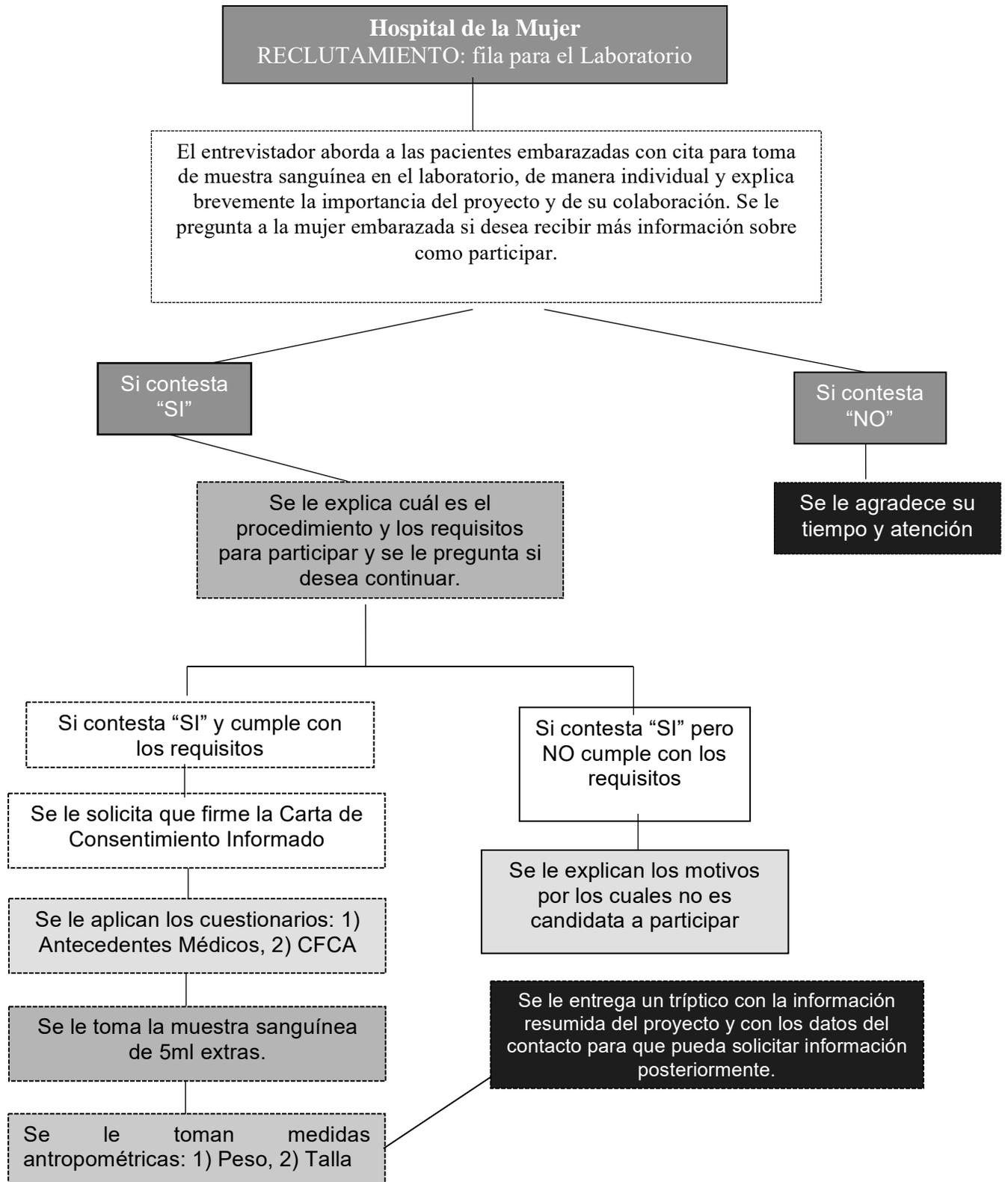


Figura 6. Diagrama de flujo para el muestreo de las mujeres embarazadas.

**b) Tratamiento de la muestra:**

Una vez que se transportaron las muestras sanguíneas al laboratorio de Desarrollo Analítico, el suero se separó por medio de centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente. Esta velocidad, tiempo y temperatura de centrifugación reduce la contaminación con plaquetas. El suero corresponde a la parte superior del tubo centrifugado. El suero obtenido se almacenó en microtubos de 1.5 mL a -25°C hasta su análisis por la técnica de ELISA. (Se explica más adelante)

**c) Preparación de muestra: Extracción de OTA**

- Para el análisis de las muestras se realizó una extracción de OTA para poder llevar a cabo el método de ELISA y determinar la ocratoxina A en ng/mL. El método de extracción de OTA se describe a continuación:
- A 250µl de suero se le agregó 750 µl de metanol absoluto, se mezcla vigorosamente y se deja reposar por 5 minutos a temperatura ambiente. Se centrifugó a 3500 rpm por 5 minutos hasta que clarificó y se utilizó el sobrenadante para la prueba de ELISA.

**d) Determinación de OTA por método de ELISA:**

- Para medir las concentraciones de OTA en suero se siguieron las instrucciones del fabricante utilizando el Kit comercial: Quantitative Assay for OTA in Human and Animal Serum and Milk Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 96-wellkit (Helica Biosystems, Inc., Santa Ana, CA). Los viales cuentan con diluciones en serie conocidas de OTA en 70 % de metanol que sirve como estándar de calibración. Todas las muestras se analizaron por duplicado. Las densidades ópticas (DO) de las soluciones de ensayo, se midieron utilizando un espectrofotómetro con un filtro de 450 nm. Se construyó una curva de calibración de DO frente a la concentración de OTA a partir de los estándares utilizando GraphPad Prism versión 4 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA). La ecuación estándar se estableció con la estimación de la curva. Luego se calcularon las concentraciones en suero (ng/mL) por interpolación de la ecuación usando la medición de las densidades ópticas. Se calculó la media de las muestras. En el **Anexo 13.5** se encuentra descrito el fundamento de la prueba

**e) Determinación de la relación entre presencia de OTA en suero e ingesta alimenticia.**

**Ecuación de Klaassen**

La ecuación de Klaassen permite estimar de manera farmacocinética a partir de los siguientes parámetros, la relación entre el consumo de OTA por alimentos ( $k_o$ , ng/ kg/día) y la cantidad de OTA en suero ( $C_p$ , ng /mL) además del aclaramiento renal ( $Cl_{renal}$ , mL/kg/día) y la biodisponibilidad ( $A$  Fracción de la toxina absorbida en el intestino) <sup>97</sup>

$$k_o = Cl_{renal} \times \frac{C_p}{A}$$

**Aclaramiento renal**

Se estimó el aclaramiento renal de la OTA para mujeres en 0.99 <sup>138</sup>, sin embargo, dada las diferencias fisiológicas durante el embarazo, específicamente en cuanto a la función renal que aumenta en un 50%, se modificará el valor aumentando este porcentaje de 0.99 a 1.49 (0.99 x 150) y esta modificación ya ha sido propuesta y utilizada en otro estudio en mujeres embarazadas, quedando la ecuación de la siguiente manera.<sup>78</sup>

$$k_o = 1.49 \times \frac{C_p}{0.7} = 2.13 \times C_p$$

**Biodisponibilidad**

Debido a sus propiedades fisicoquímicas, la OTA se absorbe fácilmente del tracto gastrointestinal, siendo su biodisponibilidad superior al 50% en todas las especies de mamíferos ensayadas, pudiendo llegar hasta un 90% en el humano y habiéndose comprobado *in vitro* una gran capacidad de unión de la toxina a proteínas plasmáticas humanas; únicamente se puede deducir que la vida media plasmática de la OTA será muy elevada, lo cual supone evidentemente un riesgo mayor para la salud. <sup>103</sup>

**f) Análisis de resultados:**

- Los datos arrojados por el Cuestionario de Antecedentes Médicos se registraron en una base de datos del software Microsoft Excel ® asignándole a cada participante un número de registro para su posterior análisis estadístico.
- Los datos arrojados por el CFCA se registraron en una base de datos del programa de cómputo del Instituto Nacional de Salud Pública SNUT ® para su posterior análisis

estadístico.

- El peso, la talla y el IMC se registraron en el Cuestionario de Antecedentes Médicos para posteriormente vaciarse a una hoja de cálculo.
- Los datos arrojados de las determinaciones de ocratoxina A en suero por método de ELISA se concentraron en una base de datos de software Microsoft Excel ® para su posterior análisis estadístico.
- Se calculó una Ingesta Diaria Promedio (IDP) de Ocratoxina A en nanogramos de OTA por kilogramo de peso corporal al día (ng/kgpc/día). Para esto se requirió obtener un peso promedio de la población del estudio.
- Se realizaron las correlaciones estadísticas entre los datos obtenidos del CFCA , CAM y las determinaciones de OTA en suero , en la **Tabla 18** se muestra a manera de resumen las variables estudiadas de acuerdo a las pruebas estadísticas.
- Se realizaron las comparaciones de las concentraciones de OTA en suero y las IDT obtenidas del estudio con los límites internacionales establecidos.

**Tabla 18. Pruebas estadísticas utilizadas de acuerdo a cada variable.**

VARIABLE	PRUEBA
Trimestre de embarazo	ANOVA
Consumo de Tortilla	Kruskall -Wallis
IMC pregestacional	Kruskall -Wallis
Edad	ANOVA de un Factor
Lugar de obtención de víveres	Kruskall -Wallis
Embarazo vs No embarazo	U de Mann Whitney

## **8. ASPECTOS ÉTICOS**

El presente estudio es de mínimo riesgo. No pone en riesgo la integridad de las mujeres que participan en él. Se apegó a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012 que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos y en “Los principios éticos para la investigación médica en seres humanos” de la Declaración de Helsinki.

El proyecto de investigación fue aprobado por: 1) Comité de Bioética del Hospital de la Mujer de Morelia. 2) Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas Dr. Ignancio Chávez. Cada una de las participantes firmaron una Carta de Consentimiento Informado (**ANEXO 13.2**) previo a la toma de muestra sanguínea y a la aplicación de los instrumentos de medición y se le entregó una copia a la participante

## **9. RESULTADOS**

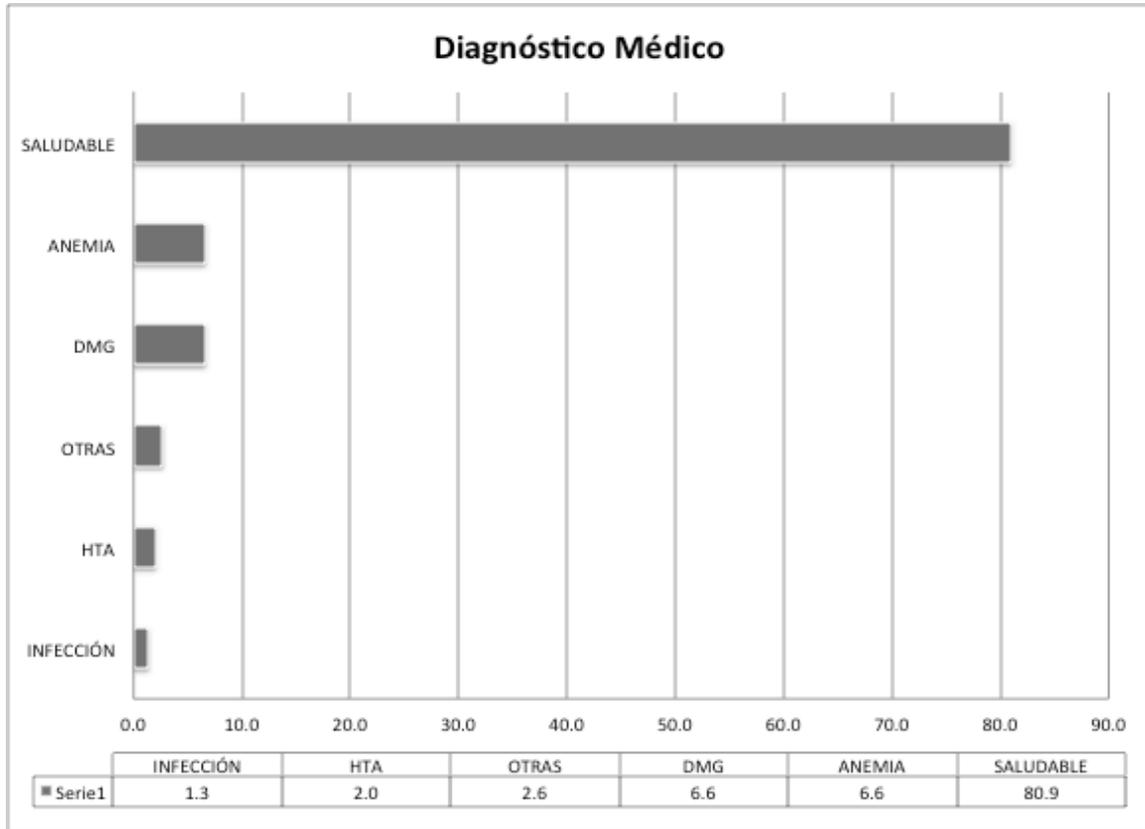
Todos los resultados fueron analizados y procesados en el Laboratorio de Desarrollo Analítico perteneciente a la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”.

### **9.1 CUESTIONARIO DE ANTECEDENTES MÉDICOS**

Se analizaron los datos obtenidos por medio del paquete estadístico SSPS encontrando los que los resultados mostrados en la **Tabla 19**, en relación a las características sociodemográficas tienen una distribución normal:

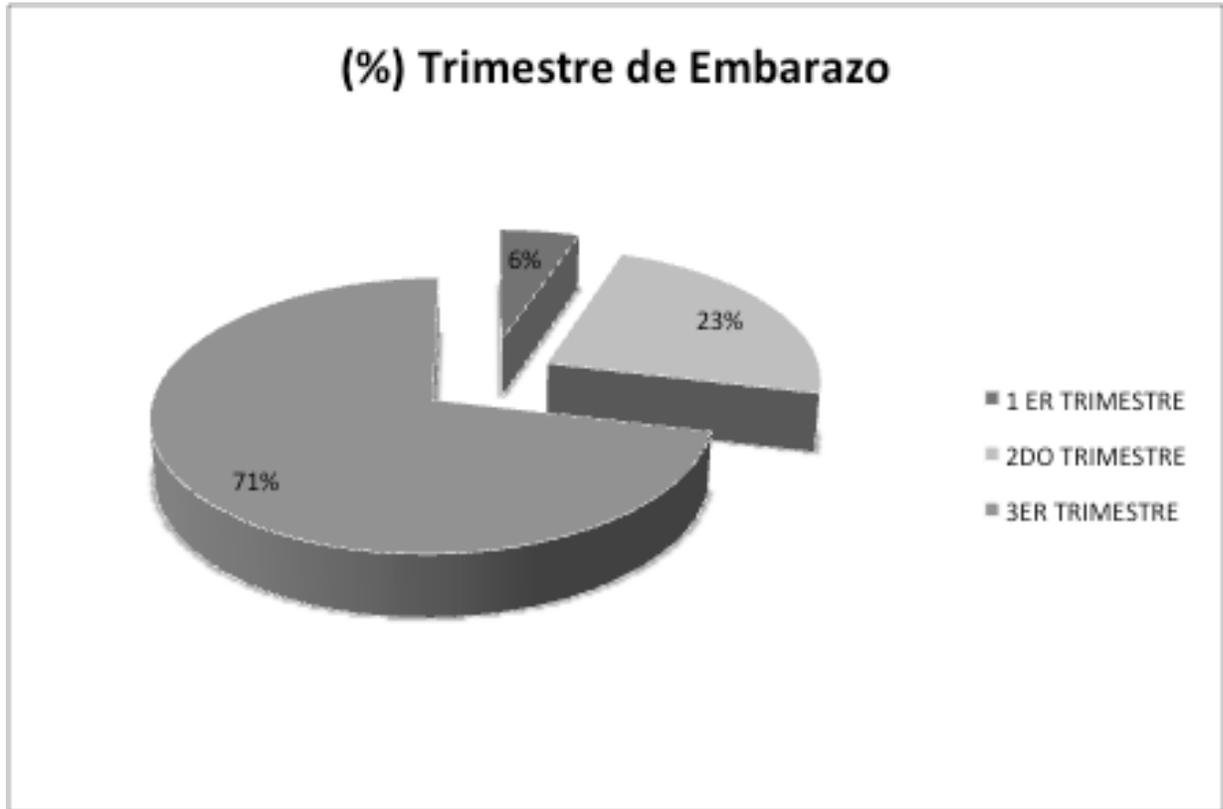
<b>Tabla 19. Media e Intervalo de Resultados de acuerdo al Cuestionario de Antecedentes Médicos.</b>		
<b>Características Demográficas</b>	<b>Media</b>	<b>Intervalo</b>
Edad /años	24	13 - 42
Talla/ m	1.58	1.44 - 1.71
Peso Pregestacional / kg	61.68	39 - 121
IMC Pregestacional (kg/m <sup>2</sup> )	24.62	16.6 - 43.9

La **Gráfica 1** muestra los diferentes patologías expresadas por las pacientes. El 80.9% de la pacientes comentaron no tener ninguna patología, el restante presentó diferentes afecciones de las cuales un 6.6% presentó anemia, otro 6.6% presentó diabetes mellitus gestacional, un 2.6% presentó otras patologías no comunes como epilepsia y nefropatía, por otro lado también hubo presencia de hipertensión arterial en un 2.2% y solo el 1.3% presentó infección de vías urinarias.



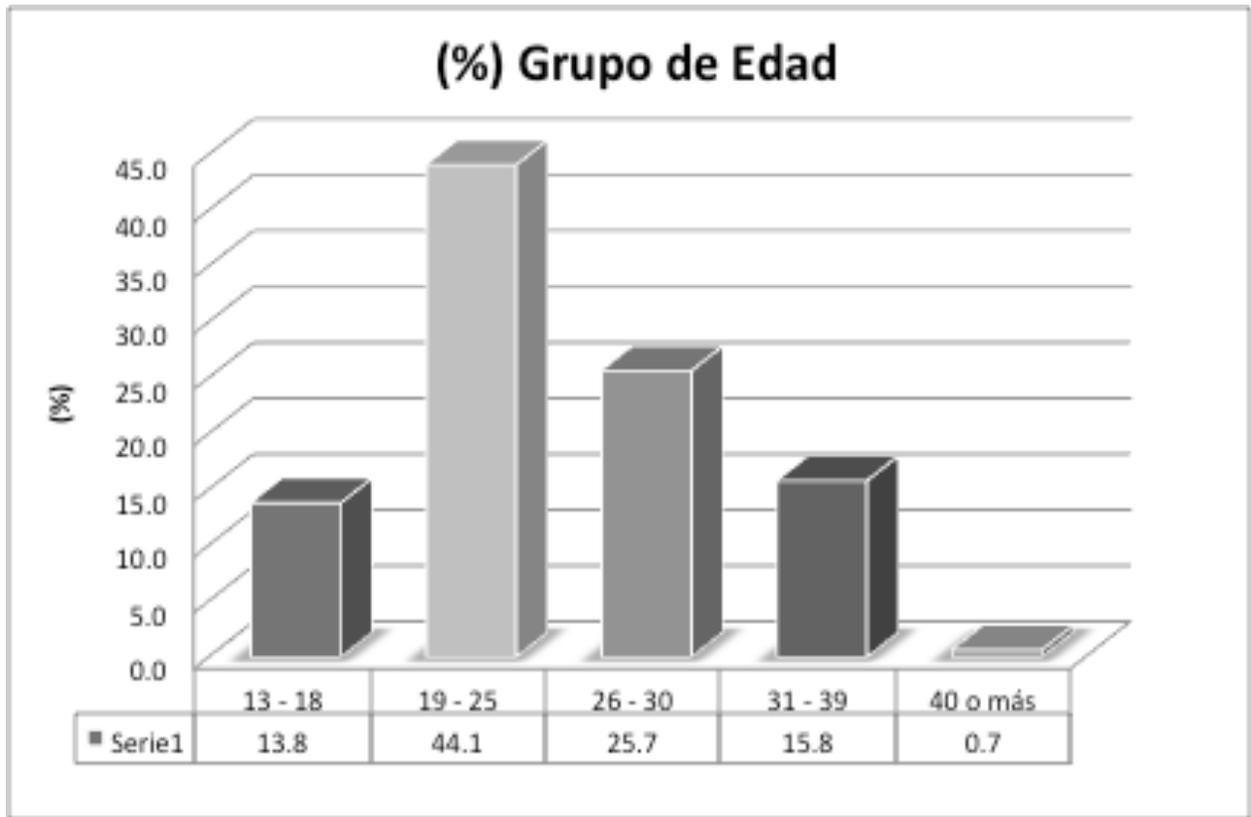
**Gráfica 1.** Porcentaje (%) de población de acuerdo al diagnóstico Médico.

La **Gráfica 2** muestra la distribución de porcentajes de los 3 diferentes trimestres de embarazo donde se puede apreciar, que el 71% de las pacientes se encontraban en el tercer trimestre de embarazo, el 23% en el segundo y solo un 6% en el primer trimestre de embarazo.



Gráfica 2. Porcentaje (%) de población de acuerdo al Trimestre de Embarazo.

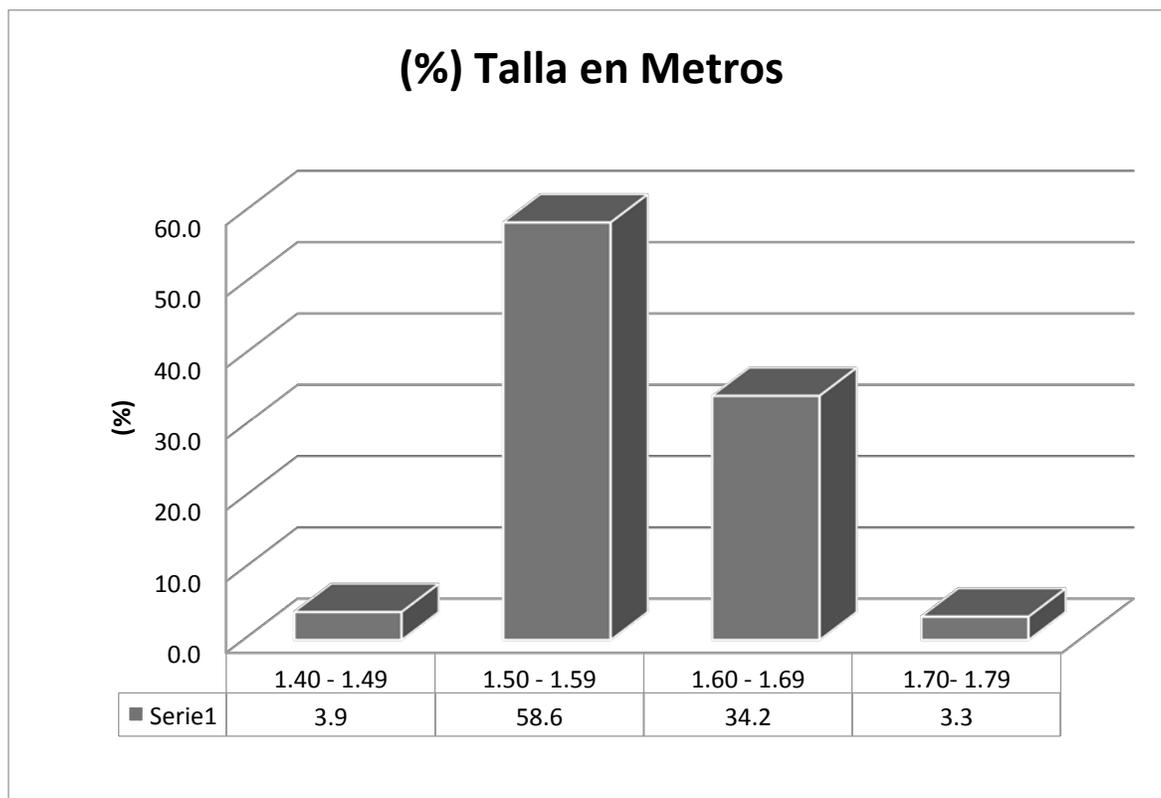
En la **Gráfica 3** se puede observar la distribución de las pacientes en los diferentes grupos etareos en porcentaje, el 44.1% de la población se encuentra en el intervalo de 19 a 25 años seguido del intervalo 26 a 30 años donde se encuentra el 25.7% , el 15.8% de la población corresponde al intervalo de 31 a 39 años y el 13.8% se encuentran entre los 13 y 18 años de edad.



**Gráfica 3.** Porcentaje (%) de población de acuerdo a la edad.

La **Gráfica 4** representa las tallas en metros/centímetro; la mayoría de la población presentó una estatura de 1.50 a 1.59 metros (50.65%), lo cual corresponde a la media nacional mexicana reportada en la última encuesta Intercensal por el instituto nacional de estadística y geografía (INEGI), en el 2015 para mujeres, es de 1.58 metros de estatura en este estudio solo el 8.5% presentó dicha talla.

El porcentaje restante corresponde al intervalo de 1.60 a 1.69 metros que ocupa un 34.2% y el 3.9 % de la población presenta una estatura menor a la media nacional, encontrándose en un intervalo de 1.40 a 1.49 metros. Sólo el 3.3% de la población presentó altura mayor a la media nacional, encontrándose en un intervalo de 1.70 a 1.79 metros de estatura.

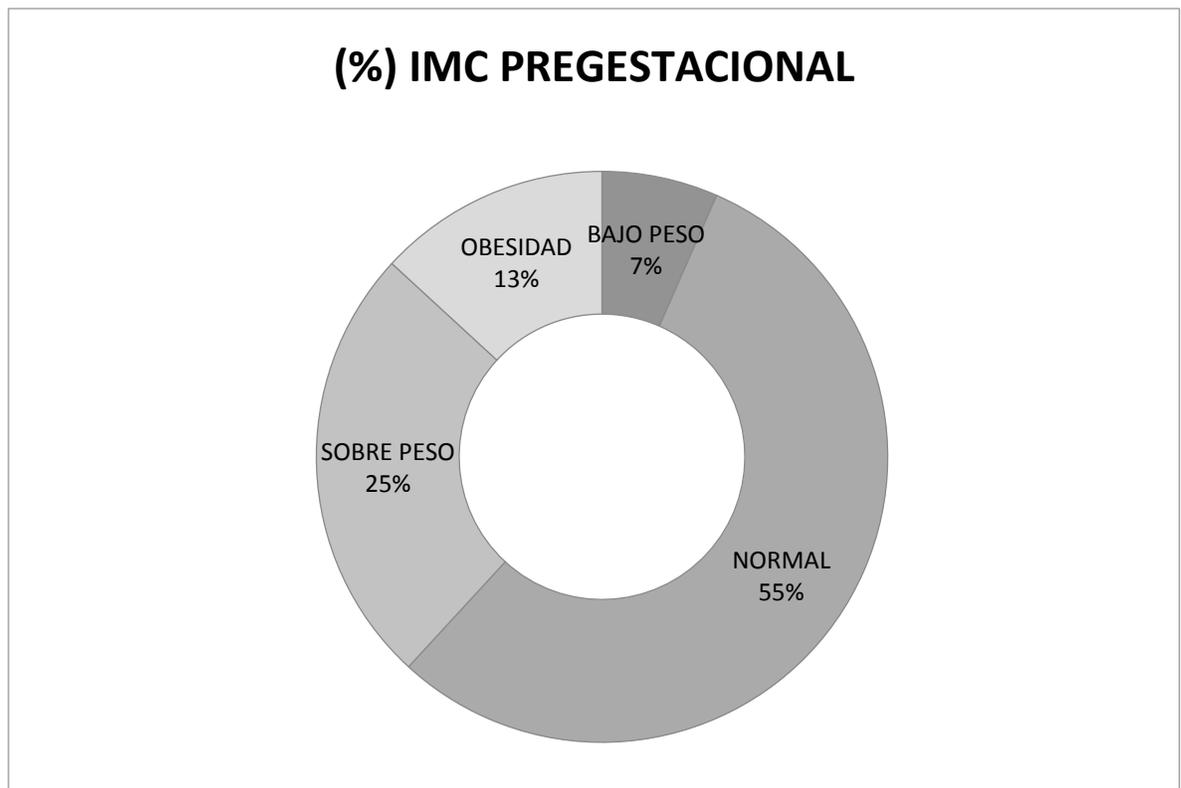


**Gráfica 4.** Porcentaje (%) de población de acuerdo a la talla en metros.

En la **Gráfica 5**, se aprecia el índice de masa corporal (IMC) previo al embarazo, con el fin de estimar el estado nutricional previo de la embarazada así como monitorizar el aumento o disminución de peso durante el embarazo. El mayor porcentaje de nuestra población presentó un IMC pregestacional de 18.5 a 24.5 kg/m<sup>2</sup> correspondiente al 55% de la población muestreada lo que significa que tenían un estado nutricional adecuado.

El 25% presentó un IMC pregestacional de 25 a 29.9 kg/m<sup>2</sup> siendo un estado nutricional de sobrepeso, el 13% presentó un estado nutricional con diagnóstico de obesidad correspondiente a un IMC pregestacional de 30 kg/m<sup>2</sup>, por último solo un 7% presentó bajo peso correspondiente a un IMC pregestacional menor a 18.5 kg/m<sup>2</sup>.

Es importante mencionar que aún cuando notamos que el mayor porcentaje de nuestra población se encontraba en un estado adecuado de peso en relación a la estatura, la ganancia ponderal durante el periodo de gestación no tuvo un comportamiento adecuado en un 45%. De ese porcentaje, el 62% presentó un aumento excesivo de peso y el 38% presentó un pobre aumento de peso durante el periodo de gestación.

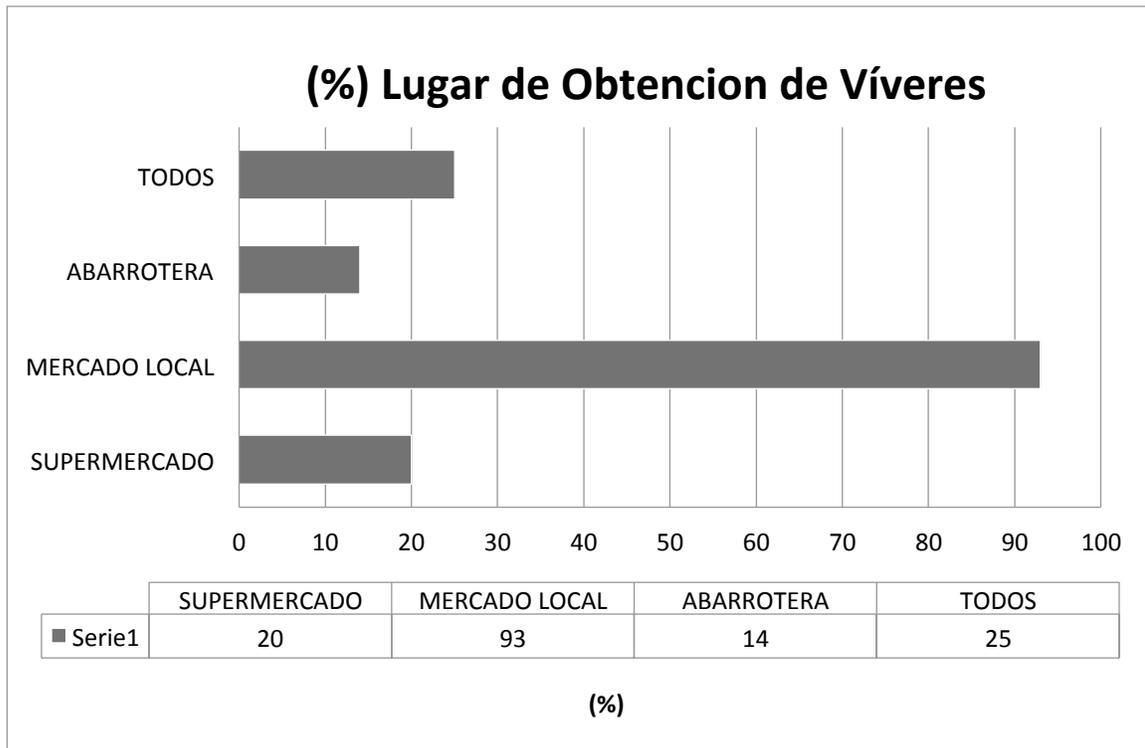


Gráfica 5. Porcentaje (%) de población de acuerdo al IMC Pregestacional.

La **Gráfica 6** muestra los lugares de abastecimiento de víveres de nuestra población, esto con el fin de analizar si dependiendo del lugar de obtención de los productos alimenticios, hay menor o mayor contaminación de OTA, que como ya se comentó en apartados anteriores, depende mucho del transporte, almacenamiento y calidad del alimento.

Los resultados muestran que el 61.1% correspondiente a 93 mujeres embarazadas, compran sus víveres en el mercado local, el 13.1% refiere comprar en supermercado, el

9.2% comenta comprar sus víveres en abarroteras o tiendas de la esquina; por último, el 16.4% de las mujeres embarazadas comenta comprar en varios lugares a la vez.



**Gráfica 6.** Porcentaje (%) de población de acuerdo al lugar de obtención de víveres.

## 9.2 CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS.

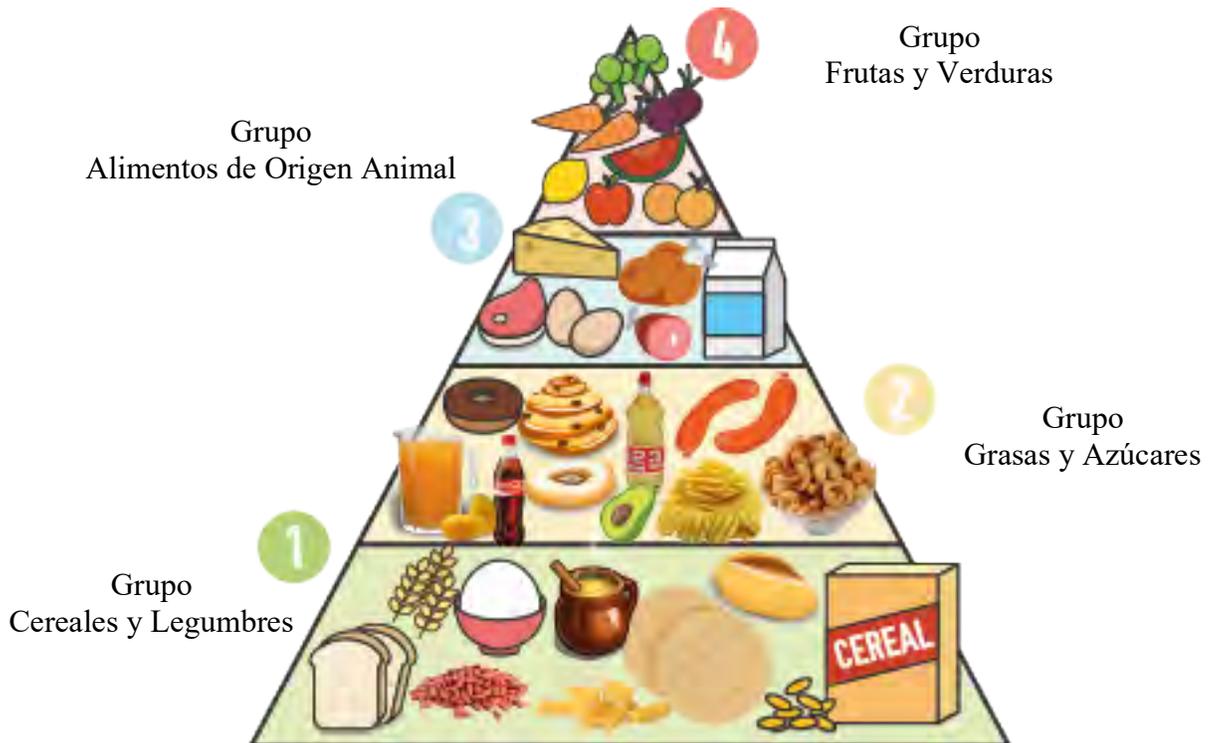
Se procesaron y analizaron 152 cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos por medio del Software SNUT “Sistemas de Nutrimientos” ya explicado en el apartado 6.1.9. Los resultados se muestran en la tabla 20 y en la **Figura 7**.

### 9.2.1 Distribución y Calidad Dietética de Macronutrientes

En la **Tabla 20** se muestra a manera de resumen, los intervalos obtenidos y las medias reportadas para cada uno de los macronutrientes; además del consumo calórico, también se muestra el porcentaje de consumo de cada uno de los macronutrientes de acuerdo al 100% de la ingesta calórica.

Tabla 20. Media, Intervalo y Porcentaje de Equilibrio Dietosintético			
	Media	Intervalo	(%)
Calorías	2335 Kcal/día	906 - 6945.8 Kcal/día	N/A
Hidratos de Carbono	286.5 g/día	117.8 - 611.5 g/día	49.9
Proteínas	79.3 g/día	29.37 - 256.2 g/día	13.4
Lípidos	100 g/día	17.5 - 527 g/día	36.7

En la **Figura 7** Se muestra la piramide alimenticia elaborada de acuerdo al comportamiento dietético de la población estudiada. La base de la piramide corresponde al grupo 1 (Cereales y Legumbres) que es el grupo de mayor consumo por la población estudiada; el segundo grupo de consumo es el conformado por grasas y azúcares; el tercer grupo de consumo lo representan los alimentos de origen animal y por último el grupo de menor consumo es el grupo 4 correspondiente a las frutas y verduras.



**Figura 7.** Piramide Alimenticia de Mujeres Embarazadas del Hospital de la Mujer Morelia.

## INGESTA DE MACRONUTRIENTES

### **a) HIDRATOS DE CARBONO**

La media calórica se encontró en 2335 kcal totales por día, de las cuales el mayor porcentaje lo ocupan los hidratos de carbono en un 49.9% que puede considerarse adecuado ya que se recomienda un porcentaje de 50 a 60% del total de calorías por día, para satisfacer la necesidad de glucosa del cerebro del feto se recomienda una ingesta mínima de 175 g de HC.<sup>139</sup> La población estudiada reporta un gran consumo de HC simples, bollería, refrescos y aguas de fruta, también se notó que el consumo de frutas no es tan alto en comparación a las demás fuentes de hidratos de carbono.

La mayor cantidad de hidratos de carbono se consume a partir del grupo de cereales siendo la tortilla el de mayor consumo por excelencia con una media de consumo de 8 piezas y con un intervalo de 2 a 32 piezas por día. También hay gran consumo de arroz y pastas, seguido del grupo de Azúcares (Azúcar de mesa, Bollería, refrescos, Atole.) En menor proporción se da el consumo de frutas y verduras, donde se notó un pobre consumo de vegetales de hoja oscura como espinacas, berros, acelgas etc, que contienen grandes cantidades de antioxidantes.<sup>140</sup>

### **b) PROTEÍNAS**

El aporte proteico medio encontrado en este trabajo fue 79.3g/día correspondientes a 13.4% de las calorías totales, lo que constituye un aporte proteico medio bajo, menor a la recomendación de 15 a 20%,

La mayor cantidad de proteínas consumida por parte de las encuestadas proviene de alimentos de origen animal (pollo, carne de res, huevo, lácteos) y frijol. Se notó una baja ingesta del grupo de nueces (cacahuates, nuez de la india, avellanas) y también de pescados como atún, sardinas y mariscos.

### **c) LÍPIDOS**

El aporte de grasas medio se encontró en una cantidad de 100 g/día correspondiente a 36.7%, siendo este un aporte alto de grasa dentro de la dieta, sobrepasando el porcentaje de 25 a 30% de las cuales al menos un 10% de las calorías totales de grasas debe provenir de ácidos grasos esenciales (omega 3) como EPA (ácido eicosapentanoico) y DHA<sup>141</sup>.

Tomando en cuenta la recomendación en relación al consumo de ácidos grasos esenciales, se observó que tan solo el 33% de la población cumplía con los requerimientos, el resto de la población presentó una media de 8.5% del total de calorías provenientes de grasas, siendo esto importante, ya que al parecer, el funcionamiento óptimo del sistema nervioso central depende de la disponibilidad de cantidades adecuadas de DHA durante fases críticas del crecimiento y desarrollo, especialmente cuando los tejidos del sistema nervioso central se están formando. Aunado a lo anterior, el consumo adecuado de EPA y DHA durante el embarazo prolonga la gestación en alrededor 4 días y disminuye el riesgo de parto prematuro<sup>142</sup>.

La mayor cantidad de grasa se consume a partir aceites para cocinar como el aceite de maíz, girasol y soya, seguido de alimentos ricos en grasas saturadas como chorizo, chicharrón, leche entera, quesos, crema, además de un gran consumo de alimentos denominados “Antojitos” por ejemplo tamales o frituras, que se caracterizan por tener gran cantidad de grasa. Por otra parte hay una baja ingesta de alimentos ricos en ácidos grasos esenciales tales como nueces, aceite de oliva, salmón etc, y debido al costo elevado que hace disminuir las probabilidad de selección por parte de las mujeres embarazadas; además de no considerarse productos que sean parte de la alimentación mexicana. Exceptuando el caso del aguacate que además de ser fuente de ácidos grasos esenciales, es considerado parte de la dieta habitual mexicana sin embargo aún cuando en el estado de Michoacán hay gran producción de éste, su costo no siempre es muy accesible, por lo cual este estudio observo una ingesta baja del mismo.

## INGESTA DE MICRONUTRIENTES

### Vitamina C, E.

Dada la importancia de los antioxidantes en la prevención o modulación de los efectos dañinos de las micotoxinas, se procedió a verificar la ingesta de dos micronutrientes con potente efecto antioxidante; Ácido Ascórbico (vitamina C) y tocoferoles totales (vitamina E), pudiendo estos cumplir un rol importante ante los posibles daños ocasionados por la presencia de OTA.

En la **Tabla 21** se muestran los datos obtenidos de acuerdo al consumo de vitamina C y E.

<b>Tabla 21. Promedio de consumo e Ingesta Diaria Recomendada de Ácido ascórbico y Tocoferol total.</b>			
<b>Antioxidante</b>	<b>IDR*</b>	<b>Si cumple</b>	<b>Promedio de consumo</b>
Ácido Ascórbico	70mg	90.7 %	177 mg/día
Tocoferol	20 mg	8.4 %	10.52 mg/día

\* Ingesta Diaria Recomenada

Se observa que respecto al consumo de vitamina C, el 90.7% de la población, tiene un consumo de 177 mg/día, siendo incluso mayor a la recomendación 70 mg. Hasta la fecha no se ha encontrado efectos secundarios por el consumo de vitamina C en dosis altas, durante el embarazo, solo se ha descrito la presencia de transtornos gastrointestinales principalmente diarrea pero en un consumo mayor a 2.000 mg/día.<sup>145</sup> Al ser una vitamina hidrosoluble las fuentes principales de esta son las frutas, verduras y los cereales adicionados. Por otra parte, en cuanto a las recomendaciones de ingesta de vitamina E durante el embarazo están aumentadas un 25% con respecto a las de las mujeres no gestantes, debido su papel estimulante del crecimiento fetal. Como parte de la dieta mexicana se puede encontrar fundamentalmente en aceites vegetales, cacahuates, algunos cereales adicionados, aguacate y vegetales de hoja verde oscura. Los resultados obtenidos muestran que solo un 8.4% de la población tiene un consumo adecuado de esta vitamina. El promedio de consumo de vitamina E fue de 10.52 mg/día, un consumo bajo, en

comparación a la ingesta diaria recomendada que es de 20 mg/día, para mujeres embarazadas

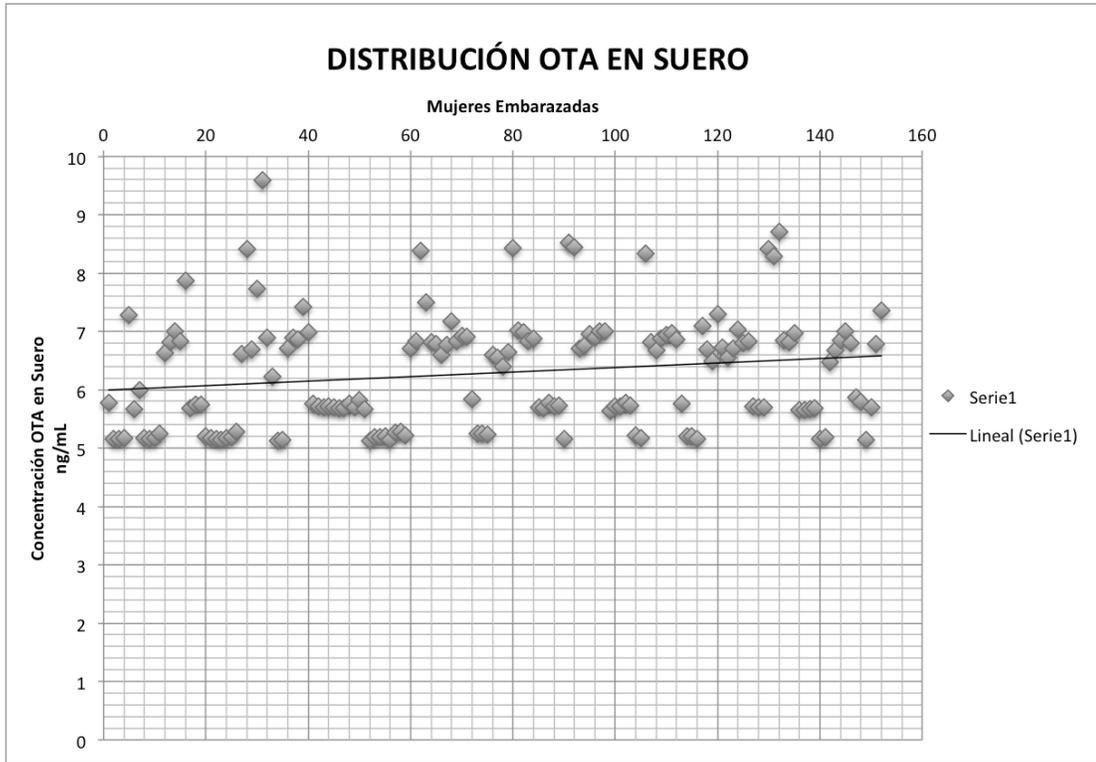
### 9.3 DETERMINACIÓN DE OTA EN SUERO

#### 9.3.1 Resultados a partir de la determinación de OTA Por ELISA

Una vez obtenidos los resultados a partir del método ELISA explicado en el apartado 6.1.10 Definición del plan de procesamiento y presentación de la información inciso c, se obtuvo la gráfica 7 que muestra las concentraciones de OTA en suero de las muestras de las 152 mujeres embarazadas.

En la **Gráfica 7** se colocaron las concentraciones plasmáticas de OTA en ng/mL para cada una de las muestras tomadas. En el eje horizontal, se observa el número de mujeres embarazadas, en el eje vertical se observa la concentración de OTA en suero presentada, considerando el total de la muestra. Se encontró que 100% (n=152) está expuesta a OTA a partir de los resultados obtenidos en suero, las muestras indican una media de OTA en suero para mujeres embarazadas de  $6.2 \text{ ng / mL}$  presentando un intervalo de  $5.12 \text{ ng/mL}$  a  $9.5 \text{ ng/mL}$ .

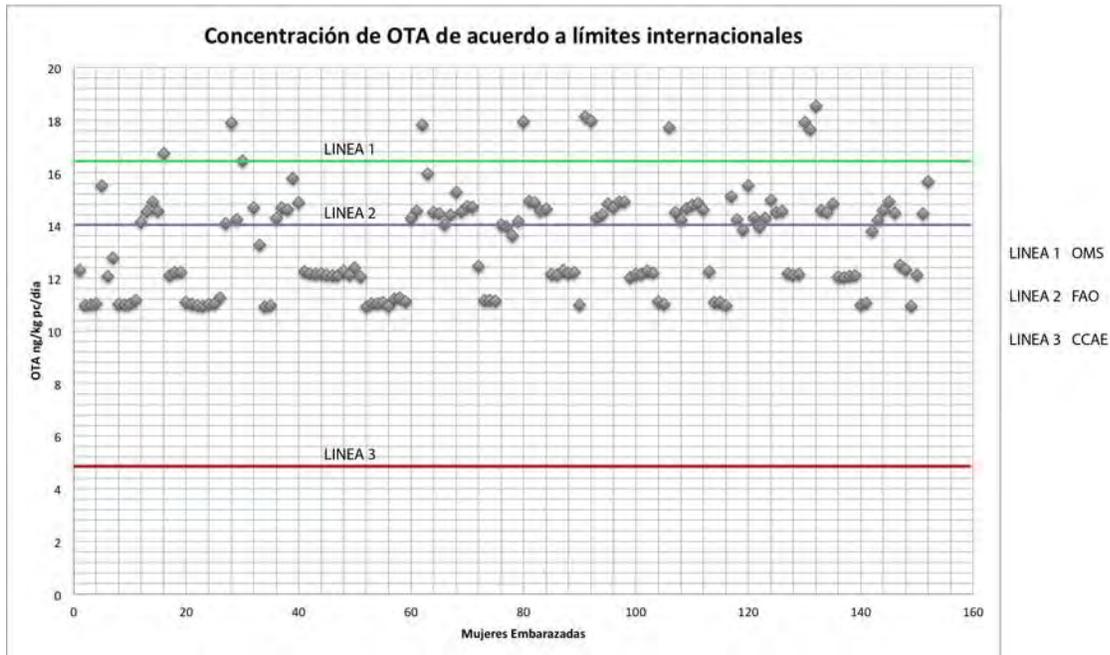
Las concentraciones de OTA encontradas muestran que el 49% (n=74) de los datos obtenidos se encuentra en un intervalo de 5 a 5.8 ng/mL, el 27% (n=42) de los datos obtenidos se encuentra en un intervalo de 5.9 a 6.8 ng/mL y el porcentaje restante 24% (n=36) corresponde a concentraciones mayores a 6.9 ng/mL. El 100% de las concentraciones se encuentran por arriba del límite de detección del kit ELISA que es 0.0213 ng/mL. La línea o factor de cambio es muy atenuado dado que toda la variable de concentración de OTA de la muestra es muy homogénea.



**Gráfica 7.** Total de la población muestreada en relación a la concentración de OTA en suero.

Por otro lado; en la **Gráfica 8.** Se puede apreciar las concentraciones de OTA encontradas de acuerdo a los límites establecidos por los diferentes organismos internacionales en ng/kg pc/día. La línea 1 representa al límite de 17 ng/kg pc/día propuesto por la OMS, en el cual solo un 6.6 % de las mujeres embarazadas superan el límite de IDT.

Por otra parte la línea 2 representa al límite propuesto por la FAO de 14 ng/kg pc/día sería superado por el 46.72% de las mujeres embarazadas; por último la línea 3 se referente al CCAE, el 100% de la población, se encuentra por arriba de la recomendación de 5 ng/kg pc/día.



Gráfica 8. OTA ng / kg pc /día de acuerdo a los límites internacionales

### 9.3.2 Determinación de la relación entre presencia de OTA en suero e ingesta alimenticia por ecuación de Klaassen

La ecuación Klassen, permite estimar usando parámetros farmacocinéticos, el consumo de OTA en alimentos en relación las siguientes Variables:

Consumo de OTA por alimentos ( $k_0$  ng/ kg/día)

1. Cantidad de OTA en suero ( $C_p$ , ng/mL) 6.2
2. Aclaramiento renal\* ( $Cl_{renal}$ , mL/kg/día) 1.49
3. Biodisponibilidad 70% ( $A$  Fracción de la toxina absorbida en el intestino) <sup>97</sup>

$$k_o = Cl_{renal} \times \frac{C_p}{A}$$

Sustituyendo

$$k_o = 1.49 \times \frac{6.2}{0.7}$$

Consumo de OTA por día en la población estudiada = **13.19 ng/kg/día**

**\*Aclaramiento renal**

Se estimó el aclaramiento renal de la OTA para mujeres en 0.99<sup>138</sup>, sin embargo, dada las diferencias fisiológicas durante el embarazo, específicamente en cuanto a la función renal que aumenta en un 50%, se modificará el valor aumentando este porcentaje de 0.99 a 1.49 (0.99 x 150) y esta modificación fue propuesta y utilizada en otro estudio en mujeres embarazadas.<sup>78</sup>

**\* Biodisponibilidad**

Como ya se comentó anteriormente en el apartado 6.1.10, la biodisponibilidad para OTA es superior al 50% en todas las especies de mamíferos ensayadas, pudiendo llegar hasta un 90% en el humano. Razón por la cual se eligió una biodisponibilidad del 70% al ser un parámetro medio.

**8.3.3 Determinación de Ingesta Diaria Continua de OTA a partir de concentración de OTA en Maiz en Morelia Michoacán.**

La fórmula de IDC permite estimar, el consumo del metabolito a partir de su concentración en un alimento específico en este caso el maíz.

$$IDC = \frac{\sum C_i (L_i)}{1000} = \mu g / Kg / día$$

$$\frac{IDC}{PC} = \mu g / Kg / día$$

**Donde:**

IDC: Ingesta diaria Continua

Ci: Cantidad consumida del alimento i (g/persona/día) CFCA (Tortillas) 200 (g/persona/día) 8 piezas

Li: Concentración del contaminante en el alimento 3.415 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )<sup>76</sup>

PC: peso corporal (kg) 61.6 CAM

Sustituyendo:

$$IDC = \frac{\sum 200\text{g/día} (3.415\mu\text{g}/\text{kg})}{1000} = 0.683\mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$$

$$\frac{IDC}{PC} = \frac{683\mu\text{g}}{61.6 \text{ kg}} = 0.011 \mu\text{g}/\text{kg} \text{ pc/día}$$

*Convertir a nanogramos*  
 $1\mu\text{g} = 1000 \text{ ng} \therefore 0.011 \mu\text{g} (1000)$

Ingesta diaria continua de la población estudiada: **11 ng/kg/día**

### 9.3.4 Comparación entre niveles de concentración OTA en suero y diferentes variables.

a) TRIMESTRES

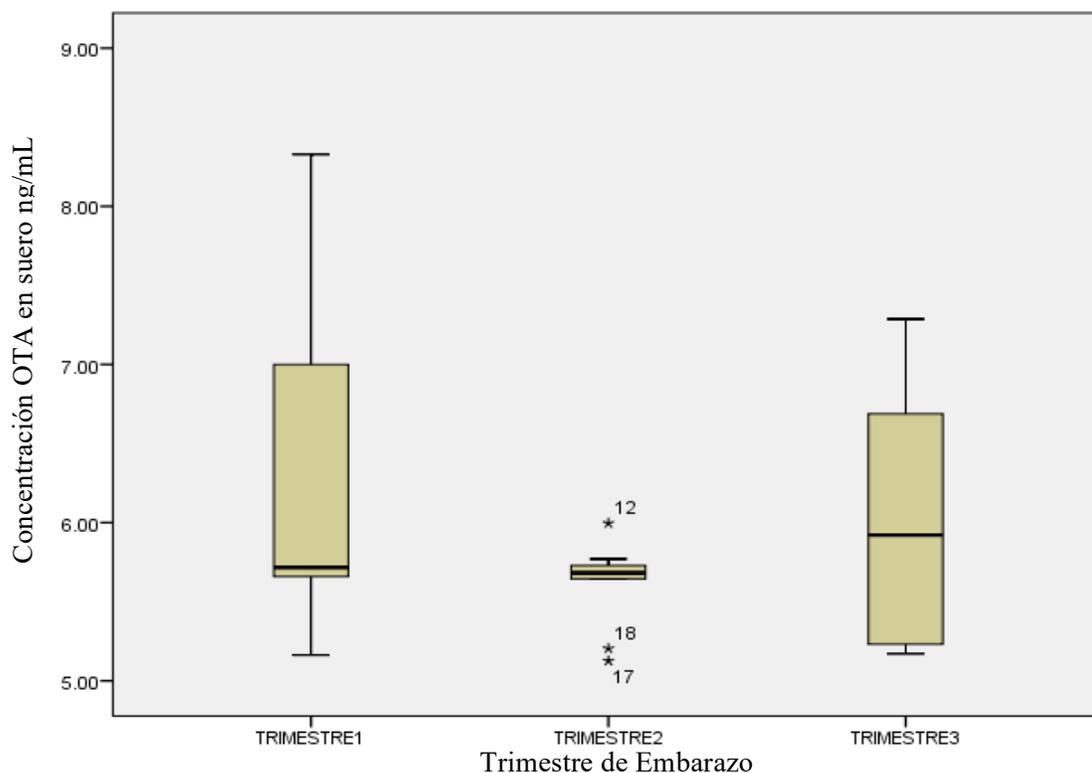
Se analizó la cantidad de Ocratoxina A obtenida de Acuerdo a los diferentes trimestres de embarazo, para verificar si existen diferencias significativas dependiendo el trimestre de embarazo y la concentración de OTA en suero esperando ver una mayor o menor concentración dependiendo del trimestre de embarazo.

Se formaron 3 grupos pareados de 9 integrantes cada uno, como se muestra en la **Tabla 22**, Se procedio a ejecutar una prueba normalidad, dada la muestra se eligió la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, arrojando un nivel de significancia  $p > 0.05$  por tanto tiene una distribución asimétrica.

TABLA 22. Pruebas de normalidad de acuerdo al trimestre de embarazo							
TRIMESTRE		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
OTA <sub>EN SUERO</sub>	TRIMESTRE1	0.263	9	0.073	0.882	9	0.165
	TRIMESTRE2	0.325	9	0.007	0.846	9	0.067
	TRIMESTRE3	0.302	9	0.010	0.803	10	0.016

a. Corrección de significación de Lilliefors

En la **Gráfica 9** se aprecia los diferentes trimestres de acuerdo a su diagrama de caja y bigote (Box-Plot), en el eje horizontal se muestran los 3 trimestres de embarazo, en el eje vertical se muestra la concentración de OTA en suero en ng/mL. La gráfica muestra que en el primer trimestre se observa un límite mínimo de 5.16 ng/ mL y un límite máximo de 8.33 ng/ mL, el 2do cuartil que representa el 50% de los datos, lo que indica una mediana de 5.7 ng/ mL. La caja referente al segundo trimestre presenta una acotación importante de bigotes siendo el límite mínimo 5.13 ng/ mL y máximo de 6 ng/ mL, por lo cual la caja se presenta menor amplitud intercuartílica, el 50% de los datos o 2do cuartil arroja mediana de 5.6 ng/ mL, también se presentan varios valores extremos que salen fuera del comportamiento general respecto a las otras cajas; por último, en el tercer trimestre se presenta un valor mínimo y máximo de 5.1 ng/ mL y 7.2 ng/ mL respectivamente, con una mediana de 5.9 ng/ mL; se observa que la distribución de datos corresponde a un comportamiento normal.



**Gráfica 9.** Representación Gráfica de pruebas de normalidad de acuerdo a los trimestres de embarazo usando Box-Plot.

Se procedió a realizar una prueba ANOVA de un factor para evaluar la hipótesis alterna, *existen diferencias significativas entre los diferentes trimestres de embarazo y la concentración de OTA en suero*; en la **Tabla 23** se muestra el resultado de la prueba, donde se obtuvo significancia de 0.221; por lo tanto se rechaza la hipótesis alterna. Sin embargo, se puede notar que la media cuadrática muestra una alta variación intergrupar, ya que la razón de la varianza excede al uno, lo que podría suponer que el trimestre esta caracterizando algún factor.

Tabla 23. Resultado prueba ANOVA de un factor de acuerdo al trimestre de embarazo						
OTA EN SUERO						
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Entre grupos	2.143	2	1.071	1.605	0.221	
Dentro de grupos	16.682	25	0.667			
Total	18.824	27				

b) DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL

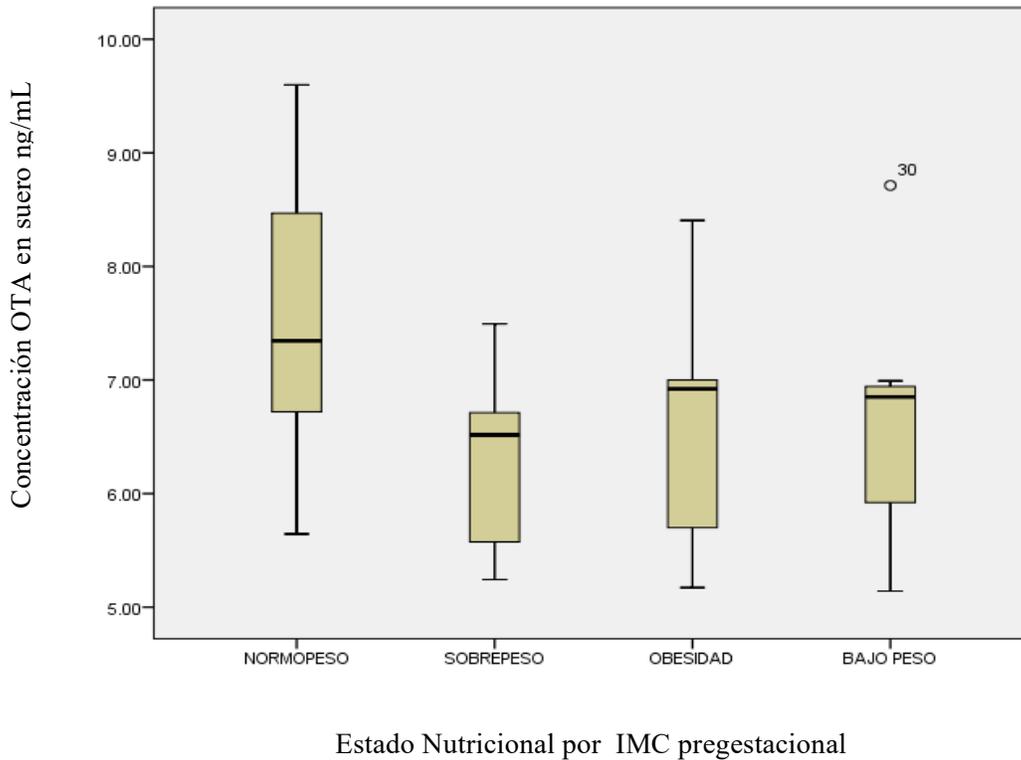
En la **Tabla 24** se muestra los 4 grupos pareados formados de 8 integrantes de acuerdo a diagnóstico nutricional en relación al peso pregestacional y su IMC pregestacional: Saludable, Sobrepeso, Obesidad y Bajo peso, con el fin de evaluar la hipótesis alterna *Existen diferencias significativas de acuerdo al estado nutricional en relación a la concentración de OTA en suero.*

Se realizaron pruebas de normalidad por Shapiro Wilk debido al número de comparaciones, el resultado de dicha prueba arrojó una significancia general de  $p > 0.05$ . Correspondiente a una distribución asimétrica.

IMC PREGESTACIONAL		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
OTA EN SUERO	NORMOPESO	0.176	8	.200*	0.970	8	0.898
	SOBREPESO	0.218	8	.200*	0.930	8	0.518
	OBESIDAD	0.225	8	.200*	0.910	8	0.357
	BAJO PESO	0.260	8	0.120	0.859	8	0.117

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.  
a. Corrección de significación de Lilliefors

En la **Gráfica 10**, se aprecian los diferentes diagnósticos de acuerdo al IMC pregestacional a partir de su diagrama de caja y bigote. En el eje horizontal se muestran los diagnósticos nutricionales, en el eje vertical se muestra la concentración de OTA en suero en ng/mL. En la gráfica se puede apreciar que para el caso de normopeso se presenta un límite mínimo y máximo de 6.8 ng/ mL y 8.7 ng/ mL respectivamente, el 50% de los datos presenta una mediana de 7.3 ng/ mL con un amplio intervalo intercuartílico; para el caso de sobrepeso se puede apreciar un límite mínimo menor a 6 ng/ mL y máximo 6.8 ng/ mL hay menor dispersión de datos en comparación al normopeso; para el caso de obesidad y bajo peso se observan medianas de 6.9 ng/ mL y 6.8 ng/ mL respectivamente. Sólo en el caso de obesidad se presentan valores atípicos, con menor amplitud de rango intercuartílico; concluyendo que los datos siguen una distribución normal.



**Gráfica 10.** Representación Gráfica de pruebas de normalidad de acuerdo al diagnóstico nutricional a partir del IMC pregestacional usando Box-Plot.

Se ejecutó la prueba de Anova de un factor, en la **Tabla 25** se muestra el resultado con una significancia de  $p = 0.136$ , por lo que se concluye que no hay diferencias significativas entre la concentración de OTA y el IMC pregestacional. Por lo tanto se rechaza la hipótesis alterna.

<b>Tabla 25. Resultado prueba ANOVA de un factor de acuerdo al IMC pregestacional</b>					
OTA EN SUERO					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6.864	3	2.288	2.006	0.136
Dentro de grupos	31.941	28	1.141		
Total	38.805	31			

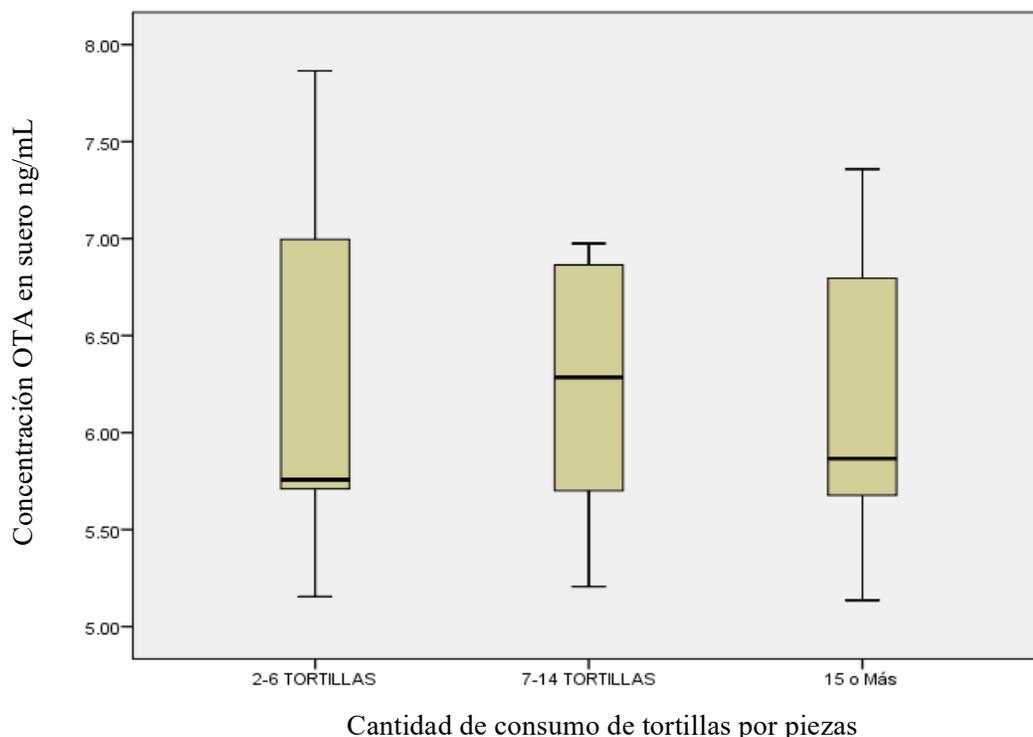
c) CONSUMO DE TORTILLAS

Se decidió investigar si existía una relación entre el consumo de tortilla y la concentración de OTA en suero, ya que la tortilla es uno de los alimentos dentro del grupo de cereales que más se consumen en la población de estudio y que es susceptible a ser contaminado por diversas micotoxinas entre ellas la OTA. Se formaron 3 grupos pareados: de 2-6 Tortillas, 7-14 Tortillas, 15 o más. Se realizaron pruebas de normalidad, debido al número de comparaciones se eligió la prueba de normalidad Shapiro-Wilk. En la **Tabla 26** se muestra el resultado, encontrando un significancia general de  $p < 0.05$  correspondiente a una distribución asimétrica.

CONSUMO DE TORTILLAS POR PIEZA(S)		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
CANTIDAD DE OTA EN SUERO	2-6 TORTILLAS	0.276	15	0.003	0.890	15	0.047
	7-14 TORTILLAS	0.295	15	0.005	0.792	12	0.008
	15 o Más	0.179	15	.200*	0.911	15	0.140

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.  
a. Corrección de significación de Lilliefors

En la **Gráfica 11**. Se aprecian los diferentes grupos de acuerdo al consumo de tortilla apartir de su diagrama de caja y bigote. En el eje horizontal se muestran los grupos por consumo de tortilla, en el eje vertical se muestra la concentración de OTA en suero en ng/mL; de acuerdo al grupo de consumo de 2 a 6 tortillas se aprecia un bigote mínimo y máximo de 5.7 ng/mL y 7 ng/mL, respectivamente; el segundo cuartil, correspondiente al 50% de los datos corresponde a una mediana de 5.8 ng/mL con un rango intercuartílico amplio. Para el consumo de 7 a 14 tortillas se encontro un bigote mínimo y máximo de 5.7 ng/mL y 6.8 ng/mL respectivamente con una mediana de 6.25 ng/mL, para el consumo de 15 tortillas o más se puede apreciar que el 50% de los valores considera una mediana de 5.8 ng/mL con límite mínimo de 5.7 ng/mL, al igual que los demás grupos, y un límite máximo de 6.7 ng/mL; no se presentan valores atípicos y extremos en ningún caso. Hay diferencias significativas entre las medianas de los diferentes grupos; se tiene entonces que según la pruebas de normalidad, los datos no siguen una distribución normal.



**Gráfica 11.** Representación Gráfica de pruebas de normalidad de acuerdo a consumo de tortilla por grupos usando Box-Plot.

Por tal razón, se aplicó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para muestras independientes para evaluar la hipótesis alterna: *Existen diferencias significativas entre la concentración de OTA en suero y el consumo de tortillas por grupo*. En la **Tabla 27** se muestra el resumen de la prueba de hipótesis. Se obtuvo una significancia de 0.576 lo que significa que la distribución de la concentración de OTA en suero es la misma entre las categorías de consumo de tortillas por piezas. Por lo tanto se rechaza la hipótesis alterna.

<b>Tabla.27 Resumen de prueba de hipótesis</b>			
<b>Hipótesis nula</b>	<b>Prueba</b>	<b>Significancia</b>	<b>Decisión</b>
La distribución de CANTIDAD DE OTA EN SUERO es la misma entre las categorías de CONSUMO DE TORTILLAS POR PIEZAS	Kruskal-Wallis para muestras independientes	.576	Retener la hipótesis nula

*Se muestran significaciones asintóticas.*

*El nivel de significación es de 0.05.*

d) LUGAR DE OBTENCIÓN DE VÍVERES

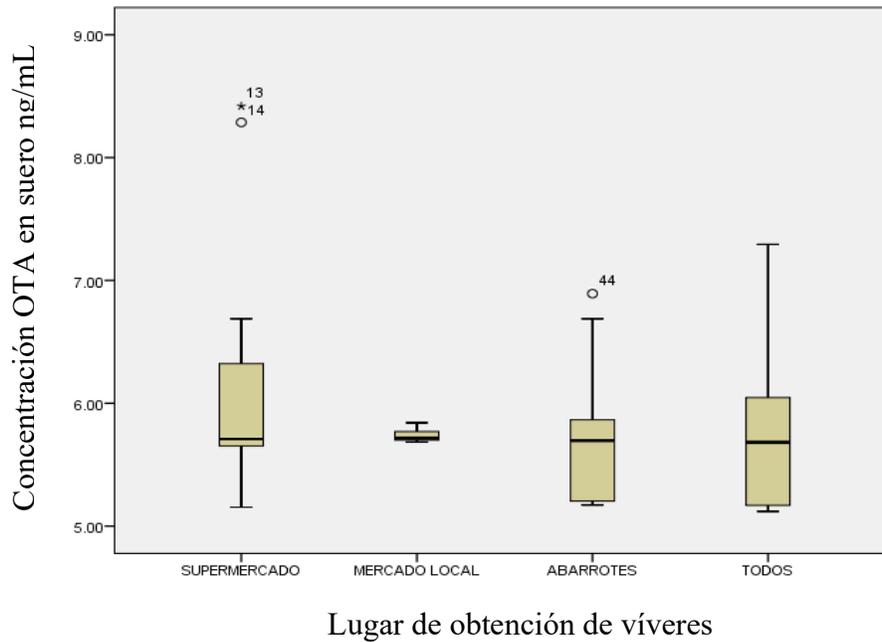
Para establecer si existe una relación entre la concentración de OTA en suero y el lugar donde se obtienen los víveres, se formaron 4 grupos pareados: supermercado, mercado local, abarrotes y todos los anteriores. Esto se realizó con el fin de determinar si dependiendo del lugar de compra hay menor o mayor cantidad de OTA en suero. Se realizaron pruebas de normalidad, debido al número de datos se eligió la prueba Shapiro-Wilk. La **Tabla 28** muestra el resultado, donde se encontró una  $p < 0.05$ , lo cual hace tener una relevancia con significancia estadística, correspondiente a una distribución asimétrica

<b>Tabla. 28 Pruebas de Normalidad de acuerdo al lugar de obtención de víveres</b>							
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
LUGAR DE COMPRA DE ALIMENTOS		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
OCRATOXINA	SUPERMERCADO	0.300	15	0.001	0.759	15	0.001
A EN SUERO	MERCADO LOCAL	0.262	15	0.007	0.878	15	0.044
	ABARROTES	0.207	15	0.105	0.823	14	0.010
	TODOS	0.261	15	0.007	0.805	15	0.004

a. Corrección de significación de Lilliefors

En la **Gráfica 12**, se aprecian los diferentes grupos de acuerdo al lugar de obtención de víveres, a partir de su diagrama de caja y bigote, en el eje horizontal se muestran los grupos de acuerdo al lugar de obtención de víveres, en el eje vertical se muestra la concentración de OTA en suero en ng/mL. De acuerdo al grupo de supermercado se evidencia la presencia de valores atípicos y valores extremos, la mediana o segundo cuartil se reporta de 5.7 ng/mL, el límite mínimo y máximo se encuentra en 5.7 ng/mL y 6.3 ng/mL respectivamente; en el caso del mercado local se aprecia un intervalo intercuartílico pequeño con muy poca dispersión de datos en comparación a la media, lo que supone que las mujeres que compran sus víveres en el mercado local consumen cantidades constantes de esta micotoxina, por otro lado la mediana de los datos es 5.7 ng/mL y su valor mínimo y máximo se aproximan, 5.6 ng/mL y 5.8 ng/mL respectivamente; para el grupo abarrotes existe la presencia de un valor atípico, la mediana se reporta en 5.7 ng/mL con un rango intercuartílico estrecho, un límite mínimo de 5.3 ng/mL y un máximo de 5.9 ng/mL, hay mayor dispersión de datos en comparación al grupo anterior. El último grupo, corresponde

a todos, tiene una mediana de 5.7 ng/mL; sin embargo, hay diferencias en los límites mínimo de 5.2 ng/mL y máximo de 6 ng/mL por lo cual hay un rango intercuartílico mucho más amplio en comparación a los demás grupos. Se concluye que de acuerdo al comportamiento de los datos hay una distribución asimétrica



**Gráfica 12.** Representación Gráfica de pruebas de normalidad de acuerdo al lugar de obtención de víveres usando Box-Plot.

Se ejecutó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para muestras independientes, con el fin de verificar la siguiente hipótesis alterna, *existen diferencias significativas entre la concentración de OTA en suero y el lugar de obtención de víveres*; en la **Tabla 29** se muestra el resumen de prueba de hipótesis. Se obtuvo una significancia .242 por lo tanto, se rechaza la hipótesis alterna.

<b>Tabla.29 Resumen de prueba de hipótesis</b>			
<b>Hipótesis nula</b>	<b>Prueba</b>	<b>Significancia</b>	<b>Decisión</b>
La distribución de CANTIDAD DE OTA EN SUERO es la misma entre las categorías de LUGAR DE COMPRA DE ALIMENTOS.	Kruskal-Wallis para muestras independientes	.242	Retener la hipótesis nula

Se muestran significaciones asintóticas.

El nivel de significación es de 0.05.

e) GRUPO DE EDAD

Con el objetivo de verificar si existen diferencias significativas entre el grupo etareo y la concentración de OTA se formaron 4 grupos etareos pareados: 13-19 años, 20-25 años, 26-30 años, 31 o más años. De acuerdo al número de datos se realizó la prueba de normalidad por Shapiro-Wilk, la **Tabla 30**, muestra los datos obtenidos en dicha prueba, encontrando una significancia de  $p > 0.05$ . Correspondiente a una distribución asimétrica

Tabla 30. Pruebas de normalidad de acuerdo al grupo de edad							
GRUPO DE EDAD		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
OTA EN SUERO	13 -19 AÑOS	0.242	15	0.018	0.890	15	0.067
	20 - 25 AÑOS	0.212	15	0.068	0.892	15	0.072
	26 - 30 AÑOS	0.167	15	.200 <sup>*</sup>	0.911	15	0.141
	31 O MAS AÑOS	0.264	15	0.006	0.819	15	0.007

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.  
a. Corrección de significación de Lilliefors

Se aplicó la prueba anova de un factor; para verificar la hipótesis alterna, *existen diferencias significativas entre la concentración de OTA en suero y el grupo de edad*. En la **Tabla 31**. Se muestra el resultado de dicha prueba, encontrando una significancia de 0.042 la cual muestra que la distribución de OTA en suero es diferente entre las categorías por grupo de edad.

Tabla 31. Resultado ANOVA de un factor de acuerdo al grupo de edad						
Concentracion OTA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Entre grupos	5.975	3	1.992	2.844	0.042	
Dentro de grupos	65.125	93	0.700			
Total	71.100	96				

Posteriormente, se realizó la prueba post hoc HSD Tukey para identificar diferencias entre subconjuntos, encontrando que hay diferencias intergrupales entre los subconjuntos, como se muestra en la **Tabla 32**. Se maneja un intervalo de confianza del 95%, la tabla muestra

diferencias entre el grupo de 20 a 25 años y 31 años o más, presentando una diferencia de medias de 0.9678 ng/mL, con una diferencia mínima o límite inferior de 0.0575 ng/mL y una máxima o límite superior de 1.8782 ng/mL. Por otro lado, también hay diferencia significativa entre grupo de 26 a 30 años y 31 años o más con una diferencia de medias de 0.9681 ng/mL con un diferencia mínima de 0.0578 y una máxima de 1.8785 ng/mL, por lo tanto si hay diferencia significativa, se retiene la hipótesis alterna.

**Tabla 32. Pruebas post hoc de acuerdo al grupo de edad**  
**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente:	OTA EN SUERO		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
(I) GRUPO DE EDAD						Límite inferior	Límite superior
<b>HSD Tukey</b>	13 -19 AÑOS	20 - 25 AÑOS	-0.22773	0.34379	0.911	-1.1380	0.6826
		26 - 30 AÑOS	-0.22801	0.34379	0.910	-1.1383	0.6823
		31 O MAS AÑOS	0.74014	0.34379	0.149	-0.1702	1.6505
	20 - 25 AÑOS	13 -19 AÑOS	0.22773	0.34379	0.911	-0.6826	1.1380
		26 - 30 AÑOS	-0.00028	0.34379	1.000	-0.9106	0.9100
		31 O MAS AÑOS	.96787*	0.34379	0.033	0.0576	1.8782
	26 - 30 AÑOS	13 -19 AÑOS	0.22801	0.34379	0.910	-0.6823	1.1383
		20 - 25 AÑOS	0.00028	0.34379	1.000	-0.9100	0.9106
		31 O MAS AÑOS	.96815*	0.34379	0.033	0.0578	1.8785
	31 O MAS AÑOS	13 -19 AÑOS	-0.74014	0.34379	0.149	-1.6505	0.1702
		20 - 25 AÑOS	-.96787*	0.34379	0.033	-1.8782	-0.0576
		26 - 30 AÑOS	-.96815*	0.34379	0.033	-1.8785	-0.0578

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05

En la **Tabla 33** se muestran 2 subconjuntos, el suconjunto 1, formado por el grupo etareo 31 o más años y 13 y 19 años cuyas medias no difieren significativamente ( $p=0.149$ ), el subconjunto 2, formado por el grupo 13 a 19, 20 a 25, 26 a 30 años, donde no hay diferencia entre sus medias, pero si existe diferencia en comparación al grupo etareo de 31 años o más del subconjunto 1, siendo el grupo con mayor diferencia significativa. Lo que supone que el grupo de 31 años o más tiene una media de consumo o almacenamiento menor en comparación a los demás grupos.

<b>Tabla 33. Subconjuntos homogéneos de acuerdo al grupo de edad</b>					
<b>OTA EN SUERO</b>					
GRUPO DE EDAD	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2		
<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>	31 O MAS AÑOS	15	5.7482		
	13 -19 AÑOS	15	6.4883	6.4883	
	20 - 25 AÑOS	15		6.7161	
	26 - 30 AÑOS	15		6.7164	
	Sig.		0.149	0.910	

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15.000.

f) EMBARAZADAS Y NO EMBARAZADAS

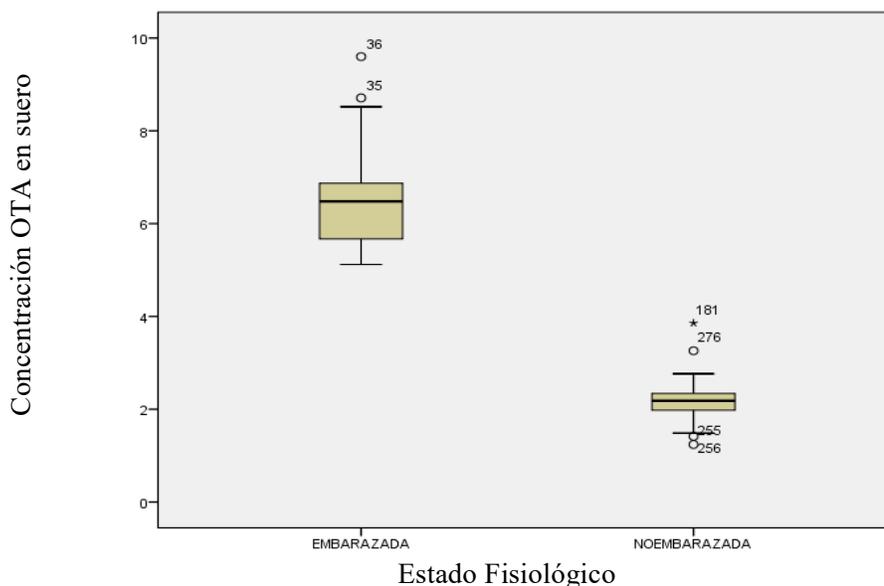
Con el fin de verificar si existen diferencias significativas en cuanto a la concentración de OTA en suero y el estado de embarazo o no embarazo, se realizó una comparación, tomando los datos obtenidos en un trabajo previo en el que se determinó la concentración sérica de OTA en 150 pacientes no embarazadas del Hospital de la Mujer de Morelia<sup>146</sup>. Se formaron 2 grupos pareados de 150 muestras cada grupo, el grupo 1 conformado por la concentración de OTA en suero en mujeres embarazadas del presente estudio y el grupo 2 conformado por la concentración de OTA en suero en mujeres no embarazadas a partir del estudio anterior. Se obtuvo total de 300 muestras.

Se ejecutaron pruebas de normalidad Kolmogorov – Smirnov debido al número de datos, En la **Tabla 34** se muestra los resultados obtenidos por dicha prueba, encontrando una significancia de  $p < 0.001$  concluyendo que si hay diferencias muy altamente significativas de acuerdo a la concentración de OTA y los grupos de Mujeres Embarazadas y No Embarazadas, correspondiente a una distribución asimétrica.

<b>Tabla 34. Pruebas de normalidad para grupos de embarazadas y no embarazadas</b>							
DIAGNOSTICODEEMBARAZO		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
OTAENSUERO	GRUPO 1 EMBARAZADA	0.163	150	0.000	0.904	150	0.000
	GRUPO 2 NO EMBARAZADA	0.093	150	0.003	0.923	150	0.000

En la **Gráfica 13** se aprecian los 2 grupos de acuerdo a su diagrama de caja y bigote, en el eje horizontal se muestran los grupos de acuerdo al estado de embarazo o no embarazo, en el eje vertical se muestra la concentración de OTA en suero en ng/mL.

Es evidente la diferencia entre medianas; para el grupo 1 (Embarazadas) la mediana o segundo cuartil se reporta en 6.48 ng/mL un límite inferior de 6.15ng/mL y un superior de 6.46 ng/mL , presentando valores extremos de hasta 9.5 ng/mL; un rango intercuartilico no muy estrecho que indica poca dispersión de datos, por otra parte el grupo 2 reporta una mediana 2.18 ng/mL, un límite inferior y superior de 2.12 ng/mL y 2.22 ng/mL respectivamente, entre ambos valores no hay diferencia significativa, por lo tanto su rango intercuartilico es estrecho, aún cuando se presentan valores atípicos y valores extremos. Es notable que la distribución entre ambos grupos es asimétrica.



**Gráfica 13.** Representación Gráfica de pruebas de normalidad de acuerdo al estado fisiológico de embarazo o no embarazo usando Box-Plot.

Se procedió a la aplicación de la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para muestras independientes con el objetivo de verificar la siguiente hipótesis alterna, *existen diferencias significativas de acuerdo a la concentración de OTA en suero y el estado de*

embarazo o no embarazo; en la **Tabla 35** se muestran los resultados obtenidos para dicha prueba. Los resultados muestran que existe diferencia significativa entre los rangos promedios ambos grupos, aunado a lo anterior se presenta una significancia asintótica bilateral  $p= 0.000$ , el rango promedio es mayor de acuerdo al grupo de mujeres embarazadas lo que indica un mayor consumo o almacenamiento de OTA en dicho grupo y que además presenta una media de OTA en suero mayor que el grupo de no embarazadas la, por lo cual se retiene la hipótesis alterna.

**Tabla 35. Prueba de Mann-Whitney entre grupo de embarazadas y no embarazadas**

Rangos				
DIAGNOSTICODEEMBARAZO		N	Rango promedio	Suma de rangos
OTAENSUERO	EMBARAZADA	150	227.00	33823.00
	NOEMBARAZADA	150	76.50	11628.00
	Total	300		

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

	OTA EN SUERO
U de Mann-Whitney	0.000
W de Wilcoxon	11628.000
Z	-15.000
Sig. asintótica (bilateral)	0.000

a. Variable de agrupación: DIAGNÓSTICO DE EMBARAZO

En la **Tabla 36**, se muestra un resumen de las comparaciones realizadas y los resultados de las pruebas estadísticas.

<b>Tabla 36. Resumen pruebas estadísticas y su significancia</b>			
<b>COMPARACIÓN</b>	<b>PRUEBA</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>	
Trimestre	ANOVA	.221	
Consumo tortilla	KRUSKALL WALLIS	.576	
IMC pregestacional	KRUSKALL WALLIS	.190	
Grupo de edad en embarazadas	ANOVA de un Factor	<b>.042</b>	<b>p: &lt;0.05</b>
Abastecimiento de viveres	KRUSKALL WALLIS	.242	
Embarazadas y No embarazadas.	U MANN WHITNEY	<b>.000</b>	<b>p: &lt;0.01</b>

## **10. DISCUSIÓN**

El objetivo general del presente trabajo fue evaluar la exposición a Ocratoxina A en pacientes embarazadas del Hospital de la Mujer de Morelia, mediante la determinación de su concentración en suero.

De acuerdo a las características de la población, podemos observar que fueron muy similares a la de un estudio previo, el número de muestra en este caso fue de 152 mujeres embarazadas. Se concluye que el 100% de la población estudiada presenta OTA en suero; este es un hecho relevante ya que en otros países el porcentaje de muestras positivas para OTA, ha sido reportado máximo un 99.1 % para el caso de Italia y en América Latina un 95% para el caso de Costa Rica; además, son pocos los estudios que reporten la presencia de OTA en suero en mujeres embarazadas.

En Egipto se reportó un porcentaje de muestras positivas a OTA en suero de 81.6%; en República Checa fue reportado un 96% de muestras positivas a diferencia de este estudio donde ocupa la totalidad de la muestra.

En la **Tabla 37** se presenta el porcentaje de exposición a OTA reportado en otros países así como el tipo de población estudiada. Además del porcentaje de muestras positivas varía, el método de detección utilizado en cada estudio es diferente; en el presente estudio se utilizó detección por inmunoensayo, al igual que en el caso para Turquía y Costa Rica, aún cuando el estándar de oro es HPLC. En un estudio donde se detectó OTA en suero por ambos métodos, no encontraron diferencias significativas en cuanto a las concentraciones encontradas <sup>146</sup>.

<b>Tabla 37. Estudios sobre exposición de OTA en suero y plasma realizados en la última década en distintos países.</b>					
País/referencia	Población	Muestra biológica	(%) EXPOSICIÓN	Método	LD*
España. Coronel 2012	Hombres y Mujeres	Plasma	98.6	HPLC	0.075
España (Medina <i>et al.</i> , 2010)	Hombres y Mujeres	Plasma	100	HPLC	0.01
Italia (Di Giuseppe <i>et al.</i> , 2011)	Personas sanas y patologías	Plasma	99.1	HPLC con columna de inmuno afinidad	0.025
Argentina (Pacin <i>et al.</i> , 2008)	Hombres y Mujeres	Plasma	60	HPLC	0.019
Portugal (Lino <i>et al.</i> , 2008)	Hombres y Mujeres	Suero	100	HPLC	0.1
Turquía (Erkekoglu <i>et al.</i> , 2010)	Niños adultos Ancianos	Suero	81	ELISA	0.025
Costa Rica (Quintana <i>et al.</i> , 2007)	Personas Sanas no bebedores de café	Plasma	95	ELISA	0.05
Argentina (Motta 2009)	Mujeres y Hombres	Plasma	64	HPLC MS	0.025
Egipto (Jackson Woo, El-Nezami 2016)	Embarazadas	Suero	81.6	HPLC	0.2
República Checa (Ostry V. Dofkova M.)	Embarazadas	Suero	96	HPLC	0.02

\*LD: Límite de detección.

En México no existen trabajos que pongan en evidencia la exposición a OTA en humanos, por lo que hace falta impulsar la investigación en este rubro. Además, ya se ha mencionado que no existe alguna norma que regule la presencia de OTA en alimentos de ningún tipo. Entonces, para poder hacer un comparativo del grado de exposición por parte de la población analizada en este trabajo, se utilizaron los parámetros propuestos por organismos internacionales en la Unión Europea; En 1995, el Comité Mixto FAO/WHO de expertos sobre aditivos alimentarios (JECFA) estableció un valor máximo de ingesta semanal tolerable de 100 ng/kg de peso corporal, lo que equivale a una ingesta diaria de 14 ng/kg de

peso corporal, años más tarde el comité científico sobre alimentación de la Comisión Europea en 1998, basándose en los datos de genotoxicidad y carcinogenicidad, consideró que se debería reducir la exposición de OTA lo máximo posible, a niveles inferiores a 5 ng/kg de peso corporal y día; Por otra parte el Panel de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (CONTAM) de la EFSA en el 2006 declaró una ingesta semanal tolerable (IST) de 120 ng/kg de peso corporal para la OTA, lo que equivale a una ingesta diaria de 17.1 ng/kg de peso corporal, siendo este valor superior al propuesto por JECFA en 1995. La **Tabla 38** presenta las diferentes recomendaciones en cuanto a la ingesta diaria tolerable de acuerdo a los diferentes organismos internacionales.

<b>Tabla 38. Parámetros propuestos por diferentes organismos internacionales en relación a los límites de de OTA en humanos en ng/kg/día.</b>		
<b>CCAIE Comité de Científicos de alimentación en Europa</b>	<b>EFSA European Food Safety Authority</b>	<b>OMS Organización Mundial de la Salud</b>
LÍMITE <sub>ng/ kg/día</sub>	LÍMITE <sub>ng/ kg/día</sub>	LÍMITE <sub>ng/ kg/día</sub>
<5	14	17
<5	14	17

En el presente estudio se muestra que la población presenta media de consumo de 6.2 ng/mL siendo esta mayor a la reportada en el caso de Egipto donde su estudio en mujeres embarazadas obtuvo una media de 1.53 ng/mL, considerada como un alto nivel de exposición en dicho estudio.<sup>78</sup> En cuanto al estudio de República Checa, se encontró una media de OTA en suero mucho menor a la encontrada en este estudio, siendo la media reportada de 0.015 ng/mL con un intervalo de 0.1 a 0.35 ng/ mL<sup>147</sup>. Por otro lado, estimando el consumo de OTA a través de la ingesta alimentaria según la fórmula IDC, se observó que la población de estudio está consumiendo 13.19 ng/kg/día; cabe mencionar que el resultado obtenido sólo se basa en el consumo dietético de maíz de la población, específicamente se calcularon a partir de los gramos de tortilla que consume la población en promedio. Hay que recordar que de acuerdo a la frecuencia de consumo de alimentos (CFCA) fueron 8 piezas por persona en promedio, lo que corresponde a 200 gr de Maíz.

Por está razón, se procedio a utilizar otra fórmula, Klaassen, con el fin de estimar de manera más certera el consumo promedio de OTA de la población, dando un consumo de 10.26 ng/kg/día. Ambos resultados muestran cifras de consumo muy parecidas, con una diferencia de 2.93 ng , lo que sugiere que ambas ecuaciones son adecuadas para el cálculo de ingesta; sin embargo nuestros resultados difieren con los encontrados en otro estudio <sup>148</sup>; donde reportaron diferencias significativas entre la IDC calculada mediante concentraciones conocidas de OTA en alimentos siendo mayor la media estimada en comparación a la IDC estimada en base a concentraciones plasmáticas por fórmula de Klassen cuya media estimada fue menor, pudiendo subestimar la concentración real. Estos resultados podrían deberse a que dicha fórmula solo toma en cuenta aclaramiento renal por filtración glomerular. Incluso en la ecuación de klassen adaptada para embarazo, solo se toman en cuenta algunos de los parámetros relevantes para su aplicación en mujeres embarazadas, Otros factores como el aclaramiento de la placenta y los cambios de los parámetros fisiológicos y bioquímicos durante el embarazo no se han tenido en cuenta en su totalidad, recalcando de esta manera que solo se puede hablar de una estimación.

La **Tabla 39** muestra las diferencias en el consumo de acuerdo a los diferentes cálculos realizados así como los que proponen diferentes organismos reguladores. Se puede observar que los límites propuestos tanto por la EFSA como por la OMS no se sobrepasan; sin embargo, basándonos en la recomendación propuesta por el Comité de Científicos de Alimentación Europea se observa que la estimaciones encontradas sobrepasan el límite permitido.

**Tabla.39 Comparación de la consumo de la población de estudio con los Parámetros propuestos por diferentes organismos internacionales en relación a los límites de de OTA en humanos en ng/kg/día.**

CONSUMO DE OTA	Cifra ng/ kg/día	CCAE Límite ng/ kg/día	EFSA Límite ng/ kg/día	OMS Límite ng/ kg/día
Ingesta Diaria Continua Klaassen	11	<5	14	17
	10.26	<5	14	17

**Recordando.**

**OTA encontrada en Suero: 6.2 ng / mL intervalo 5.12 ng/mL - 9.5 ng/mL**

Es importante recalcar de nueva cuenta, que las cifras de consumo obtenidas en este estudio, se utilizarán a manera de estimación, ya que la correlación entre la concentración de OTA sérica y el consumo de alimentos contaminados con OTA puede llevar un gran margen de error debido a los datos inconsistentes encontrados en otros estudios<sup>94 - 99</sup> donde no hubo una correlación fuerte entre el consumo individual en el que evaluaron grupos de alimentos, descritos como posiblemente contaminados con OTA y el nivel plasmático de OTA.

De acuerdo a las diferentes comparaciones realizadas en este trabajo, se obtuvieron varios resultados, el primero es que según nuestros datos no hay mayor concentración de OTA en suero de acuerdo al trimestre de embarazo, actualmente solo hay estudio que se centra en el comportamiento o almacenamiento de OTA durante el primer trimestre de gestación; reportando que la OTA atraviesa la placenta al principio de la gestación en lugar de a fines de la gestación, esta declaración también ha sido reportada en estudios en animales donde se ha reportado que hay una mayor distribución de OTA hacia el feto, durante etapas tempranas de la gestación.<sup>87</sup>

En cuanto al consumo de tortilla, se observó que no hay diferencia significativa, este resultado contradice al encontrado por Díaz-Tena<sup>146</sup>, donde se notó que hay una asociación positiva entre el consumo de tortilla y la concentración de OTA en suero. Cabe mencionar que hay que tomar en cuenta el hecho de que la nixtamalización es un proceso que disminuye la concentración de micotoxinaa hasta en un 90% como en el caso de las aflatoxinas<sup>104</sup>, a partir de la transformación de estas, en metabolitos no tóxicos; sin embargo, aún no hay reportes de la disminución específica para la OTA. Hecho que hace plantearnos, que la tortilla no es la principal fuente por la que se está consumiendo la OTA.

En relación al lugar de abastecimiento de víveres no se observaron diferencias significativas. Se esperaría que de acuerdo al lugar de compra se mostrará una mayor o menor contaminación de los productos alimenticios; por ejemplo, es común que los productos vendidos a granel (tal es el caso de los cereales) en la mayoría de los mercados,

estén más propensos a ser contaminados al pasar mayor tiempo expuestos ambientalmente a condiciones inadecuadas de higiene.

Hay pocos estudios que hablen sobre la contaminación de diversos alimentos por micotoxinas en relación al lugar de obtención o manejo, la mayoría de estos se centra en el estudio del maíz al ser el grano de mayor consumo en México. En un estudio llevado a cabo en catorce estados de la República Mexicana, se verificó la incidencia de hongos potencialmente toxigénicos en granos de maíz sin daño aparente, donde encontraron la presencia del género *Fusarium* en un 76,99 % de las muestras analizadas, *Aspergillus flavus* en un 11,72 %; *Aspergillus parasiticus*, en un 0,57 % y *Penicillium* en un 0,53 % <sup>149</sup>

Otro estudio en México reporta mayor contaminación del grano almacenado en comparación al no almacenado, observando que los diferentes tipos de maíz almacenados presentaron mayor concentración de micotoxinas, por ejemplo el maíz amarillo exhibió 50.3% de incidencia de *Aspergillus*, 5.5% de *Fusarium* y 15.9% de *Penicillium* (71% contaminación general), mientras que en maíz blanco almacenado, la incidencia fue de 44.6, 6 y 10.4%, respectivamente (61% contaminación en general), en el maíz de campo no almacenado cuya contaminación por *Aspergillus* en el grano fue significativamente baja. Dichos estudios concluyeron que las diferencias encontradas, se deben a que en los almacenes mexicanos donde se tomaron muestras de grano de maíz, las temperaturas medias oscilan entre 24 y 28°C, además de un uso cosechadoras mal calibradas y en mal estado que lo que generan es causar daño mecánico al grano. Por otra parte, estos estudios reportan una deficiente desecación del grano antes de ser almacenado, por lo cual estas inadecuadas prácticas, favorecen el desarrollo de hongos potencialmente toxigénicos en el maíz mexicano<sup>150</sup>. Por otro lado también ha sido reportada la venta o comercialización de maíz o cereal altamente contaminado en mercados mexicanos, generando susceptibilidad por parte del consumidor<sup>151</sup>. Respecto a los resultados aquí presentados, se puede decir que las mujeres embarazadas están expuestas a OTA en cantidades parecidas, independientemente del lugar donde compran sus alimentos.

En otra de las comparaciones de este estudio, se observó diferencia significativa entre embarazadas y no embarazadas, en cuanto a los niveles de concentración de OTA en suero; en condiciones normales las mujeres embarazadas almacenan una cantidad importante de grasa corporal para cubrir las necesidades energéticas propias y las del feto. Los depósitos de grasa corporal aumentan en mayor proporción entre las semanas 10 y 20 de gestación, o antes de que las necesidades del feto sean mayores. Solo 0.5 de los casi 3.5 kg de grasa almacenada durante el embarazo se depositan en el feto<sup>147, 148</sup>. Esto puede explicar los resultados encontrados donde se observó una media concentración mayor para el grupo de embarazadas, como se mencionó anteriormente, uno de los órganos de depósito de OTA es el tejido graso; además, también se sabe que durante la etapa gestacional en la mujer se producen una serie de cambios fisiológicos adaptativos importantes como el aumento del volumen plasmático, disminución de unión a proteínas, aumento del filtrado glomerular<sup>149</sup>, lo que permite hipotetizar que al haber menor cantidad de proteínas plasmáticas que fungan como el transportador principal de OTA (tóxico ligado), podría haber entonces una mayor cantidad de tóxico libre generando que haya una mayor concentración de OTA en sangre. Estos resultados difieren de los obtenidos en otro estudio en República Checa donde compararon la concentración de OTA encontrada en mujeres embarazadas con otro estudio realizado en dicho país sobre la concentración de OTA en mujeres no embarazadas, la comparación mostró una concentración similar para el grupo de mujeres embarazadas (0.15 ng/mL) y no embarazadas (0.17 ng/mL), sin embargo una de las conclusiones de este estudio, determinó que habría la necesidad de más estudios, para poder hacer una comparación adecuada entre estas dos variables.<sup>147</sup>

Respecto a la asociación entre la edad y la concentración de OTA en suero, cabe mencionar que el banco interamericano de Desarrollo (BID) ubica a México en los primeros lugares de embarazo en adolescentes de 15 a 19 años de edad; en Michoacán se tienen registrados más de 3 mil embarazos en adolescentes, de acuerdo con datos de la Secretaría de Salud en Michoacán para el 2017 (SSM) por lo cual nuestro estudio denota la presencia de embarazo en adolescentes en un porcentaje considerable. Por otro lado solo un 0.7% contaba con 40 años o más de edad. Respecto a esta asociación, este estudio observó diferencia significativa sobre todo para el grupo de mayores de 30 años. Los resultados

concuerdan con los obtenidos en otro estudio <sup>146</sup>, donde se encontraron diferencias significativas para el grupo de 30 años o más y 50 años o más. Por lo cual se observa que hay diferencia en las concentraciones sanguíneas de OTA como consecuencia de la edad de las pacientes, además del estado de embarazo. Sin embargo, aún cuando en ambos estudios muestran significancias para dichos grupos, la media de concentración de ambos grupos difiere. En el grupo mayores de 30 y 50 años en el estudio de no embarazadas la media de concentración es mayor en comparación a los demás grupos de menor edad (2.5 y 2.8 ng/mL respectivamente). En este estudio se encontró que para el grupo de 30 años o mayores la media de consumo es menor 5.7 ng/mL, en relación a los demás grupos de menor edad. Lo que hace suponer que las concentraciones de OTA aumentan conforme la edad, llegando a disminuir al llegar a la etapa adulta, específicamente a partir de los 30 años. Este fenómeno podría explicarse, en relación a los depósitos de grasa corporal. A partir de los 30 años este depósito aumenta considerablemente, las personas mayores pueden tener casi un tercio más de grasa, comparado con los individuos menores a 30 años <sup>150</sup>. El tejido graso se acumula hacia el centro del cuerpo, incluso alrededor de los órganos internos favoreciendo de esta manera la acumulación de OTA al fungir este, como un órgano de depósito de esta micotoxina. Por otro lado, también ocurre depleción muscular que puede llegar a disminuir hasta el 50% de su volumen total a los 60 años <sup>151</sup> que al igual que la grasa, el músculo es un órgano de depósito de la micotoxina. Lo que permite hipotetizar que aún cuando aumenta el depósito de la OTA en grasa, disminuye paulatinamente el depósito de OTA en músculo, por lo cual en adultos mayores de 30 años podrían tener una menor concentración de OTA en suero, y una mayor concentración de OTA almacenada en tejido graso.

Al hablar de los indicadores dietéticos específicamente en cuanto a la cantidad y calidad nutricional, hay que mencionar como primer punto que las mujeres son el centro de atención de gran parte de los estudios y programas aplicados de nutrición y alimentación en México, al ser consideradas como uno de los componentes fundamentales en materia de salud infantil.

Además las mujeres son foco de interés debido a la importancia del periodo de embarazo y la lactancia, ambos periodos conllevan gran demanda de macronutrientes y micronutrientes, especialmente en aquellas mujeres que experimentan cortos intervalos intergenésicos, estrés producido por el trabajo o tareas domésticas incluyendo el cuidado de los hijos, razón por la cual la población femenina es uno de los grupos con mayor vulnerabilidad <sup>154</sup>.

Sin embargo aún con las políticas actuales, es evidente que existe un resago en materia nutricional. Los resultados encontrados en el presente estudio indican que la calidad dietética no es la más adecuada según la necesidades de las mujeres embarazadas, estos resultados concuerdan con los encontrados por otro grupo de investigación <sup>155</sup>, donde se ha reportado que las mujeres embarazadas tienen una alimentación poco variada, exceso en el consumo de lípidos así como bajo consumo de antioxidantes.

En general son pocos los estudios y la información sobre el papel de los antioxidantes como atenuadores de los daños producidos por micotoxinas; sin embargo, se sabe que las propiedades protectoras de los antioxidantes, probablemente se deben a su capacidad para actuar como eliminadores de aniones superóxido, protegiendo así las membranas celulares del daño inducido por micotoxinas y, en algunos casos, estas vitaminas antioxidantes desempeñan un papel importante en la prevención de la micotoxicosis <sup>143</sup>.

También se han obtenido resultados interesantes en investigaciones que evalúan componentes activos de alimentos contenidos en café, las fresas, té, pimienta, uvas, cúrcuma, ajo, col y la cebolla, así como algunas hierbas medicinales y extractos de plantas; concluyendo que estos componentes pueden proporcionar protección contra micotoxinas como la aflatoxina B1 y la fumonisina B1. Por lo cual, estas investigaciones proponen que las estrategias dietéticas que promueven la ingesta de antioxidantes, son el enfoque más prometedor para la disminución de los efectos negativos de la micotoxinas. <sup>144</sup>.

Cabe resaltar que las estimaciones dietéticas para nutrientes evaluados por su capacidad antioxidante como el ácido ascórbico así tocoferoles totales y ácidos grasos esenciales, se

basan específicamente de acuerdo a los resultados encontrados en el CFCA, hay que tomar en cuenta que en el CAM el 100% de las mujeres embarazadas comentaron estar suplementadas, por lo cual la cifra real sérica podría subestimarse. Sin embargo, el Hospital de la Mujer de Morelia, es un hospital público, cuya población incluye a los autoempleados, los trabajadores del sector informal de la economía, los desempleados y las personas que se encuentran fuera del mercado de trabajo, así como sus familiares y dependientes. Se trata de la población no asalariada que para resolver sus necesidades de salud, acude a los servicios de la Secretaría de Salud (SS).<sup>156</sup> Por lo cual la compra de medicamentos multivitamínicos, que constan de fórmulas más completas de micronutrientes pero a un costo mucho más elevado, fueron reportadas en un porcentaje 8.55% de la muestra. El mayor porcentaje de las mujeres embarazadas comentó tomar solo ácido fólico y calcio durante el embarazo, los cuales son adquiridos de manera gratuita en el sector salud. Razón por la cual los resultados apuntalan a que no hay una ingesta adecuada de antioxidantes (exceptuando el caso del ácido ascórbico) por parte de la dieta y tampoco es adecuadamente suplementada.

Por otra parte en cuanto al estado nutricional, se observó un inadecuado estado nutricional pregestacional en más del 45% de las embarazadas similar al 50% reportado en otro estudio de mujeres embarazadas en México<sup>155</sup>. Se pudo notar en este estudio que aún cuando la media de peso pregestacional se consideró correcto (IMC pregestacional 18.5 a 24.9 kg/m<sup>2</sup>), se observó un aumento de peso excesivo en el 62% de los casos similar a lo reportado en otros estudios<sup>157,158</sup>, donde muestran que la prevalencia de una ganancia de peso en mujeres mexicanas durante el embarazo es mayor a la recomendada, que va desde un 36 a 54%, otros estudios asocian este efecto con un aumento de riesgo de complicaciones obstétricas, en el neonato se ha relacionado con una ganancia de peso gestacional mayor a la recomendada.<sup>159</sup> Este hecho hace replantear la asociación que podría existir entre un mayor consumo de calorías y una mayor concentración de OTA dada por el aumento calórico exacerbado durante el embarazo.

El comportamiento dietético mostró que hay un gran consumo de cereales, azúcares y lípidos y un bajo consumo de verduras y frutas. Estos resultados concuerdan con otro

estudio en población mexicana donde reportaron que las mujeres embarazadas tienen preferencia por el grupo de cereales específicamente por tortilla, pan dulce bolillo y hojuelas de maíz, y combinaciones arroz-pasta-tortilla en comparación al grupo de frutas, verduras y el grupo de legumbres (exceptuando el frijol); cabe mencionar que los alimentos básicos como verduras, frutas y productos integrales contienen fibra y una variedad de nutrientes adicionales son buenas elecciones de alimentos ricos en este macronutriente, Estos alimentos proporcionan también grandes cantidades de antioxidantes y además de ejercen una función reguladora a nivel gastrointestinal.<sup>140</sup>

Es posible que las características en el comportamiento dietético de este grupo de estudio se deban al poco conocimiento de los beneficios que estos alimentos aportan durante el embarazo y, sobre todo, a una cultura con hábitos alimentarios inadecuados que los excluye de la dieta, no por falta de disponibilidad. En el mercado existe una gran variedad de verduras y leguminosas que también son fuentes de proteína de origen vegetal y que se caracterizan por tener costo accesible para casi toda la población.

Respecto al consumo proteico es importante señalar, que las adaptaciones fisiológicas en el metabolismo durante la gestación cambian a fin de satisfacer las necesidades maternas y fetales de proteína<sup>139</sup>. Los requerimientos de proteína aumentan durante el embarazo principalmente a causa de la disminución de tejido proteínico; de los 922 g de proteína que se acumulan en los tejidos proteínicos a lo largo del embarazo, 440 g corresponden al feto, 216 g se utilizan para los aumentos en el volumen sanguíneo y de líquido extracelular de la madre, 166g se consumen en el útero y 100 g se acumulan en la placenta. También se necesitan proteínas adicionales para mantener el tejido proteínico que se crea<sup>139</sup> En este estudio se observó un consumo bajo de alimentos de origen animal, donde la mayoría de las fuentes proteicas tienen un alto contenido de grasa por ejemplo, chorizo, embutidos; estos resultados concuerdan con los reportado en otros estudio, por ello, debiera hacerse hincapié en el consumo de proteínas de buena calidad con menor contenido de grasas, como carnes blancas (pollo sin piel, pavo, pescado) huevo, queso, yogurt y leche con bajo contenido en grasa además de un menor consumo de carnes frías por su alto contenido en sodio, nitritos-nitratos y grasas.

Respecto al consumo de grasas, se estima que, en promedio, las mujeres embarazadas consumen un 30% del total de calorías a partir de grasas este estudio reportó una media de 36.%<sup>141</sup>. Durante el embarazo las grasas se utilizan como fuente de energía para el crecimiento y desarrollo fetal, además de fungir como fuente de vitaminas liposolubles. También proporcionan los ácidos grasos esenciales que se requieren específicamente para ciertos componentes del crecimiento y desarrollo del feto. Se estima que en México hay un consumo adecuado de ácidos grasos omega 6 como ácido linoleico, pero insuficientes en otros ácidos grasos esenciales omega 3 como ácido docosahexanoico mejor conocido como DHA; fuentes ricas de ácidos grasos omega 6 como ácido linoleico incluyen aceites de cártamo, maíz, girasol, que fueron de los aceites de mayor consumo en nuestra población.

Cabe mencionar, que las participantes de este estudio reportaron un gran consumo de calorías vacías provenientes del refresco y las frituras, el 84.2% de las mujeres mencionaron tomar bebidas azucaradas entre estas coca cola, refrescos de sabor, agua de frutas con azúcar en una cantidad que va desde 1 a 5 vasos por día. Se pone de manifiesto el gran consumo de azúcar por parte de las mujeres embarazadas y de frituras de maíz, también en un amplio porcentaje de las encuestadas (61.8 %). Este hecho es sumamente importante ya que se tienen reportes sobre la contaminación de frituras de maíz por OTA para el Estado de Michoacán.<sup>76</sup>

Queda claro que se requiere fomentar en etapas tempranas embarazo, e incluso antes, la educación nutricional para promover una adecuada nutrición ya que de esa manera podemos disminuir los factores de riesgo que conlleva una inadecuada alimentación. Es necesaria la participación coordinada y permanente de los médicos que atienden a las embarazadas (médico familiar, enfermera materno infantil, licenciado en nutrición, trabajadora social, etc.) para lograr que la educación nutricional sea un componente que mejore la calidad de vida de las mujeres embarazadas.

Por último es importante aclarar que este estudio no puede asegurar la cantidad exacta del consumo de OTA por parte de la población estudiada, pero sí evidencia de manera tangible, que las mujeres embarazadas están expuestas a esta. Es necesario crear conciencia tanto al consumidor como a las instancias gubernamentales pertinentes, ya que la exposición a esta micotoxina implica que actualmente hay un manejo inadecuado de los productos alimenticios.

Lamentablemente en países en vías de desarrollo hay un menor énfasis en la legislación de medidas que contribuyan al control de las micotoxinas; como resultado, la población en general está más susceptible al consumo crónico y, por lo tanto, al desarrollo de posibles patologías derivadas por la falta de prevención y control de estos contaminantes.

Este estudio pretende fungir como una alerta a la sociedad en general y a las instancias gubernamentales pertinentes, así como un estudio de primer contacto en nuestro país que de pauta a más investigaciones.

## **11.CONCLUSIONES**

- 100% de las mujeres embarazadas demostró presencia de OTA en suero.
- 100% presentó niveles por arriba de la recomendación del Comité Científico de Alimentación en Europa (IDT <5 ng/kg pc/día) con un intervalo de 5.12 ng/mL hasta 9.5 ng/mL. *Media: 6.2 ng/mL.*
- Se presentó diferencia significativa en la concentración de OTA en embarazadas y No embarazadas.
- Se presentó diferencia significativa para la comparación de OTA por grupos de edad tanto como en embarazadas como no embarazadas.
- La calidad de la dieta de la población estudiada es inadecuada para el periodo de embarazo.

## **12.PERSPECTIVAS**

Considerando los resultados encontrados, se plantean otras preguntas a partir de este estudio:

1. detección de la micotoxina en leche materna, son lo pocos los estudios que se han reportado acerca de este tema, sin embargo se ha encontrado que si podría haber una relación entre el consumo de la madre y la cantidad de OTA en las secreciones de leche materna<sup>3</sup>.
2. Por otro lado sería importante verificar si existen diferencias significativas en relación a la concentración de OTA entre mujeres y hombres mexicanos.

Este estudio propone que es recomendable evaluar estrategias de prevención que incluyan recomendaciones dietético-ambientales durante el embarazo, que sirvan para la disminución de factores de riesgo a futuro, y que además mejoren la calidad de vida de las mujeres embarazadas así como la de sus hijos, de tal manera que también puedan fungir como base para el desarrollo futuro de políticas y programas en materia de prevención de enfermedades por consumo dietético en este caso específico la ocratoxina A. En la **Tabla 40** se muestran las estrategias dietético-ambientales propuestas por este estudio.

**Tabla 40. Recomendaciones dietético-ambientales para la disminución de los efectos dañinos de la OTA**

1. Evitar almacenar cereales, frutos secos, semillas y legumbres como el frijol y soya por mucho tiempo. Se sabe que los hongos productores de micotoxinas crecen muy fácilmente en ambientes húmedos y por periodos prolongados de almacenamiento.
2. Respetar la fecha de caducidad de los alimentos. Específicamente, los cereales son muy susceptibles a ser contaminados, recuerda que la ocratoxina A no tiene color ni sabor, de manera que no es detectable y por lo tanto es muy fácilmente ingerirla.
3. Cocer perfectamente los alimentos. Hay que recordar que aunque el calor no destruye la ocratoxina A en su totalidad, si disminuye la cantidad.
4. En la crianza de animales para consumo, se debe cuidar que los alimentos (ej. Piensos) estén en buen estado, almacenados en un lugar seco y limpio, de manera que se pueda disminuir el consumo de esta micotoxina por ellos.
5. Consumir grandes cantidades de antioxidantes naturales. Se sabe que el consumo de vitamina C proveniente de las frutas y verduras, así como el consumo de vitamina E propio de las nueces, aceites vegetales y carnes, favorece la reparación celular y por lo tanto disminuye los efectos tóxicos de la micotoxina.
6. Variar más la dieta. Uno de los factores que aumentan la probabilidad de consumir grandes cantidades de ocratoxina A, es una dieta muy alta en cereales, la recomendación es limitar el consumo de cereales como arroz, bolillo, panes, pastas; prefiere consumir tortilla o productos nixtamalizados, ya que se ha visto que este proceso disminuye la cantidad de ocratoxina A; aumenta el consumo de frutas de 3 a 5 piezas por día así como consumir más de 3 tazas de verduras, que como ya se mencionó tienen alto contenido de antioxidantes; por último, disminuir el consumo de carne, pollo y aumentar el consumo de pescado de 2 a 3 veces por semana ya que a la fecha no se tienen reportes de contaminación por ocratoxina A en éste.

### **13.REFERENCIAS**

1. Méndez-Albores A, Moreno-Martínez E. (2009). Las micotoxinas contaminantes naturales de los alimentos. *Ciencia*; 2:1-7.
2. Arbillaga L, Ezpeleta O, López de Cerain A. (2004) ¿Es la ocratoxina a una micotoxina mutagénica? *Revista de Toxicología*, 21(1): 1-10.
3. Dehghan P, Pakshir K, Rafiei H, Chadeganipour M, Akbari M. (2014). Prevalence of Ochratoxin A in Human Milk in the Khorrambid Town, Fars Province, South of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*;7(7):1-4.
4. Beardall JM, Miller JD. (1994). Mycotoxins in Grain: Compounds other than Aflatoxin. En *Diseases in humans with mycotoxins as possible causes*(p 487-539). St. Paul, Minnesota USA: Eagan Press.
5. Bove FJ, Both S, Karger AG. (1970). *the Story of Ergot*. Switzerland: Pergamon Press.
6. Pitt JI. (1996). What are mycotoxins? *Australian Mycotoxin Newsletter*. 7(4):1.
7. Miller JD.(1991). Significance of grain mycotoxins for health and nutrition. En *Fungi and Mycotoxins in Stored Products*. Canberra, Australia: ACIAR Proceedings .
8. Mayer CF. (1953). Endemic panmyelotoxicoses in the russian grain belt. Part One: The clinical aspects of alimentary toxic aleukia (ATA), a comprehensive review. *Mil. Serg.* 113: 173-189
9. Coker RD. (1997). Mycotoxins and their control: constraints and opportunities. 15 septiembre 2017, de Greenwich Academic Literature Archive Sitio web: <http://gala.gre.ac.uk/11098/1/Doc-0162.pdf>
10. Stratton GW, Robinson AS, Smith L, Kittilsen M. (1993). Levels of five mycotoxins in grains harvested in Atlantic Canada as measured by high performance liquid chromatography. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; 24: 399-409.
11. Mallman CA, Dilkin P, Tyska D. (2008). Micotoxinas, Inmunidad y conceptos de control. Consulta: 1 de octubre 2017, de Universidad Nacional de Colombia Sitio web: <file:///Users/karentena/Downloads/Micotoxinas,%20inmunidad%20y%20conceptos%20de%20control.pdf>
12. Mycotoxin Classification according to cancer risk (2002) International Agency for Research of Cancer (IARC); 82: 171-301.
13. Miller JD. (1994). Conference Report: 6th International Working Conference on Stored-product. Protection. *Australian Mycotoxin Newsletter* 5(2):1- 8.
14. Cancer and mycotoxins (1993) International Agency for Research of Cancer (IARC). 56: 397-445.
15. Wild, C.P., Miller, J.D., Groopman, J.D. (2015). *Mycotoxin control in low- and middle-income countries*. France: WHO Press.
16. Mallmann CA, Dilkin P. (2006). *Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos* . Brasil: Editora Pallotti.
17. Soriano del Castillo JM. (2007). *Micotoxinas en Alimentos*. España: Ediciones Díaz de Santos.
18. Ravelo Abreu A, Rubio Armendáriz C, Gutiérrez Fernández AJ, Hardisson de la Torre A. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humano. *Nutrición Hospitalaria*; 26:1215-1226.

19. Monaci L, Palmisano F. (2004) Determination of Ochratoxin A in foods: state-of-the-art and analytical challenges. *Anal Bioanal Chem*; 378: 96-103.
20. Van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L (1965). Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus*. *Nature*; 205: 111, 2-3.
21. Blanco R, Pavón MA, González I, García T, Martín MR. (2007) Detección de Ocratoxina A en higos secos utilizando el anticuerpo MAP1 y una técnica de ELISA competitivo. *Rev Complut Cienc Vet*1; 2: 246-252.
22. Majerus P, Cutka I, Dreyer A, El-Dessouki S. (1993) Ochratoxin A in Lebensmittel pflanzlichen Ursprung. *Deut Lebensm-Rundsch*; 89: 112-4.
23. Duarte SC, Peña A, Lino CM. (2009) A review on Ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiol*; 2 (27): 187-198.
24. Marín S, Bellí N, Ramos AJ, Sanchis V. (2005) Presencia de Ocratoxina A en vinos y derivados de uva. *Alim Nutr Salud*; 3 (12): 113-8.
25. Belli N, Marín S, Duaigës A, Ramos JA, Sanchis V. (2004) Ochratoxin A in wines, musts and grapes juices from Spain. *J Sci Food Agric*; 84: 541-546.
26. Scientific Panel Members of EFSA. (2006) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request from the Commission related to Ochratoxin A in food. *The FSA Journal*; 365: 1-56.
27. Prickett AJ, McDonald S, Wildey KB, Chan D. (2000) Survey of mycotoxins and deoxynivalenol in stored grains from the 1999 harvest in the U.K. *Food Addit Contam*; 2 (21): 172-8.
28. Palermo D, Pietrobono P, Palermo C, Rotunno T. (2002) Occurrence of Ochratoxin A in cereals from Puglia (Italy). *Ital J Food Sci* 2002; 14: 447-53.
29. Czerwiecki L, Czajkowska D, Witkowska-Gwiazdowska A. (2000) On Ochratoxin A and fungal flora in Polish cereals from conventional and ecological farms. Part 2: Occurrence of Ochratoxin A and fungi in cereals in 1998. *Food Addit Contam*; 19: 1051-1057.
30. Jorgensen K, Jacobsen JS. (2002) Occurrence of Ochratoxin A in Danish wheat and rye, 1992-1999. *Food Addit Contam*; 19: 1184-89.
31. Ayalew A, Fehrmann H, Lepschy J, Beck R, Abate D. (2006) Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. *Mycopathol*; 162: 57-63.
32. Zinedine A, Brera C, Elakhdari S, Catano C. (2006) Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control*; 17: 868-74.
33. Zaied C, Abid S, Zorgui L, Bouaziz C, Chouchane S, Jomaa M, Bacha H.(2009) Natural occurrence of Ochratoxin A in Tunisians cereals; *Food Control*. 20: 218-22.
34. Park JW, Chung S, Kim Y. (2005) Ochratoxin A in Korean food commodities: Occurrence and safety evaluation. *J Agric Food Chem*; 53: 4637-42.
35. Domijan AM, Peraica M, Jurjevic Z, Ivic D, Cvjetkovic B. (2005) Fumonisin B1, Fumonisin B2, Zearalenone and Ochratoxin A contamination of maize in Croatia. *Food Addit Contam*; 22: 677-80.
36. Sangare-Tigori B, Moukha S, Kouadio HJ.(2006) Co-occurrence of Aflatoxin B1, fumonisin B1 Ochratoxin A and Zearalenone in cereals and peanuts from Côte d'Ivoire. *Food Addit Contam* 23: 1000-7
37. Kumagai S, Nakajima M, Tabata S, Ishikuro E, Tanaka, Norizuki H, Itoh Y, Aoyama K, Fujita K, Kai S, Sato T, Saito S, Yoshiike N, Sugita-Konishi Y.(2008) Aflatoxin and Ochratoxin A contamination of retail foods and intake of the mycotoxins in Japan. *Food Addit Contam*; 9: 1101-6.

38. Trung TS, Bailly JD, Querin A, Lebards P, Guerre P. (2001) Fungal contamination of rice from South Vietnam mycotoxigenesis of selected strains and residues in rice. *Rev Med Vet*; 51: 555-60.
39. Peña A, Cerejo F, Lino C, Silveria I. (2005) Determination of Ochratoxin A in Portuguese rice samples by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal Bioanal Chem*; 382: 1288-93.
40. Nguyen MT, Tozlovanu M, Tran TL, Pfohl-Leskowicz A. (2007) Occurrence of Aflatoxin B1 Citrinin and Ochratoxin A in rices in five provinces of central region in Vietnam. *Food Chem*; 105: 42-7
41. Zinedine A, Soriano JM, Juan C, Mojemmi B, Moltó JC, Bouklouze A, Cherrah Y, Idrissi L, el Aouad R, Mañes J. (2007) Incidence of Ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Salé area, Morocco. *Food Addit Contam*; 24: 285-91.
42. Ghali R, Hmaissia-klifa K, Ghorbel H, Maaroufi K, Hedili A. (2008) Incidence of Aflatoxins Ochratoxin A and Zearalenone in Tunisian foods. *Food Control*; 19: 921-4.
43. Vega M, Muñoz K, Sepúlveda C, Aranda M. (2009) O. Solid-phase extraction and HPLC determination of Ochratoxin A in cereals products on Chilean market. *Food Control* 2009; 20: 631-4.
44. Scudamore KA, Patel S, Breeze V. (1999) Surveillance of stored grain from the 1997 harvest in the United Kingdom for Ochratoxin A. *Food Addit Contam*; 16: 281-90.
45. Birzele B, Prange A, Krämer J. (2000) Deoxynivalenol and Ochratoxin A in German wheat and changes of level in relation to storage parameters. *Food Addit Contam*; 12: 1027-35.
46. Eskola M. (2002) Study of Trichothecenes Zearalenone and Ochratoxin A in Finnish Cereals: Occurrence and Analytical Techniques (Dissertation). *Julkaisuja Publications*; 14:3-78.
47. Kuiper-Goodman T. (1996) Risk assessment of Ochratoxin A: an update. *Food Addit Contam*; 13:53-7.
48. López de Cerain A, Jimenéz AM, Ezpeleta O, Bello J. (2000) Efectos tóxicos de la Ocratoxina. *Rev Toxicol*; 17: 61-69.
49. González L, Juan C, Soriano JM, et al. (2006). Occurrence and Daily Intake of Ochratoxin A of organic and nonorganic rice and rice products. *Int J Food Microbiol*; 10:223-7.
50. Eskola M, Parikka P, Rizzo A. (2001) Trichothecenes, Ochratoxin A and Zearalenone contamination and Fusarium infection in Finnish cereal samples in 1998. *Food Addit Contam*; 8: 707-18.
51. Baydar T, Engin AB, Girgin G, Aydın S, Sahin G. (2005) Aflatoxin and Ochratoxin in various types of commonly consumed retail ground samples in Ankara, Turkey. *Ann Agric Environ Med*; 12: 193-7.
52. Cengiz M, Oruç HH, Uzunoglu I, Sonal S. (2007) Ochratoxin A levels in different types of bread and flour; *Uludag Univ J Fac Vet Med*; 26: 7-10.
53. Osnaya LG, Castillo JMS, Cortés JCM, Vinuesa JM.(2006) Extraction and analysis of Ochratoxin A in bread using pressurized liquid extraction and liquid chromatography. *J Chrom A*; 1113: 32-6.
54. Juan C, Lino CM, Pena A, Moltó JC, Mañes J. (2007) Determination of Ochratoxin A in maize bread samples by LC with fluorescence detection. *Talanta*; 73: 246-50.
55. Juan C, Lino CM, Pena A, Moltó JC, Mañes J. (2008) Levels of Ochratoxin A in wheat and maize bread from the central zone of Portugal. *J Food Microbiol*; 127: 284-9.

56. Legarda TM, Burdaspal PA. (2001) Occurrence of Ochratoxin A in samples of bread marketed in Spain and twelve other countries. *Alimentaria*; 321: 89-96.
57. González-Osnaya L, Soriano JM, Moltó JC, Mañes J. (2007) Dietary intake of Ochratoxin A from conventional and organic bread. *Int J Food Microbiol*; 118: 87-91.
58. Bento JMV, Pena A, Lino CM, Pereira JA. (2009) Determination of Ochratoxin A content in wheat bread samples collected from the Algarve and Braganca regions. *Microchem J* 2009; 91: 193-7.
59. Araguas C, González-Peñas E, López de Cerain A. (2005) Study on Ochratoxin A in cereal-derived products from Spain. *Food Chem*; 92: 459-64.
60. Molinié A, Faucet V, Castegnaro M, Pfohl-Leskowicz A. (2005) Analysis of some breakfast cereals on the French market for their contents of Ochratoxin A, citrinin and Fumonisin B1: Development of a method for simultaneous extraction of Ochratoxin A and citrinin. *Food Chem*; 92: 391-400
61. Roscoe G, Lombaert A, Huzel V, Neumann G, Melietio J. (2008) Mycotoxins in breakfast cereals from the Canadian retail market: a 3-year surveys. *Food Addit Contam*; 25: 347-55.
62. Zinedine A, Blesa J, Mahnine N, Et al. (2010) Pressurized liquid extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of Ochratoxin A in breakfast and infants cereals from Morocco. *Food Control*; 21: 132-5
63. Kabak B. (2009) Ochratoxin A in cereal-derived products in Turkey: Occurrence and Exposure Assessment. *Food Chem Toxicol*; 47: 348-52.
64. Villa P, Markaki P. (2009) Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in breakfast cereals from Athens market: Occurrence and risk assessment. *Food Control*; 20: 455-61.
65. Magnoli CE, Astoreca AL, Chiacchiera SM, Dalcero AM. (2007) Occurrence of Ochratoxin A and ochratoxigenic mycoflora in corn and corn based foods and feeds in some South American countries. *Mycopathol*; 163: 249-60.
66. Lombaert A, Pellaers P, Et al. (2003) Mycotoxins in infant cereal foods from the Canadian retail market. *Food Addit Contam*; 20: 494-504.
67. Baydar T, Erkekoglu P, Sipahi H, Sahin G. (2006) Aflatoxin B1, M1 and Ochratoxin A levels in infants formulae and baby foods marketed in Ankara, Turkey. *J Food Drugs Anal*; 1 (15): 89-92.
68. López de Cerain A, González-Peñas E, Jimenez AM, Bello J (2002). Contribution to the study of Ochratoxin A in Spanish wines. *Food Addit Contam*; 19: 1058-64.
69. Krogh P, Hald B, Gjertsen P, Myken F. (1974) Fate of Ochratoxin A and citrinin during malting and brewing experiments. *Appl Microbiol*; 28: 31-4.
70. Levi C, Trenk HL, Mohr HK. (1974) Study of the occurrence of Ochratoxin A in green coffee beans. *J Assoc Off Anal Chem*; 57: 866-70.
71. Tsubouchi H, Terada H, Yamamoto K, Hisada K, Sakabe Y. (1988) Ochratoxin A found in commercial roast coffee. *J Agric Food Chem*; 36: 540-2.
72. Studer-Rohr I, Dietrich DR, Schlatter J, Schlatter Q. (1994) Ochratoxin A in coffee. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg* 1994; 85: 719-27.
73. Gómez Ayala AE. (2007). Alimentos y micotoxinas. *Farmacia Profesional*; 21(8)49-53.
74. Robledo ML, Marín S, Ramos AJ. (2001) Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México) *Rev Iberoam Micol*; 18: 141-144.
75. Riopérez J, Rodríguez M. (2006) Ocratoxina A en los alimentos compuestos, efectos en lechones y cerdos de engorde. *Revista mundo ganadero*; 193: 56-58.

76. Castillo WN (2016) Determinación de ocratoxina A en café, cerveza y maíz, de Morelia Michoacán por un Método E.L.I.S.A. (Tesis de licenciatura) Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán México.
77. Van Egmond HP, Schothorst, Marco RC, Jonker A. (2007). Regulations relating to mycotoxins in food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 147-157.
78. Woo CS, El-Nezami H. (2016). Maternal-Fetal Cancer Risk Assessment of Ochratoxin A during Pregnancy. *Toxins*; 8: 87-103.
79. Anderson LM, Diwan BA. Fear NT, Roman E. (2000) Critical windows of exposure for children's Health: Cancer in human epidemiological studies and neoplasms in experimental animal models. *Environ Health Perspect*; 108: 573–594.
80. Godschalk RW, Kleinjans JC. (2008) Characterization of the exposure-disease continuum in neonates of Mother exposed to carcinogens during pregnancy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*; 102: 109–117.
81. Perera FP, Jedrychowski W, Rauh V, Whyatt RM. (1999) Molecular epidemiologic research on the effects of environmental pollutants on the fetus. *Environ Health Perspect*; 107: 451–460.
82. Vanhees K, de Bock L, Godschalk RWL. (2011) Prenatal exposure to flavonoids: Implication for cancer risk. *Toxicol Sci*; 120: 59–67.
83. Soffritti M, Belpoggi F, Tibaldi E, Esposti DD, Lauriola M. (2007) Life-span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. *Environ Health Perspect*; 115: 1293–1297.
84. Wangikar PB, Dwivedi P, Sinha N, Sharma AK, Telang AG. (2005) Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to Ochratoxin A and Aflatoxin B1 with special reference to microscopic effects. *Toxicology*; 215:37–47.
85. Zimmerli B, Dick R. (1995) Determination of Ochratoxin A at the PPT level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: Methodology and Swiss data. *J Chromatogr B Biomed Appl*; 1666: 85–99.
86. Vähäkangas K, Myllynen P. (2006) Experimental methods to study human transplacental exposure to genotoxic agents. *Mutat Res*; 608: 129–135.
87. Appelgren LE, Arora RG. (1983) Distribution studies of <sup>14</sup>C-labelled aflatoxin B1 and ochratoxin A in pregnant mice. *Vet Res Commun*; 7: 141–144.
88. Roger W L, Godschalk J, Kleinjans CS. (2008). Characterization of the Exposure–Disease Continuum in Neonates of Mothers Exposed to Carcinogens during Pregnancy. *Basic & Clinical pharmacology & Toxicology*; 102(2)109-117.
89. Anderson LM, Diwan BA, Fear NT, Roman E.(2000) Critical windows of exposure for children's health: Cancer in human epidemiological studies and neoplasms in experimental animal models. *Environ Health Perspect*;108:573–594.
90. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med*; 359: 61–73.
91. Pallapies D. (2006) Trends in childhood disease. *Mutat Res*; 608: 100–111.
92. Loebstein R, Lalkin A, Koren G. (1997) Pharmacokinetic changes during pregnancy and their clinical relevance. *Clin Pharmacokinet* 33: 328–343.
93. Morgan DJ. (1997) Drug disposition in mother and foetus. *Clin Exp Pharmacol Physiol*; 24: 869–873.
94. Thuvander A, Paulsen JE, Axberg K, Johansson N, Vidnes A, Enghardt-Barbieri H, Trygg

- K, Lund-Larsen K, Jahrl S, Widenfalk A. (2001) Levels of Ochratoxin A in blood from norwegian and swedish blood donors and their possible correlation with food consumption. *Food Chem Toxicol*; 39:1145–1151.
95. Biasucci G, Calabrese G, Di Giuseppe R, Carrara G, Colombo F, Mandelli B, Maj M, Bertuzzi T, Pietri A, Rossi F. (2010) The presence of Ochratoxin A in cord serum and in human milk and its correspondence with maternal dietary habits. *Eur J Nutr*; 50:211–218.
96. Muñoz K, Vega M, Rios G, Muñoz S, Madariaga R. (2006) Preliminary study of Ochratoxin A in human plasma in agricultural zones of chile and its relation to food consumption. *Food Chem Toxicol*; 44:1884–1889.
97. Miraglia M, Brera C, Colatosti M. (2016) Application of biomarkers to assessment of risk to human health from exposure to mycotoxins. *Toxins*; (8)87:14-16.
98. Gilbert J, Brereton P, MacDonald S. (2001) Assessment of dietary exposure to Ochratoxin A in the UK using a duplicate diet approach and analysis of urine and plasma samples. *Food Addit Contam*; 18:1088–1093.
99. Breitholtz A, Olsen M, Dahlback A, Hult K. (1991) Plasma Ochratoxin A levels in three swedish populations surveyed using an ion-pair HPLC technique. *Food Addit Contam*; 8: 183–192.
100. Martínez-Larrañaga MR, Anadón A. (2006) *Toxicología alimentaria*. Madrid: Díaz de Santos.
101. Studer-Rohr I, Dietrich DR, Schlatter C. Kinetic (2000) parameters and intraindividual fluctuations of Ochratoxin A plasma levels in humans. *Arch Toxicol*, 74: 499-510.
102. Stojkovic R, Ganulin S, Plestina R. (1984) High affinity binding of Ochratoxin A to plasma constituents. *Biochem Int*; 19: 33-8.
103. López de Cerain A, Jiménez AM, Ezpeleta O, Bello J. (2000) Efectos tóxicos de la Ocratoxina. *Rev Toxicol*; 17: 61-69.
104. Magan N, Olsen M. (2004). *Mycotoxins in Food*. England: Woodhead Publishing Limited.
105. Breitholtz-Emanuelsson A, Olsen M, Oskarsson A, Palminger I, Hult K.(1993) Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. *J Assoc Anal Chem*; 42: 172-6.
106. Gareis M, Martlbauner E, Bauer J, Gedek B. (1988) Determination of Ochratoxin A in breast milk. *Z Lebensm unters forsch*; 168: 114-7.
107. Creppy EE. (2002) Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Letters*; 127: 19-28.
108. Ravelo Abreu A, Rubio Armendáriz C, Gutiérrez Fernández, Hardisson de la Torre A. (2011). Metabolismo de la ocratoxina A. *Nutrición Hospitalaria*; 26(6):1215-1226.
109. Stormer FC, Storen O, Hansen CE, Pedersen JI, Aasen AJ. (1983) Formation of (4R)- and (4S)-4-Hydroxyochratoxin A and 10-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by rabbit liver microsomes. *Applied and Environmental Microbiology*; 45: 1183-1187.
110. Kuiper-Goodman T, Scott PM. (1989) Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomedical and Environmental Sciences* 2:179-248.
111. Omar RF, Gelboin HV, Rahimtula AD (1996) Effect of cytochrome P450 induction on the metabolism and toxicity of ochratoxin A. *Biochemical Pharmacology*; 51: 207-216.
112. Molnar O, Schatzmayr G, Fuchs E, Prillinger HJ. (2004) *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., A New Yeast Species Useful in Biological Detoxification of Various

- Mycotoxins. *Applied and Systematic Microbiology*; 27(6): 661-671
113. Hatzmayr G, Heidler D, Fuchs E, Mohnl M, Täubel M, Loibner AP, Braun R, Binder EM. (2003) Investigation of different yeast strains for the detoxification of Ochratoxin A. *Mycotoxin Research*, 19(2):124-128.
  114. Xiao H, Madhyastha S, Marquardt RR (2006) Toxicity of Ochratoxin A, its opened lactone form and several of its analogs: structure-activity relationships. *Toxicol Appl Pharmacol*; 137: 182-92.
  115. López de Cerain A. (2003) Ocratoxina A: Exposición en España y nuevos aspectos sobre su toxicidad. *Rev Toxicol*; 20: 72-3.
  116. Cheeke PR. (1998). Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants. Dinaville, IL: Interstate Publishers.
  117. Gekle M, Schwerdt G, Freudinger R, Mildenerberger S. (2000) Ochratoxin A in induces JNK activation and apoptosis in MCDK cells at nanomolar concentrations. *J Pharmacol Exp Ther*; 293: 837-44.
  118. Dorrenhaus A, Flieger A, Golka K, Schulze H, Albercht M, Degen GH. (2000) Induction of unscheduled DNA synthesis in primary human urothelial cells by the mycotoxin Ochratoxin A. *Toxicol Sci*; 53: 271-77.
  119. Chavarrías M. (2006). ¿Qué es la ocratoxina A?. Marzo 2018, de Ciencia Libre Sitio web: <http://cienciacatalisislibre.blogspot.mx/2011/04/que-es-la-ocratoxina-ota.html>.
  120. Khan S, Martin M, Bartsch H, Rahimtula AD. (1989) Perturbation of liver microsomal calcium homeostasis by Ochratoxin A. *Biochem Pharmacol*; 38: 67-72.
  121. Aslam, M, Beg A. (2005) Ochratoxin A blood concentration in healthy subjects and bladder. *Cáncer cass from pakistan. Mycotoxin Res*; 21:164-167.
  122. Koller G, Wichmann G. (2006) Comparison of Elisa and Capillary electrophoresis with lases-induce flourecence detection in the analysi of Ochratoxin A in Low volumes of human blood serum. *J Chromatogr B*; 840:94-98.
  123. Lino CM, Baeta ML, Henri M. (2008) Levels of ochratoxin A in serum from urban and Rural portuguese populations and estimation of exposure degree. *Food Chem Toxicol*; 46:879- 885.
  124. Bauer J, Gareis M. (1987) Ochratoxin A in the food chain. *J Vet Med B*; 34:613-627.
  125. Peraica M, Radic B, Lucic A. (1999) Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano. *Bulletin of the World Health Organization*; 77(9):754-766.
  126. World Health Organization. (2001). WHO Food Additives Series:46 , Safety evaluation of certain food additives and contaminants. *Food and Nutrition Paper*, 52, 1 – 293.
  127. Evaluation of certain food additives and naturally occurring toxicants, Thirty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1992) WHO Technical Report Series; 828:1-198.
  128. López A.(2003) Ocratoxina A: exposición en España y nuevos aspectos sobre toxicidad. *Rev Toxicol*; 20: 72-73
  129. Chu F.S. (1971) Interaction of Ochratoxin A with bovine Serum albumin. *Arch Biochem Biophys*; 147:359-366
  130. Hulk K, Plestina R, Habazin-Novak. (1982) Ochratoxin A in human blood and balkan Endemic nephropathy. *Arch. Toxicol* 51:313-321
  131. Petska J, Abouzied M, Sutikno S. (1995) Immunological assays for Mycotoxins detection. *Food Technol* 49(2):120-128.

132. Bhat RV, Sashidhar RB, RamakrishnaY, Munshi KL. (1989). Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould damaged wheat products in Kashmir Valley, India. *Lancet*; 1:35-37.
133. Kuiper-Goodman, T. (1998). Mycotoxins and food supply. In *Food, Nutrition and Agriculture Review*. En *Mycotoxins and Phycotoxins*(25-48). USA: Fort Collins.
134. Biasucci G, Calabrese G, Di Giuseppe R, Carrara G, Colombo F, Mandelli B(2011). The presence of ochratoxin A in cord serum and in human milk and its correspondence with maternal dietary habits. *Eur J Nutr*; 50(3): 211–8.
135. Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Rivera-Dommarco J. (2006). Manual de procedimientos para proyectos de nutrición. Centro de Investigación en Nutrición; 1:148. diciembre 2017, De Instituto Nacional de Salud Pública Base de datos.
136. Organización Mundial de la Salud. (2008). 10 Datos sobre la Obesidad. Diciembre 1017, de OMS Sitio web: <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/es/index1.html>
137. Mahan L. Kathleen. (2013). *Krause Dietoterapia*. USA: Elsevier.
138. Schlatter C, Studer-Rohr J, Rasonyi T. (1996) Carcinogenicity and kinetic aspects of Ochratoxin A. *Food Addit. Contam*; 13:43–44.
139. Allen LH.(2003) Biological mechanisms that might underlie iron's effects on fetal growth and preterm birth. *J Nutr*; 131:581-589.
140. Tamura T.(2002) Cord serum ferritin concentrations and mental and pshycomotor development of children at five years of age. *J Pediatrics*; 140: 165-175.
141. Casanueva E, Viteri FE. (2003) Iron and oxidative stress in pregnancy.*J Nutr*; 133: 75-78.
142. Hinds TS, West WL, Knight EM.(1996) The effect of caffeine on pregnancy outcome variables. *Nutr Rev*; 54:203-207.
143. Atroshi F, Rizz A. (2002) Antioxidant nutrients and mycotoxins, *Toxicology*; 180(2):151-167
144. Galvano F. Piva A. (2001) Dietary strategies to counterect the effects of mycotoxins: a review. *J Food Prot*; 64(1):120-131
145. Institute of Medicine. (2000). *Vitamin C. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. . 145. Food and Nutrition Board; 1:95-185. Diciembre 2017, De National Academy Press Base de datos.
146. Díaz-Tena S.A. Robinson V.A. (2017) Exposición a Ocratoxina A en una población de pacientes ambulatorios del Hospital de la Mujer (Tesis de Maestría en Ciencias de la Salud) Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán México.
147. Ostry V, Dafkova M. (2013) Ochratoxin levels in blood serum of Czech Women in the first trimester of pregnancy and its correspondence with dietary intake of the mycotoxin contaminant. *Biomarkers*;18:673-678.
148. Coronel M. (2012). Risk analysis of Ochratoxin A in the frame of food safety. Exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*; 43: 325-329.
149. Arrúa Alvarenga A, Quezada Viay M, Vázquez Badillo M , Flores Olivas A. (2012). Incidencia de hongos potencialmente toxigénicos en maíz de diferentes orígenes geográficos en México. marzo 2018, de Fitosanidad Sitio web: <http://www.fitosanidad.cu/index.php/fitosanidad/article/view/213/234>
150. Hernández-Delgado S, Reyes-López MA, García-Olivares JG, Mayek-Pérez N, Reyes-Méndez CA.(2007) Incidencia de Hongos Potencialmente Toxígenos en Maíz (*Zea mays* L.) Almacenado y Cultivado en el Norte de Tamaulipas, México. *Revista mexicana de fitopatología*; 25(2): 127-133.

151. Walston JD. (2016). Common clinical sequelae of aging. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders.
152. Torres G. Moreales M. (1997). Maíz-Tortilla, Políticas y Alternativas. Revista UNAM; 1: 240.
153. Rosso P.(1990) Nutrition and metabolism in pregnancy. Oxford University Press; 156:117-151.
154. American College of Obstetricians and Gynecologist. (1993) Nutrition During pregnancy. Technical bulletin; 179:1-7.
155. Vera Carrasco O. (2015).Uso de fármacos durante el embarazo. Revista Médica La Paz; 21(2):60-76.
156. Dantés O, Sesma S, Becerril VM, Knaul F, Arreola H, Frenk J. (2011). Sistema de salud de México. *Salud Pública de México*; 53(2): 220-232.
157. Pérez S. Díez-Urdanivia S. (2007) Estudios sobre alimentación y nutrición en México: una mirada a través del género, *Salud pública de México*; 49:445-453.
158. Ramos R. Romero G. Reyes H. (2005) Alimentación y estado nutricional de mujeres embarazadas derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social en un área suburbana de la Ciudad de México . *Ginecol Obstet Mex*; 73:3-10.
159. Walker LO, Hoke MM, Brown A.(2009) Risk factors for excessive or inadequate gestational weight gain among Hispanic women in a US-Mexico border state. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*; 38:418-429.
160. Crane JM, White J, Murphy P, Burrage L, Hutchens D. (2009) The effect of gestational weight gain by body mass index on maternal and neonatal outcomes. *J Obstet Gynaecol Can*; 3:28-35.
161. Zonana-Nacach, Abraham, Baldenebro-Preciado, Rogelio, & Ruiz-Dorado, Marco Antonio. (2010). Efecto de la ganancia de peso gestacional en la madre y el neonato. *Salud Pública de México*; 52(3):220-225.

## 14. ANEXOS

### 14.1 CARTAS DE ACEPTACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE MEDICINA  
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"  
MORELIA, MICHOACÁN  
DR. RAFAEL CARRILLO, EDQ.  
DR. SALVADOR GONZÁLEZ  
HERREJÓN  
POSSQUE CUALITATIVO, CENTRO,  
C.P. 59000, APARTADO POSTAL 134  
[http://medic.facmed.u  
mich.mx](http://medic.facmed.u<br/>mich.mx)

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLAS DE HIDALGO  
DEPENDENCIA FACULTAD DE CIENCIAS  
MÉDICAS Y BIOLÓGICAS "DR. IGNACIO  
CHAVEZ"  
DEPTO. DE HUMANIDADES EN MEDICINA  
COMISION DE BIOETICA

Número de Registro CB/2017/IV-201

DR. MARIO MIGUEL ÁNGEL HERRERA CHAYRES.  
SECRETARIO ACADÉMICO Y  
SECRETARIO DEL COMITÉ DE INVESTIGACION  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS  
"DR IGNACIO CHÁVEZ" U.M.S.N.H.

PRESENTE.

En respuesta a su atento oficio, en relación a la solicitud de re-evaluación del proyecto de investigación titulado "DETECCIÓN DE OCRATOXINA A EN SUERO Y ESTIMACIÓN DE LA INGESTA ALIMENTARIA EN MUJERES EMBARAZADAS DEL HOSPITAL DE LA MUJER EN MORELIA", mismo que presenta la C. L.N. KAREN FABIOLA TENA ROJAS, dentro del programa de Posgrado para obtener el Título de Maestría en Ciencias de la Salud, dentro de la Facultad, me permito informarle lo siguiente:

- 1.- Siguiendo la normatividad de evaluación correspondiente, dicho proyecto fue revisado nuevamente por un miembro de la Comisión de Bioética, en este caso el Dr. José Miguel Cervantes Alfaro, cuya evaluación anexo íntegramente.
- 2.- El protocolo ha sido modificado de acuerdo con las recomendaciones emitidas, incluyendo como anexo requerido el dictamen del Comité de Investigación del Hospital de la Mujer SSA, aprobado por dicha institución. A si mismo incluye el Formato de Carta de Consentimiento informado con los membretes requeridos, con lo cual queda subsanada la recomendación.

Por lo anterior, se concluye:

Desde el punto de vista bioético: está **APROBADO** el proyecto, como trabajo de investigación dentro del programa de Posgrado de nuestra Facultad, así mismo le recuerdo que la comisión de Bioética sólo aprueba y avala los aspectos éticos, no así lo correspondiente a la aprobación por parte del comité de Investigación, en relación a metodología; por lo que solicito a Ud. tenga a bien hacer del conocimiento del Investigador Principal y Colaboradores, la presente resolución.

Morelia, Michoacán a 6 de Julio del año 2017

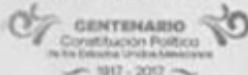
ATENTAMENTE.

DRA CAROLINA RODRÍGUEZ NAVARRO  
SECRETARIA DE LA COMISIÓN DE BIOÉTICA

c.c.p. Archivo Comisión de Bioética.  
c.c.p. Departamento de Posgrado de la Facultad.



Gobierno del Estado  
de Michoacán de Ocampo



"2017, Año del Centenario de la Constitución y de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo"

Dependencia: Secretaría de Salud  
Subdependencia: HOSPITAL DE LA MUJER  
Oficina: DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA Y CAPACITACION  
No. de Oficio: 090 /  
Expediente:

ASUNTO: CARTA DE ACEPTACION.

Morelia, Mich. a 23 de Marzo de 2017

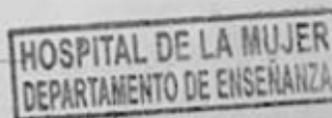
**M.C.M. DANIEL ZALAPA MARTINEZ**  
**JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS**  
**"DR. IGNACIO CHAVEZ"**

Por este conducto me permito informar a usted, que la **L.N. KAREN FABIOLA TENA ROJAS**, ha presentado el Protocolo de Investigación "Detección de ocratoxina A en suero y estimación de ingesta alimentaria en mujeres embarazadas del Hospital de la Mujer de Morelia, Michoacán" el cual ha sido aceptado para llevarse a cabo en este Hospital, ya que se han cubierto los requisitos correspondientes.

Sin más por el momento reciba un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**COORDINADOR DE INVESTIGACION**

**DR. VICTOR LLANOS ARRIAGA**



C.c.p. - Archivo / Minutario.  
VLLA/kaja\*

Al contestar este oficio, cite en los datos contenidos en el cuadro del área de control de datos.

"El contenido del presente documento es responsabilidad directa del titular del Área Administrativa que lo genera, en apego a sus atribuciones"

## 14.2 CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

### **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA**

Le invitamos a participar en un estudio donde podrá verificar si la alimentación que usted lleva, pueda conterner una toxina llamada ocratoxina A que se encuentran en algunos alimentos comunmente consumidos, y que pueden ser contaminados con esta, haciendolos perjudiciales para usted y su bebe.

#### **¿POR QUÉ? Se realiza este estudio**

La importancia de este estudio es que estas toxinas se encuentran en gran variedad de alimentos, ampliamente consumidos por la población michoacana y además se sabe que la mujer embarazada es capaz de pasarlo al bebe durante el embarazo y en la lactancia.

#### **¿PARA QUE? Se realiza este estudio**

El objetivo del estudio es evaluar si usted tiene esta toxina en su sangre, a partir de los alimentos que consume.

#### **¿CÓMO? Se realiza este estudio**

Solo necesita:

1. Donar 5 ml extras de sangre en el laboratorio (1 cucharadita)

Y esto le ayudará a saber si esta consumiendo la toxina.

2. Contestar un cuestionario sobre los alimentos que esta acostumbrado a con sumir.

3. Contestar un cuestionario médico muy sencillo .

#### **¿Qué riesgo tiene? Este estudio**

Este estudio es de mínimo riesgo, ya que para la extracción de sangre se requiere de un piquete el cual puede presentar: ligero dolor, adormecimiento de la mano por unos minutos, sensación de mareo, moretón, sangrado e infección en casos muy raros.

#### **¿Cuándo tendre los resultados?**

Los resultados se tendrán apartir del 2018, y puede consultarlos y preguntar con el responsable de investigación. Los datos serán tratados de manera confidencial y anónima, quedando disponibles a divulgación y publicación científica. *Nutriologa Karen F. Tena Rojas, Correo electrónico: l.n.karentena@gmail.com. Tel. móvil: (443) 3687844, Profesor-investigador titular: D. en C. Virginia Angélica Robinson Fuentes. Correo electrónico: vrobinsonf@hotmail.com. Tel. fijo: (443) 3120014 y Ext. 235*

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Acepto en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta carta de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Voluntaria (Nombre y Firma)

\_\_\_\_\_  
Lic.Nut.Karen F.Tena Rojas

### 14.3 CUESTIONARIO SOBRE ANTECEDENTES MÉDICOS

#### CAM

Todas las respuestas son estrictamente confidenciales

#### PARTE 1. INFORMACIÓN GENERAL

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre completo: \_\_\_\_\_

Lugar de origen: \_\_\_\_\_

País: \_\_\_\_\_

Estado del país: \_\_\_\_\_

Ciudad o comunidad: \_\_\_\_\_

Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

#### PARTE 2. ANTECEDENTES MÉDICOS

¿Consumes algún medicamento? No ( ) Si ( ) ¿Cuál?

¿Consumes algún suplemento como vitaminas? No ( ) Si ( ) ¿Cuál?

¿Consumes algún remedio? No ( ) Si ( ) ¿Cuál?

¿Dónde compra generalmente sus alimentos o despensa?

Supermercado ej. walmart ( )

Mercado local ( )

Otro: \_\_\_\_\_

¿Por qué acude al laboratorio?

\_\_\_\_\_

¿Alguna enfermedad como?

Diabetes mellitus: No ( ) Si ( )

Tension alta: No ( ) Si ( )

Colesterol alto: No ( ) Si ( )

Anemia: No ( ) Si ( )

Enfermedad del riñon: No ( ) Si ( )

Cancer: No ( ) Si ( )

¿Fuma? No ( ) Si ( ) ¿Cuánto?

¿Toma alcohol?: No ( ) Si ( ) ¿Cuánto?

Numero de embarazo: \_\_\_\_\_

Número de hijos: \_\_\_\_\_

Hijos con alguna enfermedad: \_\_\_\_\_

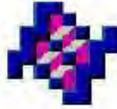
#### PARTE 3. ANTROPOMETRÍA

Peso antes del embarazo: \_\_\_\_\_ (Puede ser aproximado)

Peso actual: \_\_\_\_\_ kgs (Medir en báscula) y Peso reportado en carnet: \_\_\_\_\_ kgs

Estatura: \_\_\_\_\_ Medir en estadímetro.

14.4 CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS:



Instituto Nacional de Salud Pública  
 Centro de Salud en Investigación Poblacional  
**Cuestionario de Frecuencia de Consumo**

Nombre del Paciente \_\_\_\_\_  
 Apellido Paterno      Apellido Materno      Nombre(s)

Nombre del Entrevistador \_\_\_\_\_

Nombre del Revisor \_\_\_\_\_

No. de identificación del Paciente \_\_\_\_\_

Fecha             
 Día      Mes      Año

Edad del Paciente (en años cumplidos) \_\_\_\_\_

Durante el año previo a este día ¿Con qué frecuencia consumió usted productos lácteos?  
 Por favor indique con una cruz, en la columna de frecuencia, la opción que considere más cercana a su realidad.  
 Encuestador: Por favor llene el círculo (no lo tache) y en la columna de la derecha el número correspondiente a la frecuencia de consumo reportada.

FRECUENCIA DE CONSUMO											
	ALIMENTO PRODUCTOS LACTEOS	VECES A LA SEMANA									
		NUNCA (0)	MEN OS DE UNA VEZ AL MES (1)	VEC ES AL MES 1-3 (2)	VECES A LA SEMANA			VECES AL DIA			
					1 (3)	2-4 (4)	5-6 (5)	1 (6)	2-3 (7)	4-5 (8)	6 (9)
1	UN VASO DE LECHE ENTERA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/>
2	UNA REBANADA DE QUESO FRESCO O ½ TAZA COTTAGE	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/>
3	UNA REBANADA DE QUESO OAXACA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/>
4	UNA REBANADA DE QUESO MANCHEGO O CHIHUAHUA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/>
5	UNA CUCHARADA DE QUESO CREMA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/>
6	UNA TAZA DE YOGURTH O BULGAROS	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/>
7	UN BARQUILLO CON HELADO DE LECHE	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/>

FRECUENCIA DE CONSUMO													
	ALIMENTO FRUTAS	NUNCA (0)	MENOS DE UNA VEZ AL MES (1)	VECES AL MES (2)	VECES A LA SEMANA			VECES AL DÍA					
					1	2-4	5-6	1	2-3	4-5	6		
					(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)		
8	UN PLÁTANO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
9	UNA NARANJA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
10	UN VASO CON JUGO DE NARANJA O TORONJA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
11	UNA TRESNADA DE MELÓN	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
12	UNA MANZANA FRESCA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
13	UNA REBANADA DE SANDÍA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
14	UNA REBANADA DE PIÑA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
15	UNA REBANADA DE PAPAYA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
16	UNA PERA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
17	UN MANGO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
18	UNA MANDARINA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
19	UNA PORCIÓN DE FRUTAS (10)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
20	UN CÍTRICO CHABACANO O NECTARINA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
21	UNA PORCIÓN DE UVA (15-15)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
22	UNA UVA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
23	UNA PORCIÓN DE CRUSCANO (10)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
24	UNA REBANADA DE MAMEY	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
25	UN ZAPOTE	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>





FRECUENCIA DE CONSUMO												
ALIMENTO CEREALES	NUNCA (0)	MEN OS DE UNA VEZ AL MES (1)	VEC ES AL MES 1-3 (2)	VEC ES A LA SEM ANA			VEC ES AL DIA					
				1 (3)	2-4 (4)	5-6 (5)	1 (6)	2-3 (7)	4-5 (8)	6 (9)		
64 UNA TORTILLA DE MAIZ	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
65 TORTILLA DE TRIJO (TORTILLA DE HARINA)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
66 UNA REBANADA DE PAN DE CAJA (TIPO BIMBO)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
67 UNA REBANADA DE PAN DE CAJA INTEGRAL	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
68 UN BOLILLO O TELERA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
69 UNA PIEZA DE PAN DULCE	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
70 UN PLATO DE ARROZ	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
71 UN PLATO DE SOPA DE PASTA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
72 UN PLATO DE AVENA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
73 UN TAZON CEREAL DE CAJA (TIPO HOJUELAS DE MAIZ) ¿CUAL? _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
74 CEREAL ALTO EN FIBRA ¿CUAL? _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

FRECUENCIA DE CONSUMO												
ALIMENTO LEGUMINOSAS	NUNCA (0)	MEN OS DE UNA VEZ AL MES (1)	VEC ES AL MES 1-3 (2)	VEC ES A LA SEM ANA			VEC ES AL DIA					
				1 (3)	2-4 (4)	5-6 (5)	1 (6)	2-3 (7)	4-5 (8)	6 (9)		
59 UN PLATO DE FRIJOLES	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
60 MEDIA TAZA DE CHICHAROS	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
61 UN PLATO DE HABAS VERDES	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
62 UN PLATO DE HABAS SECAS	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
63 UN PLATO DE LENTEJAS O GARBANZOS	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

FRECUENCIA DE CONSUMO													
	ALIMENTO GOLOSINAS	NUNCA (0)	MEN OS DE UNA VEZ AL MES (1)	VEC ES AL MES (2)	VEC ES A LA SEM ANA			VEC ES AL DIA					
					1	2-4	5-6	1	2-3	4-5	6		
					(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)		
75	UNA REBANADA DE PASTEL	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
76	UNA CUCHARADITA DE ATE, MIEL, MERMELADA, CAJETA O LECHE CONDENSADA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
77	UNA CUCHARADITA DE CHOCOLATE EN POLVO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
78	UNA TABLILLA DE CHOCOLATE	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
79	UNA BOLSA DE FRITURAS	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

FRECUENCIA DE CONSUMO													
	ALIMENTO BEBIDAS	NUNCA (0)	MEN OS DE UNA VEZ AL MES (1)	VEC ES AL MES (2)	VEC ES A LA SEM ANA			VEC ES AL DIA					
					1	2-4	5-6	1	2-3	4-5	6		
					(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)		
80	UN REFRESCO DE COLA MEDIANO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
81	UN REFRESCO GASEOSO DE SABOR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
82	UN REFRESCO DIETETICO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
83	UN VASO CON AGUA DE SABOR AZUCARADA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
84	UNA TAZA DE CAFÉ SIN AZUCAR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
85	UNA TAZA DE ATOLE SIN LECHE	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
86	UNA TAZA DE ATOLE CON LECHE	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
87	UNA CERVEZA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
88	UNA COPA DE VINO DE MESA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
89	UNA BEBIDA CON RON, BRANDY O TEQUILA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

FRECUENCIA DE CONSUMO												
	ALIMENTO VERDURAS	NUNCA (0)	MEN OS DE UNA VEZ AL MES (1)	VEC ES AL MES (2)	VECES A LA SEMANA			VECES AL DIA				
					1 (3)	2-4 (4)	5-6 (5)	1 (6)	2-3 (7)	4-5 (8)	6 (9)	
90	ACEITE DE MAIZ	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
91	ACEITE DE SOYA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
92	ACEITE DE GIRASOL	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
93	ACEITE DE CARTAMO	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
94	ACEITE DE OLIVA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
95	UNA CUCHARADITA DE MARGARINA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
96	UNA CUCHARADITA DE MANTEQUILLA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
97	UNA CUCHARADITA DE CREMA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
98	UNA CUCHARADITA DE MAYONESA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
99	UNA CUCHARADITA DE MANTECA VEGETAL	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
100	UNA CUCHARADITA DE MANTECA ANIMAL	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		FRECUENCIA DE CONSUMO													
ALIMENTO		NUNCA (0)	MEN OS DE UNA VEZ AL MES (1)	VEC ES AL MES 1-3 (2)	VECES A LA SEMANA			VECES AL DIA							
ANTOJITOS					1 (3)	2-4 (4)	5-6 (5)	1 (6)	2-3 (7)	4-5 (8)	6 (9)				
101	UN TACO AL PASTOR	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
102	UN SOPE O QUESADILLA	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
103	UN PLATO CON POZOLE	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
104	UN TAMAL	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

¿Cuántas cucharaditas de azúcar le agrega usted a sus alimentos, a lo largo del día? Tome en cuenta lo que le pone al café, licuado, etc.  
\_\_\_\_\_ cucharaditas.

¿Le agrega usted sal a sus alimentos antes de probarlos?

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

¿Se come usted el pellejo del pollo?

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

¿Se come usted el gordito de la carne?

Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

¿Cuántos meses del año pasado consumió usted vitaminas?

0	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12

¿Cuál o cuáles? \_\_\_\_\_

¿Cuántos meses del año pasado consumió usted suplemento de calcio?

0	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12

¿Cuál o cuáles? \_\_\_\_\_

¿Considera usted que su alimentación ha cambiado durante el último año?

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ (Si, sí ha cambiado, preguntar.)

¿Porqué? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Observaciones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## 14HEV.5 FUNDAMENTO DE LA PRUEBA ELISA “KIT HELIKA”

### *Fundamento de la Prueba*

El Helica Ochratoxin A Serum / milk Assay es un inmunoensayo enzimático directo de fase sólida. Un anticuerpo con alta afinidad a Ocratoxina A, recubre los micropocillos de poliestireno. El estándar o muestra se agrega al pocillo apropiado y si está presente Ocratoxina A de la muestra, ésta se unirá al anticuerpo recubierto. Posteriormente, se agrega el conjugado de Ocratoxina A unida a peroxidasa de rábano (HRP) esta, se une al anticuerpos que no fueron ocupados por la Ocratoxina A del estándar o de la muestra.

Después de este período de incubación, los contenidos de los pocillos se decantan, se lavan y se agrega sustrato de HRP que desarrolla un color azul en presencia de enzima.

La intensidad del color dependerá de la cantidad de conjugado OTA + HRP e inversamente proporcional a la cantidad de Ocratoxina A en el estándar o muestra ya que a medida que aumenta la concentración de Ocratoxina A en la muestra o estándar, la intensidad del color azul disminuirá o en su defecto aumentará si la cantidad de Ocratoxina A de la muestra es poca. La reacción se detiene mediante la adición de una solución ácida que hace que el color azul cambie a amarillo.