

- Legates (1988). Cría y mejora del ganado. McGraw-Hill. 3ra edición. Mexico D.F.; pag: 508 - 550
- Lima T Fuentes JL, Pavón M, y Perón N. (1987). Influencia de varios factores en el peso al nacimiento y mortalidad de cordeos Pelibuey. Revista Cubana de reproducción Animal. V. 13: 1: 55 - 61.
- Martínez A. (1983). Reproduction and growth of hair sheep in an Experimental Flock in Venezuela. En: Hair sheep of Western Africa and The Americas: Westview Press; Boulder, Colorado, US; pags:105 - 107
- Mazarri BG. (1989). Fisiología reproductiva del ganado ovino bajo condiciones tropicales. En: Temas Ovinos y caprinos. 2da. Edición. Caracas. Venezuela.
- Patterson HC. (1983). Barbados Blackbelly and crossbred sheep Perfomance in an Experimental Flock in Barbados. En: Hair sheep of Western Africa and The Americas, a genetic resource for the tropics: Westview Press; Boulder, Colorado, US; pags: 151 - 162
- Pulenets N, Fuentes JL y Perón N. (1985). Influencia del nivel nutritivo en las características reproductivas de corderas Pelibuey. Revista Cubana de Reproducción Animal. V. 15: 2: 75 - 81.
- Valencia ZM, and González PE (1983). Pelibuey Sheep in Mexico. En: Hair sheep of Western Africa and The Americas, a genetic resource for the tropics: Westview Press; Boulder, Colorado, US; pags: 55 - 73.
- Valencia Z, y González P E (1983). Pelibuey Sheep in Mexico. En: Hair Sheep of Western Africa and The Americas. A genetic resource for the tropics. Westview press. Boulder. Colorado. US. Pgs. 55 - 73.

PRODUCCIÓN DE AFLATOXINAS POR *Aspergillus flavus* EN AGAR EXTRACTO DE MALTA A 23, 28 Y 36 °C.

Bernal G. O. M. (1, 2, 3) Shuler A. R (4) Bastos G. S. T (5) Campos-Takaki G. M (2, 6)

RESUMEN

Las aflatoxinas son consideradas entre los más fuertes cancerígenos potencialmente presentes en los alimentos. En este trabajo se estudió la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* URM 2580 en agar extracto de malta a temperaturas de 23, 28 y 36 °C, bajo condiciones de oscuridad. Se reportó que a 23 °C AFB1 tiene el mayor índice de detección; a 28 °C, AFB1 fue detectada en el 58,33 % y a 36 °C en 8,33 % de las repeticiones aparece AFB1; siendo el metabolito detectado con mayor frecuencia. Los promedios de detección de las aflatoxinas fueron: AFB1 55,56 %, AFB2 10,19 %, AFG1 19,75 % y AFG2 2,78 % de las repeticiones. La producción de aflatoxinas tiende a aumentar con el tiempo de incubación y fue la AFB1 la que presentó mayor producción en el experimento. El trabajo concluyó que la producción de aflatoxinas, más específicamente AFB1, disminuye a medida que aumenta la temperatura de incubación del hongo. **Rev. Med. Vet. Zoot. 47:11-16**

ABSTRACT

Aflatoxins are considered among the strongest carcinogenic agents potentially present in food. In this work was studied the aflatoxin production by *Aspergillus flavus* URM 2580 in malt extract agar at 23, 28 and 36 °C under darkness conditions. At 23 °C AFB1 had the highest index of detection; at 28 °C AFB1 was detected in 58,33 % of the cases and at 36 °C in 8,33 % of them was reported. AFB1 was the metabolite more frequently detected. The detection means of aflatoxin were AFB1 55,56 %; AFB2 10,19 %; AFG1 19,75 % and AFG2 2,78 %. Aflatoxin production had a tendency to increase with incubation time and AFB1 showed the highest production in the experiment. The work concludes than aflatoxin production, especially AFB1 decreases, while temperature of fungus incubation increases.

1 Mestrado em Nutrição, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde CCS, Universidade Federal de Pernambuco. UFPE.

2 Laboratorio de Imunopatología Keizo Asami LIKA - UFPE

3 Secretaría Distrital de Salud, Santa Fe de Bogotá D. C.; Hospital San Blas Segundo Nivel de Atención E. S. E.

4 Laboratorio de Cromatografía Instrumental, Centro de Tecnología CT, UFPE

5 Laboratorio de Fungos Fitopatogénicos, Centro de Ciencias Biológicas CCB, UFPE

6 Departamento de Farmacia, UFPE

1. INTRODUCCIÓN.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos al final de la fase exponencial y al inicio de la fase estacionaria de crecimiento. Sin embargo, no son sustancias metabólicamente esenciales para los microorganismos (Butler, 1974). Los primeros estudios sobre aflatoxinas fueron adelantados en 1960 en Inglaterra, debido a la muerte de aproximadamente 100.000 pavos, los cuales consumieron torta de maní proveniente de Brasil y Nigeria. Las aves murieron en el período de una semana, siendo sus síntomas: pérdida de apetito, disminución de movilidad, debilidad en los miembros, y lesiones necróticas en el hígado (Martins, 1979). Oettle, 1965, citado por Butler (1974) formuló la hipótesis de la asociación entre la existencia de carcinoma hepático y el consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas en áreas de África Sub - Sahariana y en el Sudeste Asiático; regiones del planeta con alta incidencia de esta enfermedad, sugiriendo que factores como hepatitis viral, infestación por parásitos, hemosiderosis, kwashiorkor o la ingestión de alcaloides tóxicos de la piridolizina contribuyen con la aparición de las neoplasias de hígado. En Kenia, Suazilandia, Tailandia y Mozambique, donde la incidencia de cáncer hepático es alta, las aflatoxinas están presentes habitualmente en la alimentación humana. La carcinogenicidad de las aflatoxinas ha sido demostrada en varias especies animales. La aflatoxina B1 (AFB₁) induce tumores malignos en ratas, ratones domésticos, monos, patos, salmones y truchas, donde el hígado es el órgano blanco para este compuesto. Algunos tumores en el pulmón también fueron observados en ratones. En ratas aparecieron tumores renales e intestinales, cuando fueron tratadas con AFB₁. La AFB₁ produce efectos carcinogénicos en muchas especies después de exposiciones a dosis bajas (1 g/kg. en la dieta). Las aflatoxinas G₁ y B₂, AFG₁ y AFB₂, son también reportadas como inductoras de tumores hepáticos en algunos animales.

Después de la síntesis de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* en un producto contaminado, su detoxificación no es fácil. Los pocos procesos conocidos son antieconómicos y a veces, tornan el producto inadecuado para el consumo humano (Martins, 1979). Las aflatoxinas son cumarinas ligadas a una unidad bifurcada junto a un anillo de pentanona (AFB) o lactona (AFG) (Steyn et al, 1980). Entre las aflatoxinas, la que despertó mayor atención de los investigadores fue la AFB₁, debido a que sus efectos tóxicos son cuantitativamente más importantes que los ocasionados por las otras; su acción inhibidora de la síntesis proteica, como también el hecho de ser considerada un poderoso agente hepatotóxico y reconocida como uno de los cancerígenos químicos más potentes (Lapa, 1983). Según Moule (1977), la referida toxina es un potente inhibidor de la síntesis de DNA, bloqueando *in vivo* la replicación, transcripción y traducción. El metabolismo celular es atacado en su conjunto. Sin embargo, la síntesis de los ácidos nucleicos es afectada en primer lugar (debido a la ingestión de pequeñas dosis), mientras que la síntesis de las proteínas se ve afectada posteriormente. Clifford y Ress (1965) concluyeron que la AFB₁ al afectar a la célula hepática se acumula en el núcleo, ligándose al DNA e inhibiendo la RNA-polimerasa; enseguida, ocurre una disminución de la síntesis de RNA.

Dianzini (1976) afirma que los inhibidores de la síntesis proteica pueden provocar daños hepáticos y que la intensidad puede estar relacionada con la cantidad de aflatoxina, tal como está indicado en la Figura 1.

La AFB₁ ha sido asociada al cáncer de hígado, y se sabe que AFB₁ ejerce su acción carcinogénica causando un lugar de mutación en el gen p53. Esta proteína ha sido llamada "Guardia del Genoma" debido a sus funciones inhibidoras del crecimiento de tumores. Representa una función crucial en la protección del cuerpo contra el crecimiento canceroso. La mutación del gen p53 es la lesión genética más común en cáncer humano. Se cree que el punto de mutación causado por las aflatoxinas es responsable por un gran porcentaje de carcinomas hepáticos humanos (CHH) (Urbaneck, 1997). Todos los animales vertebrados son sensibles a la acción de las aflatoxinas; pueden ocurrir dos tipos de lesiones: agudas, que son provocadas por la ingestión de dosis relativamente elevadas que ocasionan lesiones hepáticas graves, como necrosis del

parénquima de efecto casi siempre letal; y crónicas, las cuales producen lesiones progresivas, severa depresión del crecimiento corporal, alteraciones histológicas y hepatomas, después de un período más o menos prolongado de la ingestión de dosis sub-agudas (Edds, 1973). Las aflatoxinas son hepatotóxicas, teratogénicas, mutagénicas y carcinogénicas. Se han determinado dosis letales medias (LD50) para los siguientes animales (mg/kg. vía oral): conejo 0,3; pato 0,3; gato 0,6; trucha 0,8; perro 1,0; cobayo 1,4; oveja 2,0; mono 2,2; ratón doméstico 9,0; hámster 10,2; pollo 11,5; rata macho 7,2 y rata hembra 17,9. Niveles bajos de AFB₁ de 1,0 y 0,05 ppb, presentes en la dieta pueden causar cáncer hepático en ratas y trucha arco - iris, respectivamente. Las aflatoxinas presentan el efecto carrier; esto significa que, pueden aparecer residuos de las mismas en la carne, leche y huevos de los animales que consumieron alimentos contaminados (Stoloff, 1977). Además las aflatoxinas también pueden deprimir el sistema inmune de los animales (Steyn,

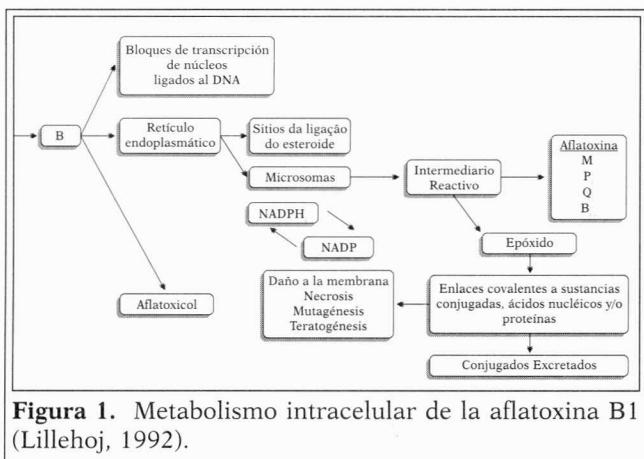


Figura 1. Metabolismo intracelular de la aflatoxina B1 (Lillehoj, 1992).

1980). Los objetivos del presente trabajo son: cuantificar la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* (URM 2580) y evaluar el efecto ejercido por la temperatura en la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* URM 2580, en determinados tiempos de incubación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Materiales biológicos.

Se utilizó *Aspergillus flavus* URM 2580, proveniente de la micoteca del Departamento de Micología del Centro de Ciencias Biológicas de la Universidad Federal de Pernambuco.

2.2. Medio de cultivo.

Agar Extracto de Malta, AEM, (Para 500 ml: extracto de malta 15,0 g; Peptona de harina de soya 1,5 g; Agar 7,5 g),

2.3. Cultivo y mantenimiento de los hongos.

El hongo fue mantenido en un tubo inclinado, utilizando agar Czapecck-Dox. Después de incubar a 28 °C durante 8 días el cultivo fue mantenido a 4 °C y replicado cada tres meses.

2.4. Preparación de las suspensiones de esporas.

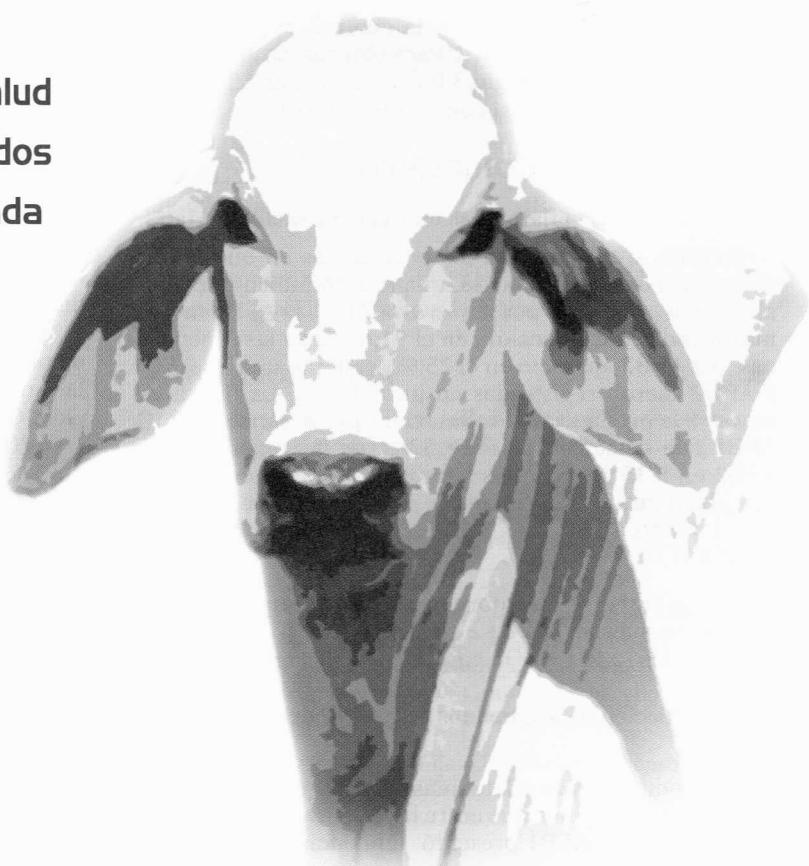
Del hongo incubado por 8 días a temperatura de 28 °C se removieron las esporas en agua destilada estéril conteniendo 0,02 ml de tween 80 a una concentración de 0,1 %,

los cuales fueron homogeneizados en vortex. La estandarización de las esporas a 106 células/ml se hizo utilizando una cámara de Newbauer. Las suspensiones se mantuvieron a -20 °C.

2.5. Extracción y cuantificación de las aflatoxinas.

Todas las extracciones de aflatoxinas fueron hechas utilizando los métodos descritos por AOAC (1980) adaptados por Soares & Rodriguez-Amaya (1989). Fueron colocados en el vaso del homogeneizador 50 g de muestra junto con 270 ml de CH₃OH y 30 ml de KCl 4 %, en velocidad baja (1000 r.p.m.). Mezclados durante 5 minutos y filtrados en papel de filtro cualitativo Toyo Ó # 7. A una alícuota de 150 ml del filtrado se adicionaron 150 ml de una solución de CuSO₄ al 10 % (clarificante) y 50 ml de celite medido en un beaker. La mezcla fue homogeneizada con un bastón de vidrio y nuevamente filtrada en papel de filtro cualitativo. Una alícuota de 150 ml de la segunda filtración, fue transferida a un embudo de separación con 150 ml de agua destilada. Se realizaron dos particiones con 10 ml de cloroformo con un tiempo de agitación de 3 minutos, siendo recogidos 5 ml de cada partición y reunidas en frasco ámbar. El extracto obtenido fue evaporado hasta secamiento en baño de maría a 80 °C y mantenido a -20 °C; antes de pasar a un sistema de cromatografía CLAR el residuo fue resuspendido en 200 ml de metanol.

Productos especializados para la salud animal e higiene ambiental, respaldados por Laboratorios de calidad certificada mundialmente.



BASF

BASF Química Colombiana, S.A.

CELLS FARMACEUTICA LTDA

Calle 120 No. 20A-77 - Tels.: (1) 619 5028 - 619 8153 - 637 4166

Fax: (1) 213 0808 - A.A. 102589 - Santafé de Bogotá, D.C. Colombia

E.mail:cells@multiphone.net.co - cells@highstation.com - www.highstation.com/cells

CELLS 
FARMACEUTICA

2.6. Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

El sistema HPLC utilizado para cuantificar las aflatoxinas fue constituido por una bomba Gilson modelo 305 °, un detector ultravioleta CG437B ° ajustado en una longitud de onda de 254 nm, válvula de inyección Rheodyne ° de 20 ml de capacidad, sensor de presión Gilson modelo 805 ° a 63 Bar. La columna cromatográfica utilizada fue Nucleosil ° 10/C18/120 A°, 250 mm de longitud x 4,6 mm de diámetro. El sistema fue conectado a un computador con el Software Peak Simple II. La fase móvil utilizada fue agua Milli Q y Acetonitrilo grado HPLC (60% y 40% con 0,05 % de ácido trifluoroacético, respectivamente) previamente filtrada en filtro millipore ° de 0,2 mm, a una velocidad de 1 ml/min y tiempo de paso de 10 minutos. Las muestras fueron mantenidas a -20 °C, resuspendidas en metanol e inyectados 20 ml de cada una al sistema (Frisvad, 1987; Frisvad & Thrane, 1987; Lázaro et al, 1988; modificados y adaptados por Schuller, 1997).

2.7. Producción de Aflatoxinas.

La producción de aflatoxinas fue realizada en medio Agar Extracto de Malta, en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con 15 ml de agar. Fueron inoculados 0,5 ml de la suspensión de esporas de *A. Flavus* y se determinó la producción de aflatoxinas a 4, 8, 12 y 16 días, después de incubación a 23, 28 y 36 °C, en condiciones de ausencia total de luz. Fueron utilizadas tres repeticiones por tratamiento.

Para los experimentos de producción de aflatoxinas, después de realizar los cálculos cromatográficos se efectuaron las medidas de tendencia central: promedio aritmético y desviación standard. Para obtener los gráficos fue utilizado el software Origin 3.0 ° Scientific and Technical Graphics in Windows, así como el Excel 97 °.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Detección de aflatoxinas en Agar Extracto de Malta.

La Figura 2 representa los porcentajes en que fueron detectadas las aflatoxinas. La Figura 2A indica que de la aflatoxina producida por *A. flavus* a 23 °C, la AFB1 tuvo el mayor índice de detección, en el 91,67 % de las repeticiones. La AFB2 apareció en el 25 %, en tanto que las AFG1 y AFG2 fueron registradas en un 8,33 %. La figura 2B muestra la producción de aflatoxinas por *A. flavus* a 28 °C, AFB1 Fue detectada en el 58,33 % de las repeticiones y AFB2 en 8,33 %, las otras aflatoxinas no fueron observadas. La figura 2C representa la producción de aflatoxinas por *A. flavus* a 36 °C y en 8,33 % de las repeticiones aparece AFB1.

Los promedios del porcentaje de detección de las aflatoxinas fueron: AFB1 en 55,56 %, AFB2 en 10,19 %, AFG1 en 19,75 % y AFG2 en 2,78 % de las repeticiones

3.2. Producción de aflatoxinas en Agar Extracto De Malta a 23 °C.

La producción de aflatoxinas a 23 °C está presentada en la Figura 3 e indica que entre las aflatoxinas producidas por *A. flavus*, la AFB1 presentó tendencia a aumentar la

cantidad con el aumento del tiempo de incubación. Los valores promedios de AFB1 fueron a los 4 días: 1,92 mg; a los 8 días: 6,71 mg; a los 12 días: 9,77 mg y a los 16 días: 44,79 mg. La producción de AFB2, AFG1 y AFG2 fue detectada con 16 días de incubación, con promedios de 10,62 mg, 0,34 mg, 0,31 mg, respectivamente.

La producción de aflatoxinas por *A. flavus* a 28 °C, está presentada en la Figura 4. La AFB1 mostró valores promedios a los 4 días de 0,54 mg; a los 12 días 8,39 mg y 12,91 mg a los 16 días. La AFB2 fue registrada con media aritmética de 2,76 mg por repetición la AFG1 y AFG2 no fueron detectadas en ninguna repetición.

En la producción de Aflatoxinas a 36 °C por *A. flavus* fue observada la presencia de AFB1 en una muestra de las doce analizadas, en una cantidad de 3,01 mg con promedio de 1,00 mg a los 16 días (Figura 5).

De acuerdo con Faraj et al., (1993) quienes estudiaron granos de maíz, a 30 °C y 40 °C, determinaron la cantidad total de aflatoxinas a 5 y 10 días de incubación; reafirmando que la temperatura ideal de producción de aflatoxinas es de 30 °C, por *A. flavus* CMI 102566. Los autores se refieren a una temperatura de 30 °C a los 5 días, los análisis indicaron una cantidad de 3133 ng/g de aflatoxinas; a los 10 días en la misma temperatura la concentración fue de 2520 ng/g. Sin embargo, la producción de aflatoxinas después de 5 días de incubación a 30 °C seguida de 5 días a 40 °C fue de 1866 ng/g, observándose una persistencia de aflatoxinas totales de 40, 44 y 74 %, respectivamente. La producción de aflatoxinas en cultivos puros de *A. flavus* ocurre entre 8 °C a 40 °C (Hill et al, 1985) y sugieren que las enzimas que degradan aflatoxinas pueden tener una temperatura de acción óptima. Faraj et. al., (1993) demostraron la influencia de la temperatura y valores de actividad acuosa altos. La producción de aflatoxinas ocurre entre 12 °C y 41 °C con intervalos óptimos de 25 °C a 30 °C. Sin embargo, el crecimiento del hongo puede ocurrir entre 6 °C y 46 °C con temperaturas óptimas de 35 °C a 38°C (Faraj et. al., 1991). Estas informaciones de la literatura discrepan de los resultados obtenidos en el presente trabajo, para el *A. flavus* URM 2580, donde la temperatura ideal de producción de aflatoxinas fue de 23 °C y el aumento de la temperatura incidió en la disminución de la producción. Cuero et. al., (1987) utilizaron temperaturas de 25 °C y 16 °C para producción de aflatoxinas por *A. flavus* IMI 102566, en granos de maíz y arroz. Reportaron en granos de maíz 1020, 989 y 100 ng/g de grano a 25 °C; 56, 74 y 0 ng/g de grano a 16 °C. En el arroz no fueron detectadas aflatoxinas con las mismas temperaturas de producción, lo que está de acuerdo con datos publicados previamente, aunque las temperaturas de incubación sean bajas para promover un óptimo crecimiento y producción de aflatoxinas por *A. flavus*. Con relación a la producción de aflatoxinas a 36 °C, donde fue registrada la menor cantidad, los datos concuerdan con la literatura. Inclusive aunque el micelio viejo tenga mayor actividad de biodegradación de aflatoxinas que el joven. Se sugiere por Hamid & Smith (1987) que el nivel de autodegradación por enzimas aumenta con temperaturas mayores de 30 °C.

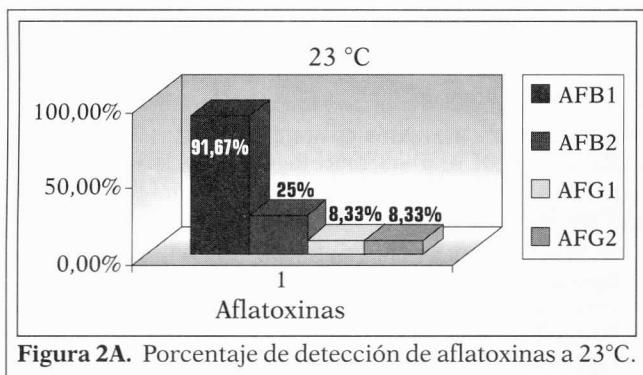


Figura 2A. Porcentaje de detección de aflatoxinas a 23°C.

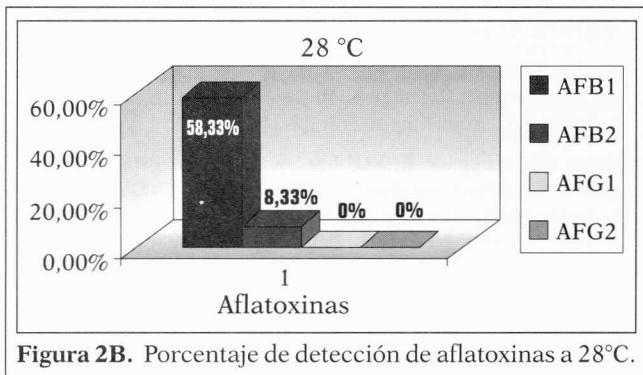


Figura 2B. Porcentaje de detección de aflatoxinas a 28°C.

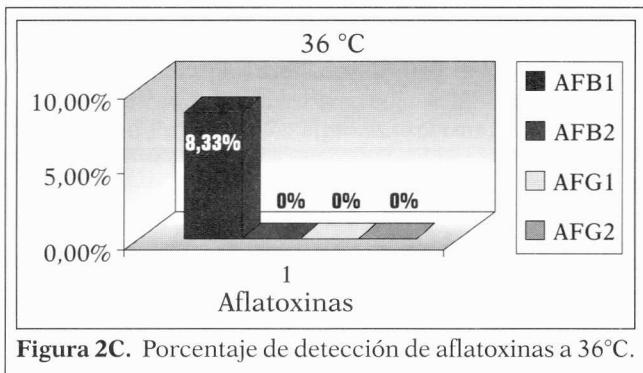


Figura 2C. Porcentaje de detección de aflatoxinas a 36°C.

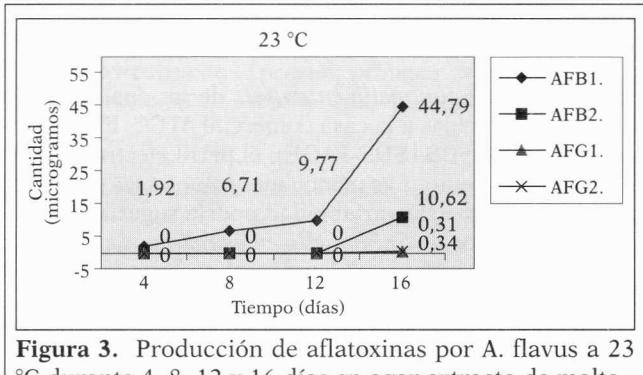


Figura 3. Producción de aflatoxinas por A. flavus a 23 °C durante 4, 8, 12 y 16 días en agar extracto de malta.

El trabajo concluye que la producción de aflatoxinas, más específicamente AFB1, disminuye a medida que aumenta la temperatura de incubación del hongo. También

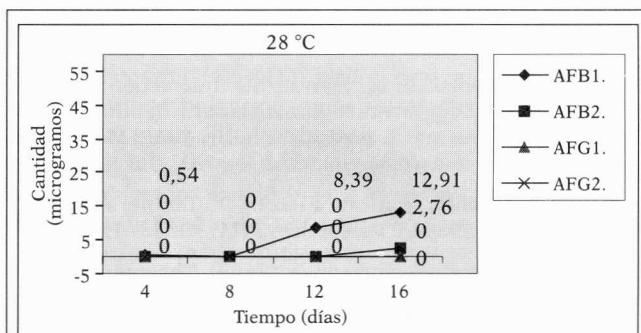


Figura 4. Producción de aflatoxinas por A. flavus a 28 °C durante 4, 8, 12 y 16 días en agar extracto de malta.

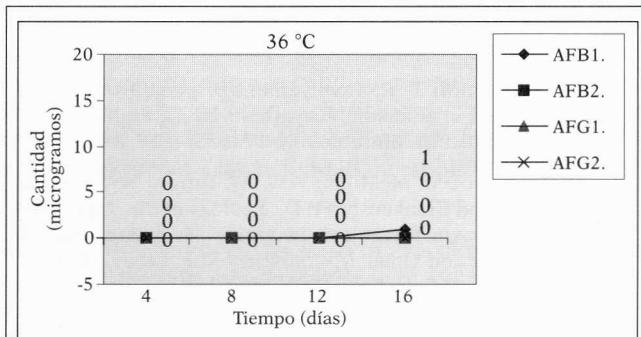


Figura 5. Producción de aflatoxinas por A. flavus a 36 °C durante 4, 8, 12 y 16 días en agar extracto de malta.

que la AFB1 fue el metabolito secundario producido por *Aspergillus flavus* URM 2580, presente cualitativa y cuantitativamente, en el mayor número de veces, en los experimentos de producción de aflatoxinas en agar extracto de malta. Del mismo modo, las cuatro aflatoxinas no son producidas en la misma proporción y cantidad por el hongo aflatoxigeno *Aspergillus flavus* URM 2580, en el mismo medio.

Agradecimientos: CNPq - FINEP, Organos finanziadores de Investigación, adscritos al Gobierno Brasileño.

4. BIBLIOGRAFIA

- Butler WH. Aflatoxin. Micotoxins, Edited By Purchase I. F. H., Elsevier Scientific Publishing Company. Pag 1 - 28. Amsterdam, 1974.
- Clifford JI. and Rees K R. The Action Of Aflatoxin B1 On The Rat Liver. The Biochemical Journal, London, 102 (1): 65 - 75, 1965.
- Cuero RG, Smith J E, and Lacey J. Interaction Of Water Activity, Temperature And Substrate On Mycotoxin Production by *Aspergillus flavus*, *Penicillium viridicatum* and *Fusarium graminearum* in Irradiated Grains. Transactions of British Mycology Society. 89 (2): 221 - 226, 1987.
- Dianzini MV. Toxic Liver Injury By Protein Synthesis Inhibitors. In Popper H.; Schaffner G. & Stratton N. Y.; Progreess In Liver Disease. New York, Grune & Stratton, Pag 232 - 245., 1976.

- Edds GT. Acute Aflatoxicosis: A Review. Journal Of American Veterinary Medical Association. 162 (4): 304 - 309, 1973.
- Faraj MK, Smith J. E. & Harran G.. Interaction Of Water Activity And Temperature On Aflatoxin Production by Aspergillus flavus and A. parasiticus in Irradiated Maiz Seeds. Food Additives and Contaminants. 8 (6): 731 - 736. 1991.
- Aflatoxin Biodegradation: Effects Of Temperature and Microbes. Mycological Research. 97 (11): 1388 - 1392, 1993.
- Frisvad JC. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Profiles of Mycotoxins and Other Secondary Metabolites. Journal of Chromatography, 392: 333 - 347, 1987.
- Thrane U. Standardized High-Performance Liquid Chromatography of 182 Mycotoxins and other Fungal Metabolites Based on Alkylphenone Retention Indices and UV-VIS Spectra (Diode Array Detection). Journal of Chromatography, 404: 195 -214, 1987.
- Hamid AB, Smith J. E; Involvement of cytochrome P-450 monooxygenase in aflatoxin biosynthesis by Aspergillus flavus. Journal of Industrial Microbiology, 17: 683 - 689, 1987.
- Hill RA, Wilson DM, McMillan WW, Wildstrom NW, Cole RJ, Sanders TH, and Blankenship P. D. Ecology of the Aspergillus flavus & aflatoxin formation in maize & groundnut. In Trichothecenes and Other Mycotoxins (ed J. Lacey), Pag 79 - 86. John Wiley & Sons Inc. Chichester 1985.
- Lapa MAG. Influência Da Aflatoxina B1 Sobre A Resposta À Desnutrição Protéica. Tese Para Obtenção Do Grau De Doutor. Universidade De São Paulo. Faculdade De Ciências Farmacéuticas, Curso De Pósgraduação Em Ciência Dos Alimentos, Área De Nutrição Experimental. 75 Pag, São Paulo, 1983.
- Lázaro F, Luque de Castro MD, and Valcárcel M. Fluorimetric Determination of Aflatoxins in Foodstuffs by High-Performance Liquid Chromatography with Flow Injection Analysis. Journal of Chromatography, 448: 173 -181, 1988.
- Lillehoj EB. Aflatoxin: Genetic Mobilization Agent. In Handbook Of Applied Mycology Vol 5: Mycotoxins In Ecological Systems, Edited By Bhatnagar D., Lillehoj E. B. & Arora D. K., New York, P6 1992.
- Martins M J R. Determinação De Aflatoxinas Em Amendoin E Derivados Por Cromatografia Em Camada Delgada. Tese Para Obtenção Do Grau De Mestre. Universidade Federal De Pernambuco, Centro De Ciências Exatas E Da Natureza, 86 Pag, Recife, 1979.
- Moule Y. Mécanisme D'action Des Mycotoxins. Annales De La Nutrition Et De L'alimentation. 31: 803 - 810, 1977.
- Soares LMV, and Rodriguez-Amaya DB. Programa Nacional De Micotoxinas; Determinação De Aflatoxinas Em Amendoin. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 72: 22-26, 1989.
- Steyn PS, Vleggaar R. and Vessels PL. The Biosynthesis Of Aflatoxin and Its Congeners. In The Biosynthesis Of Micotoxins. A Study In Secundary Metabolisms Edited By Steyn P. S. Academic Press, New York, Pag 104 - 155, 1980.
- Stoloff L. Aflatoxins An Overview. In Mycotoxins In Human and Animal Health. Rodricks J. V.; Hesseltine C. W & Mehlman (Eds). Pathotox Publishers, Park Forest South IL, Pag 7-28, 1977.
- Urbanek R. Syntheses and Mechanistic Studies Of The Potent Mycotoxin Aflatoxin B1. Organic Seminar Organic Abstract (Postscript Version). [Http://Www.Chem.Umn.Edu/Studsem/Urbanek3497/Urbabs.Html](http://Www.Chem.Umn.Edu/Studsem/Urbanek3497/Urbabs.Html) - Size 10k - 28-May- 1997.

ANALISIS DEL PERFIL ELECTROFORETICO DE PROTEINAS DE MEMBRANA DE *Salmonella enteritidis* DE AISLADOS COLOMBIANOS

C. Milton¹, J. Figueroa²

RESUMEN

Se aislaron proteínas de membrana externa (OMP) de once cepas de *Salmonella enteritidis* de las cuales nueve cepas provenían de casos clínicos de campo y dos de ellas fueron adquiridas a la casa comercial ATCC. El análisis de proteínas se realizó por electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE); el perfil electroforético mostró gran variabilidad entre las proteínas obtenidas de cada aislamiento. Las principales diferencias se observan en proteínas con Mr de 14.4 a 21.5 kDaltons y 38.3 a 48.9 kDaltons. Esta variabilidad podría sugerir diferencias en grado de virulencia entre los distintos aislamientos. Los cultivos de *Salmonella enteritidis* que poseen la proteína de 18.3 kDaltons y componentes de Mr inferior a 14.4 presentan mayor resistencia al proceso de lisis por lisozima que aquellas que no lo poseen. Los resultados obtenidos en el presente trabajo, muestran que el perfil de OMP para *Salmonella enteritidis* puede ser de ayuda en la biotificación de este microorganismo. Finalmente, la heterogeneidad presentada en el perfil de OMP podría estar indicando que en nuestro país la infección de las aves puede ser debida a más de un clon de *Salmonella enteritidis*. **Rev. Med. Vet. 47:16-22**

1 QF. MSc. Profesor Asistente Departamento de Farmacia. Universidad Nacional de Colombia.

2 Micr. MSc. Profesor Asociado Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Nacional de Colombia.