

Presencia de micotoxinas y estimación del riesgo de ingesta en cereales comerciales para bebe en el Área Metropolitana de Asunción

Presence of mycotoxins and estimation of the intake risk in commercial baby cereals in the Metropolitan Area of Asuncion

Andrea Alejandra Arrua^{1,2*}, Pablo David Arrua¹, Francisco Paulo Ferreira^{1,2}, Juliana Moura¹, Cinthia Casal^{1,2}, Horacio López Nicora³, Man Mohan Kohli⁴, Danilo Fernández Rios²

¹Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas - CEMIT-DGICT-UNA, San Lorenzo, Paraguay.

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - FACEN, UNA, San Lorenzo, Paraguay.

³Universidad San Carlos, Asunción, Paraguay.

⁴Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas - CAPECO, Asunción - Paraguay

*Autor para correspondencia (aaarrua@gmail.com)

Recibido: 14/11/2019 Aceptado: 20/12/2019

RESUMEN

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por ciertas especies de hongos filamentosos que producen síndromes llamados micotoxicosis, los cuales en casos extremos pueden llevar a la muerte, y que pueden contaminar los alimentos en todas las etapas de la cadena productiva, por lo cual su manejo se hace extremadamente difícil. Se considera un problema de salud pública global, sobre todo en poblaciones vulnerables como los bebés. Por esta razón se han establecido valores máximos de micotoxinas permisibles en alimentos a través de legislaciones internacionales. Paraguay no cuenta con legislaciones ni datos referentes a la presencia de micotoxinas en alimentos para bebé, por lo cual el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de micotoxinas en alimentos comerciales a base de cereales para bebe y estimar su riesgo de ingesta. Se cuantificaron las micotoxinas mediante el test de ELISA y se evaluó el riesgo de ingesta. Se detectó la presencia de aflatoxinas en 1,6% de las muestras analizadas superando el valor establecido por las legislaciones internacionales como la europea, con una concentración de (1,33 µg/kg). La estimación del riesgo supera el valor recomendado para las aflatoxinas.

Palabras clave: aflatoxinas, inocuidad alimentaria, Paraguay, salud.

ABSTRACT

Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by certain species of filamentous fungi that produce syndromes called mycotoxicosis, which in extreme cases can lead to death, and which can contaminate food at all stages of the production chain, making them extremely difficult to manage. They are considered a global public health problem, especially in vulnerable populations such as infants. For this reason, maximum permissible values for mycotoxins in food have been established through international legislation. Paraguay does not have legislation or data concerning the presence of mycotoxins in baby food. Therefore, the objective of this work was to determine the presence of mycotoxins in commercial cereal-based baby foods and to estimate of their intake risk. Mycotoxins were quantified by the ELISA test and the intake risk was evaluated. The presence of aflatoxins was detected in 1.6% of the analyzed samples, exceeding the value established by international legislations, with a concentration of 1,33 µg/kg) like European Union. The risk estimate exceeds the recommended value for aflatoxins.

Keywords: aflatoxins, food safety, Paraguay, health.

INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son parte del metabolismo secundario de varias especies de hongos filamentosos que crecen de manera frecuente en alimentos. Tienen efectos tóxicos en la salud humana, y pueden provocar síndromes llamados micotoxicosis (Maresca 2013). Son capaces de contaminar una gran cantidad de matrices alimentarias en cualquier eslabón de la cadena agroalimentaria, desde el campo, incluyendo a la industria hasta el anaquel, y es este hecho el que hace el manejo del riesgo que representan extremadamente complejo (Kumar *et al.* 2017). Los síntomas asociados a las micotoxicosis varían dependiendo del tipo de toxina, la cantidad ingerida, el periodo de exposición, la edad, estado de salud de los consumidores, entre otros factores. Por este motivo, se han establecido límites de ingesta diaria tolerable (IDT) de las diferentes micotoxinas reportadas hasta la actualidad (WHO 2019). Debido a esto se considera que las micotoxinas representan un problema de salud pública global, en particular para poblaciones vulnerables como los bebés y niños (Lombard 2014, Giorni *et al.* 2011, Gummadidala *et al.* 2019). Cereales, frutas, entre otros productos son altamente susceptibles a la contaminación con micotoxinas, en especial en países tropicales como Paraguay, donde las condiciones ambientales (humedad y temperatura) favorecen el crecimiento de los hongos micotoxigénicos. Se deben extremar los cuidados a lo largo del proceso de fabricación y vida de anaquel de estos productos, ya que el manejo inadecuado podría incrementar las posibilidades de contaminación (Aidoo *et al.* 2011, Kannan 2016). A pesar de la gran cantidad de estudios sobre la presencia de micotoxinas en diferentes matrices de alimentos (Vaclavik *et al.* 2010, Karaca *et al.* 2010, Soleimany *et al.* 2012, Van de Perre *et al.* 2014, Ashiq 2015, Yang *et al.* 2014, Alshannaq y Yu 2017, Matumba *et al.* 2017), pocos estudios se han enfocado en la presencia de micotoxinas en alimentos infantiles; y en ellos se indica que las micotoxinas más comunes en estos productos son las aflatoxinas (AF), ocratoxina A(OTA), y tricotecenos (Baydar *et al.* 2007, Bakker *et al.* 2009, Al-Taher *et al.* 2017, Bogalho *et al.* 2018, Alamu *et al.* 2018). Las AF son derivadas de las difuranocumarinas. Las intoxicaciones por AF pueden ser directas por ingestión, o indirectas a través de sus metabolitos derivados. Son clasificadas como carcinogénicas en humanos por el IARC, y pueden contaminar diferentes tipos de sustratos alimenticios que incluyen a cereales, oleaginosas, y sus derivados (Kumar *et al.* 2017, Coppock y Christian 2007, IARC 1993).

En bebés el efecto de las AF se ha relacionado a varios problemas que incluyen retraso en el crecimiento

infantil, aunque con reportes contradictorios (Chen *et al.* 2018, Mitchell *et al.* 2017, 2017); incremento de la susceptibilidad a enfermedades infecciosas (Turner *et al.* 2000), cirrosis (Amla *et al.* 1971); reducción de la eficiencia de la inmunización (Hendrickse 1997, Raiola *et al.* 2015). La exposición a las AF incrementa la probabilidad de desarrollar enfermedad de Kwasiorkor en niños (Khlangwiset *et al.* 2011). OTA es un derivado de la fenilalanina y ha sido reportada en diversos sustratos que incluyen cereales, frutas y sus derivados (Bezerra da Rocha *et al.* 2014). Actualmente el IARC la clasifica como posible carcinógeno en humanos (IARC 1993). OTA se ha relacionado con diversos desórdenes y enfermedades del sistema urinario como nefropatías y tumores, incluyendo a niños pequeños (Heussner y Bingle 2015, Zhu *et al.* 2017, Raiola *et al.* 2015, Skaug 1999). Se ha detectado la presencia de OTA en orina, riñones, sangre y leche humana (Malir *et al.* 2016). Dentro de las micotoxinas producidas por *Fusarium* se encuentran los tricotecenos de los tipos A y B, la toxina T-2, el deoxinivalenol (DON), las fumonisinas (FUM) y la zearalenona (ZEA). Los tricotecenos son un grupo de sesquiterpenoides reportados en cereales y derivados (Pinotti *et al.* 2016, Escrivá *et al.* 2015, Zain 2011). Los tricotecenos del tipo A y B son clasificados como no carcinogénicos por el IARC (IARC 1993).

Los tricotecenos del tipo A, que incluyen a la toxina T-2, se han relacionado con necrosis del tejido mieloide de los órganos viscerales (Piacentini *et al.* 2019). Los tricotecenos del tipo B, que incluyen al DON, son hepatotóxicos, y poseen efectos sobre el sistema inmune y gastrointestinal (Escrivá *et al.* 2015, Zain 2011, McCormick *et al.* 2011, Pestka 2007, Pestka *et al.* 2004). En niños, el DON se ha relacionado a problemas gastrointestinales, vómito y calambres estomacales (Raiola *et al.* 2015, Pestka *et al.* 2004). Las FUM son clasificadas por el IARC como probablemente carcinógenas en humanos (IARC 1993). Estas micotoxinas poseen efectos nefrotóxicos y hepatotóxicos (Marroquín-Cardona *et al.* 2014, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 2002). En niños y bebés se han relacionado a retraso en el crecimiento (Chen *et al.* 2018, Kimanya *et al.* 2010). La ZEA está clasificada por el IARC como probable carcinógeno en humanos (IARC 1993). Se ha relacionado con problemas asociados al sistema endocrino, posee efectos estrogénicos, pero el mayor efecto se presenta en el sistema reproductivo, ya que produce hiperestrogenismo. Afecta el crecimiento y desarrollo, causando un adelantamiento de la pubertad, crecimiento del pecho entre otros efectos (Kuiper-Goodman 1991, Sherif *et al.* 2009). Debido a los efectos de las micotoxinas en la salud humana, se han

establecido regulaciones sobre los niveles máximos permitidos en las materias primas alimenticias y sus derivados, sin embargo Paraguay no cuenta con regulaciones sobre la presencia de estos compuestos en alimentos infantiles. Establecer legislaciones que protejan a los bebés es de extrema importancia debido a que se consideran una población vulnerable debido a la relación entre su peso e ingesta y su dieta restringida (Sherif *et al.* 2009, IARC 2015) y a que su sistema inmune no se encuentra aun completamente desarrollado (Schwartz 2004). Otro aspecto importante a considerar es que los niños de un año son especialmente vulnerables debido a que su actividad enzimática, y por ende la habilidad de degradar estos compuestos, es menor (Raiola *et al.* 2015). Considerando los riesgos que representan a la salud humana, sobre todo de los bebés, el objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia, concentración y estimación de la ingesta de AF, OTA, FUM, DON, toxina T-2 y ZEA en alimentos comerciales a base de cereales para bebé en el Área Metropolitana a la ciudad de Asunción, Paraguay. Esta región cuenta con una población aproximada de 1.200.000 habitantes y constituye una de las áreas más pobladas del país (DGEEC 2015).

MATERIALES Y METODOS

Colecta de muestras

Las muestras se adquirieron durante el mes de enero de 2018 de supermercados y farmacias de las ciudades de Asunción, San Lorenzo, Luque, Fernando de la Mora y Mariano Roque Alonso siguiendo el método de muestreo no probabilístico. Se analizaron sesenta y dos muestras de cereales para lactantes de dos diferentes fabricantes: Cereal a base de arroz (n=11), 5 cereales (n=10), multicereal con ciruela (n=10), cereal con trigo y fruta (n=10), cereal con trigo y leche (n=10) y cereal con trigo y miel (n=10). Cada paquete fue considerado una unidad de análisis (Tabla 1).

Producto	Número de cereales
Cereal con arroz	11
5 Cereales	11
Multi cereal con ciruela	10
Cereal de trigo y frutas	10
Cereal de trigo y leche	10
Cereal de trigo y miel	10
Total de muestras	62

Extracción y cuantificación de micotoxinas

La extracción de micotoxinas se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante para cada micotoxina específica.

DON

Se pesaron 20 g de la muestra de cereal y fueron colocados en un matraz limpio; posteriormente se agregaron 100 mL de agua destilada. El matraz se agitó vigorosamente por 3 minutos y la solución fue filtrada a través de un filtro de papel Whatman #1. El filtrado fue colectado y el pH ajustado a 7. El filtrado se diluyó en una proporción 1:4 con agua destilada.

OTA

Se pesaron 20 g de la muestra de cereal y fueron colocados en un matraz limpio; posteriormente se agregaron 100 mL de 70/30 (v/v) etanol/agua destilada. El matraz se agitó vigorosamente por 3 minutos y la solución fue filtrada a través de un filtro de papel Whatman #1. El filtrado fue colectado.

Toxina T-2

Se pesaron 20 g de la muestra de cereal y fueron colocados en un matraz limpio; posteriormente se agregaron 100 mL de 70/30 (v/v) etanol/agua destilada. El matraz se agitó vigorosamente por 3 minutos y la solución fue filtrada a través de un filtro de papel Whatman #1. El filtrado fue colectado y el pH ajustado a 7. El filtrado se diluyó en una proporción 1:10 con agua destilada.

ZEA

Se pesaron 20 g de la muestra de cereal y fueron colocados en un matraz limpio; posteriormente se agregaron 100 mL de 70/30 (v/v) etanol/agua destilada. El matraz se agitó vigorosamente por 3 minutos y la solución fue filtrada a través de un filtro de papel Whatman #1. El filtrado fue colectado y el pH ajustado a 7. El filtrado se diluyó en una proporción 1:5 con 70% de metanol.

FUM

Se pesaron 20 g de la muestra de cereal y fueron colocados en un matraz limpio; posteriormente se agregaron 100 mL de 70/30 (v/v) etanol agua destilada. El matraz se agitó vigorosamente por 3 minutos y la solución fue filtrada a través de un filtro de papel Whatman #1. El filtrado fue colectado y el pH ajustado a 7. El filtrado se diluyó en una proporción 1:20 con 70% de agua destilada.

AF

Se pesaron 20 g de la muestra de cereal y fueron colocados en un matraz limpio; posteriormente se agregaron 100 mL de 70/30 (v/v) etanol/agua destilada. El matraz se agitó vigorosamente por 3 minutos y la solución fue filtrada a través de un filtro de papel Whatman #1. El filtrado fue colectado.

La cuantificación de micotoxinas se realizó utilizando los kits AgraQuant® ELISA Aflatoxin 4-40 ppb (Romer Labs 2019); AgraQuant® ELISA DON 250-5000 ppb (Romer Labs 2019); AgraQuant® ELISA Ochratoxin A 2 - 40 ppb (Romer Labs 2019); AgraQuant® ELISA T-2 Toxin 2 - 500 ppb (Romer Labs 2019); AgraQuant® ELISA Fumonisin 0,25 - 5 ppm (Romer Labs 2019); AgraQuant® Zearalenone 40 - 1000 ppb (Romer Labs 2019).

Análisis estadístico

Para el análisis se consideraron sólo las muestras positivas. Se utilizó el programa R, versión 3.5.1 (R Core Team 2018). El análisis de varianza (ANOVA) se realizó utilizando un modelo lineal general en el paquete de estadísticas para la concentración variable de micotoxinas. Se realizaron ANOVA por separado para cada variable dependiente (concentración de micotoxinas, estimación de t) evaluando las variables independientes correspondientes (marcas, edad, tipo de alimento, etc.). La prueba de diferencia honestamente significativa de Tukey se utilizó para la separación media entre tratamientos ($\alpha = 0,05$). Los paquetes R utilizados en los análisis incluyeron: “estadísticas”, “ggplot2” y “verso ordenado (Wickham 2009).

Estimación de la ingesta diaria de micotoxinas

Se consideró la siguiente fórmula (Gummadidala *et al.* 2019, Bol *et al.* 2016, Piacentini *et al.* 2015, Adetunji *et al.* 2017):

$$EDI = (\mu x C \times Cc) / Bw$$

EDI= estimación de la ingesta diaria de micotoxinas en microgramos por kilogramo de peso corporal por día.

$\mu x C$: medida de la concentración de la micotoxina estudiada (AF, OT, DON, FUM, ZEA $\mu g/kg$)

Cc : cantidad de ingesta diaria (kg/día)

Bw : media del peso corporal de la población estudiada (kg).

Se consideró una población de 6 a 12 meses de edad. 7,5 kg para niñas de 0 a 6 meses y 8 kg para niños; 9 kg para niños de 6 a 12 meses y 9,5 kg para niños (Adetunji *et al.* 2017).

Se consideró un consumo de 80 g de cereales por día para bebés de 6 meses en adelante (Herrera *et al.* 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presencia de micotoxinas en cereales para bebé

Del total de todas las muestras analizadas solo un 1,6% (muestra a base de cereal de arroz) resultó positiva para AF con una concentración de 1,3 $\mu g/kg$ (EC 2006). No fue detectada la presencia de OTA, FUM, DON, toxina T-2 y ZEA con la metodología utilizada en este trabajo.

Estimación de la ingesta diaria de micotoxinas

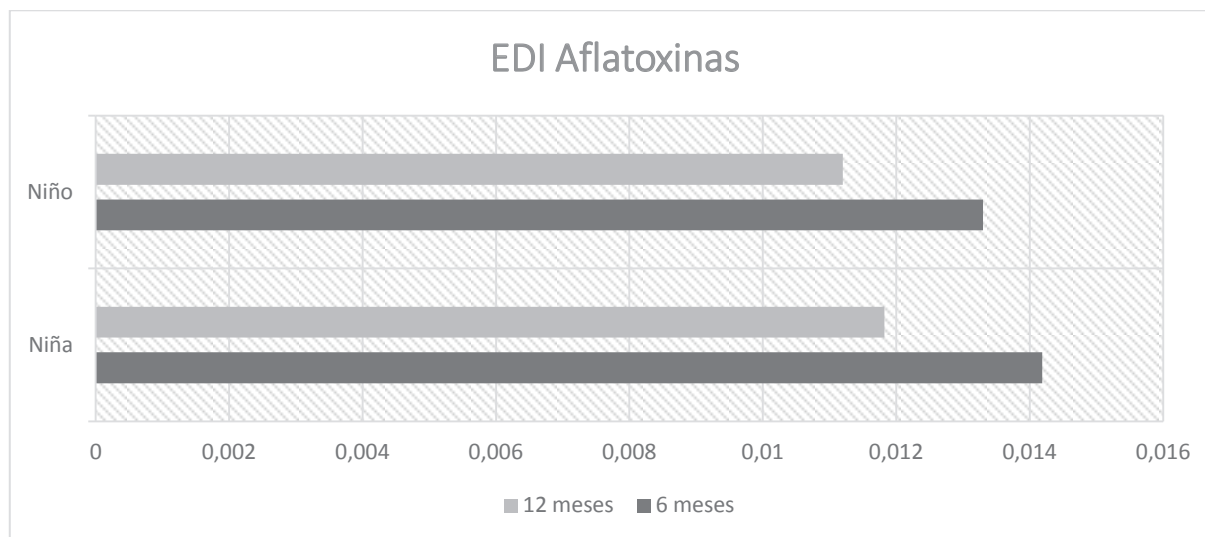


Figura 1. EDI de AF asociado al consumo de cereal a base de arroz para niños y niñas de 6 a 12 meses de edad.

La EDI es mayor para las niñas que para los niños, y mayor para las niñas de 6 meses al compararlas con las de 12 meses. Tanto en niñas como en niños, la EDI para las AF es superior a la IDT recomendada de 0,013105 ng/kg de peso corporal/por día (Figura 1) (Sirot *et al.* 2013, JEFCA 1998).

En este estudio se detectó la presencia de AF en cereales a base de arroz. Es de suma importancia considerar que los niños son tres veces más sensibles a la contaminación con micotoxinas que los adultos (Cristina *et al.* 2014).

Desafortunadamente las contaminaciones con

micotoxinas son cada vez más frecuentes, especialmente en países tropicales, donde las condiciones ambientales favorecen el crecimiento y desarrollo de los hongos productores de micotoxinas, por tanto es crucial el monitoreo de la presencia de micotoxinas en alimentos (Ware *et al.* 2016, Arrúa *et al.* 2019).

En 2018, un estudio realizado con 50 productos a base de cereales para bebé determinó que el 72% se encontraba contaminado con AF y el 96% excedía el límite máximo permitido por la Unión Europea de 1 µg/kg (Blankson y Ofosu 2018).

En nuestro estudio, sólo un tipo de producto presentó contaminación con AF: el cereal a base de arroz. Trabajos previos han demostrado que las AF son las micotoxinas presentes con mayor frecuencia y mayores concentraciones en cereales a base de arroz y maíz. En Irán, AF fue detectada en 90% de los cereales a base de arroz (Mottaghianpour *et al.* 2017).

Mediante la técnica de HPLC analizando 60 muestras de alimentos comerciales infantiles, Herrera y colaboradores, en 2019, determinaron que el 20% de las muestras presentaron contaminación con AF; si se consideran las estrictas regulaciones de la Unión Europea este valor es alto. Estos autores mencionan que las AF presentaron concentraciones más altas en productos a base de arroz y maíz (Herrera *et al.* 2019).

En 2011, se verificaron alimentos para bebé comercializados en el Norte de África en función a la contaminación con hongos y AF, y los resultados demostraron que 2,4% de las muestras presentaron contaminación con AF en niveles de entre 7 y 19 µg/kg (Lombard 2014), los cuales fueron superiores al valor de 1,33 µg/kg determinado en Paraguay. El PDI obtenido por estos autores fue de 1,9 µg/kg, superior al obtenido en Paraguay, sin embargo, en ambos casos se supera el valor de IDT recomendado de 0,013 x 105 ng/kg/peso corporal /día para las AF (Sirot *et al.* 2013, JEFCA 1998).

En niños, los efectos de las AF se han relacionado a problemas del sistema inmune, incremento de la susceptibilidad a infecciones, fallos en la inmunización, infecciones respiratorias, problemas de crecimiento y lesiones del hígado (Sherif *et al.* 2009).

Las AF son carcinógenas para humanos, por tanto se asume que no existe en realidad una cantidad mínima recomendable a ser ingerida y por tanto IDT que pueda ser establecida (Herrera *et al.* 2019).

Sin embargo, evitar la ingesta puede no ser posible con carcinógenos de origen natural, como las

aflatoxinas que pueden estar muy extendidas en muchos alimentos. Por lo tanto, es deseable reducir la exposición a carcinógenos a un nivel tan bajo como sea razonablemente posible (principio ALARA) (Strauss y Kaste 2006), al tiempo que reconoce que “la exposición cero es imposible”. El monitoreo del contenido de esta toxina en los alimentos, por lo tanto, debe tener alta prioridad. En Paraguay no existen estadísticas sobre el consumo de cereales infantiles comerciales o enfermedades directamente relacionadas con el consumo de AF. Esta falta de datos dificulta la correlación de la contaminación de los alimentos con las consecuencias para la salud. Teniendo en cuenta las numerosas enfermedades graves relacionadas con la contaminación de los alimentos con AF, como el cáncer, es crucial garantizar medidas de seguridad alimentaria, especialmente para los bebés.

Los resultados de este estudio proveen evidencia acerca de la presencia y exposición al riesgo de AF en cereales comerciales para bebé que se comercializan en Paraguay. Nuestros resultados destacan la necesidad de que los productores y las industrias apliquen medidas que prevengan y reduzcan la contaminación por micotoxinas de las materias primas utilizadas en la producción de alimentos infantiles con medidas para controlar los niveles de micotoxinas a través de sus procedimientos HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) para prevenir y reducir la contaminación de las materias primas utilizadas para la fabricación de alimentos para bebés y lactantes.

El estudio de las diferentes cadenas de producción relacionadas con la fabricación de estos alimentos y la detección de los puntos críticos de en los que puede ocurrir la contaminación con micotoxinas y hongos productores de micotoxinas son cruciales (Pitt *et al.* 2013).

Otro punto prioritario es el establecimiento de legislaciones que determinen los niveles máximos de micotoxinas en alimentos comerciales para bebé, y el desarrollo de un programa coordinado de vigilancia y monitoreo que garantice el cumplimiento de las regulaciones.

CONCLUSIONES

Se detectó la presencia de AF en el 1,6% de las muestras de cereales analizadas, siendo la concentración de la micotoxina superior a la recomendada por la legislación internacional.

La muestra contaminada con AF fue el cereal a base de arroz.

La EDI determinada en este estudio supera el valor de EDI recomendado para AF.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adetunji, MC; Atanda, OO; Ezekiel, CN. 2017. Risk Assessment of Mycotoxins in Stored Maize Grains Consumed by Infants and Young Children in Nigeria (en línea). *Children* 4(7):58. DOI: <https://doi.org/10.3390/children4070058>.
- Aidoo, KE; Mohamed, SM; Candlish, AA; Tester, RF; Elgerbi, AM. 2011. Occurrence of Fungi and Mycotoxins in Some Commercial Baby Foods in North Africa (en línea). *Food and Nutrition Sciences* 02(07):751-758. DOI: <https://doi.org/10.4236/fns.2011.27103>.
- Al-Taher, F; Cappozzo, J; Zweigenbaum, J; Lee, HJ; Jackson, L; Ryu, D. 2017. Detection and quantitation of mycotoxins in infant cereals in the U.S. market by LC-MS/MS using a stable isotope dilution assay (en línea). *Food Control* 72:27-35. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.027>.
- Alamu, EO; Gondwe, T; Akello, J; Sakala, N; Munthali, G; Mukanga, M; Maziya-Dixon, B. 2018. Nutrient and aflatoxin contents of traditional complementary foods consumed by children of 6-24 months (en línea). *Food Science & Nutrition* 6(4):834-842. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.621>.
- Alshannaq, A; Yu, J-H. 2017. Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food (en línea). *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(6):632. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph14060632>.
- Amla, I; Kamala, CS; Gopalakrishna, GS; Jayaraj, AP; Sreenivasamurthy, V; Parpia, HA. 1971. Cirrhosis in children from peanut meal contaminated by aflatoxin. *American Journal of Clinical Nutrition* 24(6):609-614. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/24.6.609>.
- Arrúa, AA; Arrúa, PD; Mendes, JM; Ferreira, FP; Fernández Ríos, D; Ulke, MG; Quezada, MY; Moreno Lara, J; Casal, C; Pereira, MB; Mellid, M; Peralta López, I; Kholi, MM. 2019. Presencia de micotoxinas en preparados y colados comerciales para lactantes en el área metropolitana de Asunción, Paraguay (en línea). *Pediatría (Asunción)* 46(2):97-102. DOI: <https://doi.org/10.31698/ped.46022019005>.
- Ashiq, S. 2015. Natural Occurrence of Mycotoxins in Food and Feed: Pakistan Perspective (en línea). *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14(2):159-175. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12122>.
- Bakker, G; Sizoo, E; Jekel, A; Pereboom-de Fauw, DP; Schothorst, R; van Egmond, H. 2009. Determination of mean daily intakes of aflatoxin B 1 , aflatoxin M 1 , ochratoxin A, trichothecenes and fumonisins in 24-hour diets of children in the Netherlands (en línea). *World Mycotoxin Journal* 2(4):451-459. DOI: <https://doi.org/10.3920/WMJ2009.1167>.
- Baydar, T; Erkekoğlu, P; Sipahi, H; Sahin, G. 2007. Aflatoxin B1, M1 and Ochratoxin A Levels in Infant Formulae and Baby Foods Marketed in Ankara, Turkey. *Journal of Food and Drug Analysis* 15(1):89-92.
- Bezerra da Rocha, M; Freire, F da CO; Erlan Feitosa Maia, F; Izabel Florindo Guedes, M; Rondina, D. 2014. Mycotoxins and their effects on human and animal health (en línea). *Food Control* 36(1):159-165. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.021>.
- Blankson, GK; Ofosu, IW. 2018. Survey of Occurrence levels of Aflatoxins in selected locally processed cereal-based foods for human consumption from Ghana. *Food Control* . DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.005>.
- Bogalho, F; Duarte, S; Cardoso, M; Almeida, A; Cabeças, R; Lino, C; Pena, A. 2018. Exposure assessment of Portuguese infants to Aflatoxin M1 in breast milk and maternal social-demographical and food consumption determinants. *Food Control* 90:140-145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.043>.
- Bol, EK; Araujo, L; Veras, FF; Welke, JE. 2016. Estimated exposure to zearalenone, ochratoxin A and aflatoxin B1 through the consume of bakery products and pasta considering effects of food processing (en línea). *Food and Chemical Toxicology* 89:85-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.01.013>.
- Chen, C; Riley, RT; Wu, F. 2018. Dietary Fumonisin and Growth Impairment in Children and Animals: A Review (en línea). *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17(6):1448-1464. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12392>.
- Coppock, RW; Christian, RG. 2007. Aflatoxins (en línea). s.l., Elsevier. p. 939-950 DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-012370467-2/50172-3>.
- Cristina, J; Raiola, A; Mañes, J; Ritieni, A. 2014. Presence of mycotoxin in commercial infant formulas and baby foods from Italian market. *Food Control* 39(1):227-236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.10.036>.

- DGEEC. 2015. Paraguay: Proyección de la población por sexo y edad, según distrito, 2000-2025 (en línea). Revisión 2. Asunción, Paraguay, Dirección General de Estadística, Encuestas y Censos de la Secretaría Técnica de Planificación de la Presidencia de la República. 583 p. Disponible en https://www.dgeec.gov.py/Publicaciones/Biblioteca/proyeccion_nacional/Proyeccion_Distrital.pdf.
- EC. 2006. Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. 1881/2006. s.l., European Commission Regulation.
- Escrivá, L; Font, G; Manyes, L. 2015. In vivo toxicity studies of fusarium mycotoxins in the last decade: A review (en línea). *Food and Chemical Toxicology* 78:185-206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.02.005>.
- Giorni, P; Magan, N; Pietri, A; Battilani, P. 2011. Growth and aflatoxin production of an Italian strain of *Aspergillus flavus*: influence of ecological factors and nutritional substrates (en línea). *World Mycotoxin Journal* 4(4):425-432. DOI: <https://doi.org/10.3920/WMJ2011.1300>.
- Gummadidala, PM; Omebeyinje, MH; Burch, JA; Chakraborty, P; Biswas, PK; Banerjee, K; Wang, Q; Jesmin, R; Mitra, C; Moeller, PDR; Scott, GI; Chanda, A. 2019. Complementary feeding may pose a risk of simultaneous exposures to aflatoxin M1 and deoxynivalenol in Indian infants and toddlers: Lessons from a mini-survey of food samples obtained from Kolkata, India (en línea). *Food and Chemical Toxicology* 123:9-15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.006>.
- Hendrickse, RG. 1997. Of sick turkeys, kwashiorkor, malaria, perinatal mortality, heroin addicts and food poisoning: research on the influence of aflatoxins on child health in the tropics (en línea). *Annals of Tropical Medicine And Parasitology* 91(7):787-794. DOI: <https://doi.org/10.1080/00034989760545>.
- Herrera, M; Bervis, N; Carramiñana, JJ; Juan, T; Herrera, A; Ariño, A; Lorán, S. 2019. Occurrence and Exposure Assessment of Aflatoxins and Deoxynivalenol in Cereal-Based Baby Foods for Infants (en línea). *Toxins* 11(3):150. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11030150>.
- Heussner, A; Bingle, L. 2015. Comparative Ochratoxin Toxicity: A Review of the Available Data (en línea). *Toxins* 7(10):4253-4282. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins7104253>.
- IARC. 1993. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. Lyon, International Agency for Research on Cancer, vol.56, (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans).
- _____. 2015. Effects of aflatoxins and fumonisins on child growth (en línea). In Wild, CP; Miller, JD; Groopman, JD (eds.). Lyon, International Agency for Research on Cancer. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK350566/>.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2002. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. (en línea). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans 82:1-556. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12687954>.
- JEFCA. 1998. Evaluations of Certain Food Additives and Contaminants (en línea). WHO Foodad. Geneva, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization. Disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42092>.
- Kannan, K. 2016. Occurrence of Mycotoxins under Changing Climatic Conditions 12. (Dohlmán 2003).
- Karaca, H; Velioglu, YS; Nas, S. 2010. Mycotoxins: contamination of dried fruits and degradation by ozone (en línea). *Toxin Reviews* 29(2):51-59. DOI: <https://doi.org/10.3109/15569543.2010.485714>.
- Khlangwiset, P; Shephard, GS; Wu, F. 2011. Aflatoxins and growth impairment: A review. *Critical Reviews in Toxicology* 41(9):740-755. DOI: <https://doi.org/10.3109/10408444.2011.575766>.
- Kimanya, ME; De Meulenaer, B; Roberfroid, D; Lachat, C; Kolsteren, P. 2010. Fumonisin exposure through maize in complementary foods is inversely associated with linear growth of infants in Tanzania (en línea). *Molecular Nutrition & Food Research* 54(11):1659-1667. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900483>.
- Kuiper-Goodman, T. 1991. Risk assessment to humans of mycotoxins in animal-derived food products. (en línea). *Veterinary and human toxicology* 33(4):325-32; discussion 332-3. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1832797>.
- Kumar, P; Mahato, DK; Kamle, M; Mohanta, TK; Kang, SG. 2017. Aflatoxins: A Global Concern for Food Safety, Human Health and Their Management (en línea). *Frontiers in Microbiology* 07. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02170>.

- Lombard, MJ. 2014. Mycotoxin Exposure and Infant and Young Child Growth in Africa: What Do We Know? (en línea). *Annals of Nutrition and Metabolism* 64(s2):42-52. DOI: <https://doi.org/10.1159/000365126>.
- Malir, F; Ostry, V; Pfohl-Leszkowicz, A; Malir, J; Toman, J. 2016. Ochratoxin A: 50 years of research. *Toxins* 8(7):12-15. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins8070191>.
- Maresca, M. 2013. From the Gut to the Brain: Journey and Pathophysiological Effects of the Food-Associated Trichothecene Mycotoxin Deoxynivalenol (en línea). *Toxins* 5(4):784-820. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins5040784>.
- Marroquín-Cardona, AG; Johnson, NM; Phillips, TD; Hayes, AW. 2014. Mycotoxins in a changing global environment – A review (en línea). *Food and Chemical Toxicology* 69:220-230. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.04.025>.
- Matumba, L; Van Poucke, C; Njumbe Ediage, E; De Saeger, S. 2017. Keeping mycotoxins away from the food: Does the existence of regulations have any impact in Africa? (en línea). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57(8):1584-1592. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.993021>.
- McCormick, SP; Stanley, AM; Stover, NA; Alexander, NJ. 2011. Trichothecenes: From Simple to Complex Mycotoxins (en línea). *Toxins* 3(7):802-814. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins3070802>.
- Mitchell, NJ; Hsu, H-H; Chandyo, RK; Shrestha, B; Bodhidatta, L; Tu, Y-K; Gong, Y-Y; Egner, PA; Ulak, M; Groopman, JD; Wu, F. 2017. Aflatoxin exposure during the first 36 months of life was not associated with impaired growth in Nepalese children: An extension of the MAL-ED study (en línea). *PLOS ONE* 12(2):e0172124. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172124>.
- Mitchell, NJ; Riley, RT; Egner, PA; Groopman, JD; Wu, F. 2017. Chronic aflatoxin exposure in children living in Bhaktapur, Nepal: Extension of the MAL-ED study (en línea). *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 27(1):106-111. DOI: <https://doi.org/10.1038/jes.2015.87>.
- Mottaghianpour, E; Nazari, F; Mehrasbi, MR; Hosseini, MJ. 2017. Occurrence of aflatoxin B1 in baby foods marketed in Iran. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97(9):2690-2694. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8092>.
- Van de Perre, E; Deschuyffeleer, N; Jacxsens, L; Vekeman, F; Van Der Hauwaert, W; Asam, S; Rychlik, M; Devlieghere, F; De Meulenaer, B. 2014. Screening of moulds and mycotoxins in tomatoes, bell peppers, onions, soft red fruits and derived tomato products (en línea). *Food Control* 37:165-170. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.034>.
- Pestka, JJ. 2007. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks (en línea). *Animal Feed Science and Technology* 137(3-4):283-298. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.006>.
- Pestka, JJ; Zhou, H-R; Moon, Y; Chung, YJ. 2004. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox (en línea). *Toxicology Letters* 153(1):61-73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.023>.
- Piacentini, KC; Ferranti, LS; Pinheiro, M; Bertozzi, BG; Rocha, LO. 2019. Mycotoxin contamination in cereal-based baby foods (en línea). *Current Opinion in Food Science* 30:73-78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.06.008>.
- Piacentini, KC; Savi, GD; Olivo, G; Scussel, VM. 2015. Quality and occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in craft beer (en línea). *Food Control* 50:925-929. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.038>.
- Pinotti, L; Ottoboni, M; Giromini, C; Dell'Orto, V; Cheli, F. 2016. Mycotoxin Contamination in the EU Feed Supply Chain: A Focus on Cereal Byproducts (en línea). *Toxins* 8(2):45. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins8020045>.
- Pitt, JI; Taniwaki, MH; Cole, MB. 2013. Mycotoxin production in major crops as influenced by growing, harvesting, storage and processing, with emphasis on the achievement of Food Safety Objectives (en línea). *Food Control* 32(1):205-215. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.023>.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. In R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, s.e.
- Raiola, A; Tenore, GC; Manyes, L; Meca, G; Ritieni, A. 2015. Risk analysis of main mycotoxins occurring in food for children: An overview (en línea). *Food and Chemical Toxicology* 84:169-180. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.08.023>.
- Romer Labs. 2019. AgraQuant® ELISA Aflatoxin (en línea, sitio web). Consultado 3 mar. 2020.

- Disponible en <https://shop.romerlabs.com/en/AgraQuant-ELISA/AgraQuant-Mycotoxins/AgraQuant-ELISA-Aflatoxin>.
- _____. 2019. AgraQuant® ELISA DON (en línea, sitio web). Consultado 2 mar. 2020. Disponible en <https://shop.romerlabs.com/en/AgraQuant-ELISA/AgraQuant-Mycotoxins/AgraQuant-ELISA-DON>.
- _____. 2019. AgraQuant® ELISA Fumonisin (en línea, sitio web). Consultado 2 mar. 2020. Disponible en <https://shop.romerlabs.com/en/AgraQuant-ELISA/AgraQuant-Mycotoxins/AgraQuant-ELISA-Fumonisin>.
- _____. 2019. AgraQuant® ELISA Ochratoxin A (en línea, sitio web). Consultado 2 mar. 2020. Disponible en <https://shop.romerlabs.com/en/AgraQuant-ELISA/AgraQuant-Mycotoxins/AgraQuant-ELISA-Ochratoxin-A>.
- _____. 2019. AgraQuant® ELISA T-2-Toxin (en línea, sitio web). Consultado 2 mar. 2020. Disponible en <https://shop.romerlabs.com/en/AgraQuant-ELISA/AgraQuant-Mycotoxins/AgraQuant-ELISA-T-2-Toxin>.
- _____. 2019. AgraQuant® Zearalenone (en línea, sitio web). Consultado 2 mar. 2020. Disponible en https://www.graintec.com.au/media/16422/AgraQuant_Zearalenone_package_insert.pdf.
- Schwartz, J. 2004. Air pollution and children's health (en línea). *Pediatrics* 113(4 Suppl):1037-43. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15060197>.
- Sherif, SO; Salama, EE; Abdel-Wahhab, MA. 2009. Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment (en línea). *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 212(4):347-368. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2008.08.002>.
- Sirot, V; Fremy, JM; Leblanc, JC. 2013. Dietary exposure to mycotoxins and health risk assessment in the second French total diet study. *Food and Chemical Toxicology* 52:1-11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.10.036>.
- Skaug, MA. 1999. Analysis of Norwegian milk and infant formulas for ochratoxin A (en línea). *Food Additives and Contaminants* 16(2):75-78. DOI: <https://doi.org/10.1080/026520399284235>.
- Soleimany, F; Jinap, S; Abas, F. 2012. Determination of mycotoxins in cereals by liquid chromatography tandem mass spectrometry (en línea). *Food Chemistry* 130(4):1055-1060. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.131>.
- Strauss, KJ; Kaste, SC. 2006. ALARA in Pediatric Interventional and Fluoroscopic Imaging: Striving to Keep Radiation Doses as Low as Possible During Fluoroscopy of Pediatric Patients—A White Paper Executive Summary (en línea). *Journal of the American College of Radiology* 3(9):686-688. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2006.04.008>.
- Turner, PC; Mendy, M; Whittle, H; Fortuin, M; Hall, AJ; Wild, CP. 2000. Hepatitis B infection and aflatoxin biomarker levels in Gambian children. *Tropical Medicine and International Health* 5(12):837-841. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2000.00664.x>.
- Vaclavik, L; Zachariasova, M; Hrbek, V; Hajslova, J. 2010. Analysis of multiple mycotoxins in cereals under ambient conditions using direct analysis in real time (DART) ionization coupled to high resolution mass spectrometry (en línea). *Talanta* 82(5):1950-1957. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.08.029>.
- Ware, LY; Durand, N; Nikiema, PA; Alter, P; Fontana, A; Montet, D; Barro, N. 2016. Occurrence of mycotoxins in commercial infant formulas locally produced in Ouagadougou (Burkina Faso). *Food Control* . DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.047>.
- WHO. 2019. Tolerable Daily Intake (en línea, sitio web). Consultado 2 mar. 2020. Disponible en https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/en/phthalates-school-supplies/glossary/tuv/tdi-tolerable-daily-intake.htm.
- Wickham, H. 2009. *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. New York, Springer-Verlag.
- Yang, J; Li, J; Jiang, Y; Duan, X; Qu, H; Yang, B; Chen, F; Sivakumar, D. 2014. Natural Occurrence, Analysis, and Prevention of Mycotoxins in Fruits and their Processed Products (en línea). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54(1):64-83. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.569860>.
- Zain, ME. 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals (en línea). *Journal of Saudi Chemical Society* 15(2):129-144. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.006>.
- Zhu, L; Zhang, B; Dai, Y; Li, H; Xu, W. 2017. A Review: Epigenetic Mechanism in Ochratoxin A Toxicity Studies (en línea). *Toxins* 9(4):113. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins9040113>.