

179
2 eje.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

3038
ASTORIA
3103
3103

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MICOTOXIGENICIDAD DE HONGOS Aspergillus flavus
Y Fusarium moniliforme AISLADOS DE ALIMENTO
COMERCIAL PARA CONEJOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
IRMA SANTAMARIA FRANCO

A S E S O R E S

- M. V. Z. RENE ROSILES MARTINEZ
- M. V. Z. RAMON GARCIA CORTES
- M. V. Z. JUAN MANUEL HORTA RAMIREZ



MEXICO, D. F.,

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UN HOMBRE NO ES MAS QUE EL PRODUCTO DE SUS PENSAMIENTOS LO
QUE PIENSA ES LO QUE LLEGA A SER.

(M. GANDHI)

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

CLEMENTINA FRANCO CORTES Y ERNESTO SANTAMARIA CORDERO

QUE SON LO MAS BELLO QUE POSEO LES DOY GRACIAS POR SU APOYO, AMOR Y COMPRESION YA QUE CON ESTO HE LOGRADO REALIZARME COMO PROFESIONAL Y COMO SER HUMANO.

A LA MEMORIA DE MI HERMANO ERNESTO

A MIS HERMANOS

GLORIA, HECTOR, MARTHA, RENE, JAIME Y LETICIA POR SU GRAN APOYO QUE ME BRINDARON SIEMPRE Y POR TODO LO QUE ME HAN DADO. CON MUCHO CARINO.

A MIS AMIGOS Y A TODA LAS PERSONAS QUE ME BRINDARON SU AMISTAD Y QUE ME APOYARON .

II

AGRADECIMIENTOS

A M.V.Z. RENE ROSILES POR SU APOYO Y ENSEÑANZA QUE ME BRINDO DURANTE LA REALIZACION DE LA TESIS.

A M.V.Z. JANITZIO ARIEL BAUTISTA POR SU GRAN COLABORACION Y AYUDA QUE ME BRINDO EN LA REALIZACION DE ESTA TESIS.

A M.V.Z. JOSE RAMIREZ LEDEZMA QUE PERTENECE AL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DE LA F.M.V.Z. UNAM. POR SU GRAN COLABORACION Y APOYO EN ESTA TESIS.

A MI HONORABLE JURADO:

PRESIDENTE	MVZ ROBERTO CERVANTES OLIVARES
VOCAL	MVZ RAFAEL HERNANDEZ G.
SECRETARIO	MVZ SILVIA D. PEÑA BETANCOURT
SUPLENTE	MVZ RENE ROSILES MARTINEZ
SUPLENTE	MVZ CARLOS A. TENA BETANCOURT

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
HIPOTESIS.....	10
OBJETIVOS.....	10
MATERIAL Y METODOS.....	11
RESULTADOS.....	20
DISCUSION.....	25
LITERATURA CITADA.....	31
CUADROS Y FIGURAS.....	38
ANEXOS.....	60

RESUMEN

SANTAMARIA FRANCO IRMA. Micotoxigenicidad de Hongos Aspergillus flavus y Fusarium moniliforme aislados de alimento comercial de conejos. (Bajo la dirección de M.V.Z René Rosiles Martínez, M.V.Z Juan Manuel Horta Ramírez y M.V.Z Ramón García Cortes).

Se determinaron los efectos en los parámetros productivos en conejos, se utilizó alimento comercial al cual se le inoculó Aflatoxina B1 y Fumonisina B1, se utilizaron 15 conejos machos de 45 días de edad con un peso promedio de 850 a 1200 g. separándolos en tres grupos, un grupo alimentado con 50 ppb de Aflatoxina B1, otro con 1 ppm de Fumonisina B1 y el tercer grupo como testigo, el experimento duró 19 días. Se observó una marcada diferencia en la conversión alimenticia entre los grupos expuestos y el grupo testigo siendo mayor en este último. En los grupos expuestos a micotoxinas no se incremento la ganancia de peso en el tiempo de experimentación, pero se observó que el grupo testigo tuvo un incremento diario de 50 g. El peso relativo de hígado, bazo, corazón y riñón fue significativamente menor en los animales tratados con respecto al grupo testigo. Se encontró una diferencia numérica en la concentración de minerales cobre, hierro,

calcio, magnesio, manganeso, potasio, sodio y zinc entre los grupos experimentales con respecto al grupo testigo, estadísticamente no se observó diferencia significativa, con excepción para el potasio donde se observó una reducción en bazo de los grupos experimentales. En la histopatología se encontró en hígado del grupo tratado con Aflatoxina B1, procesos degenerativos de grasa, en la pared de los canales biliares se identificó hiperplasia de las células epiteliales y en el grupo con Fumonisina B1 se identificaron focos de infiltración con células mononucleares alrededor de los canales biliares y una hiperplasia de las células de la pared de los conductos biliares hasta de 5 a 6 células en línea cambios degenerativos en las células periportal sugerentes a grasa.

INTRODUCCION

El desarrollo que ha tenido la Cunicultura en México, por muchos años ha sido a nivel familiar y se ha visto que se cuenta con razas domesticadas y aclimatadas al país lo que favorece que se impulse la cría y explotación del conejo así como la investigación. ^{13,19,20.}

El conejo (Oryctolagus cuniculus) es un animal herbívoro, mamífero, no rumiante, con características muy particulares de su aparato digestivo. El tamaño, las características reproductivas y las necesidades de espacio e instalación y la facilidad de manejo hacen que la investigación de este animal sea justificable y muy deseable para ser utilizado como animal de laboratorio. Los conejos son animales cecotrófagos (cecotrofia), lo cual consiste en el consumo de las heces durante la noche para aprovechar al máximo los nutrientes de los alimentos ingeridos. La cecotrofia se realiza de la siguiente forma: el alimento ingerido es digerido parcialmente en el estómago y absorbido en el intestino; al llegar al ciego las bacterias lo digieren y sintetizan vitaminas y aminoácidos, se constituye un "primer excremento" de consistencia suave, humedad y blanda el cual es reingerido tomándolo directamente del ano con la boca. Este alimento ó "excremento primario" completa su digestión en el estómago, los nutrientes son absorbidos en el intestino y se expulsa como "excremento definitivo"

(en forma de bolitas compactas) sin pasar o entrar al ciego. La cecotrofia es normal, excepto en animales axénicos, siendo el conejo susceptible a intoxicaciones por Aflatoxina B₁ 19.26.

Las micotoxinas son metabolitos de los hongos que producen respuestas patológicas en el hombre y los animales, estos metabolitos se presentan en los alimentos que se han infestado con hongos toxigénicos cuando aún tienen vida (pasturas, granos) o durante su almacenamiento (heno, granos, molidos, mezclas, pastas). La importancia actual que se le da a las micotoxinas se ha visto incrementada debido a que algunas de las especies Aspergillus flavus, Fusarium moniliforme y Penicillium tiene un efecto directo sobre el estado y desarrollo de los animales haciendo que sean más susceptibles a los efectos nocivos de estas micotoxinas, produciendo trastornos clínico-patológicos, agudos ó crónicos como hepatitis, nefrosis y leucoencefalomalacia. Además ciertas micotoxinas poseen propiedades carcinógenas, mutágenas, teratógenas. En los animales en producción las micotoxinas afectan la conversión alimenticia (reducción), ganancia de peso, por metabolitos como Aflatoxina B₁, Ochratoxina A, Toxina T-2, Fumonisina B₁ y Tricotecenos 5.6, 19.27.

Desde el punto de vista económico, los alimentos contaminados con micotoxinas causan graves pérdidas en las explotaciones pecuarias debido a su toxicidad y cambios de ciertos parámetros productivos como conversión alimenticia,

ganancia de peso, determinación de minerales e histopatología 5,9,31,40.

Se ha observado que la Toxina T-2 causa en conejos emaciación, gastritis catarral subaguda, necrosis de células linfoides de la mucosa intestinal, de íleo, bazo y glándulas linfoides 16.

La Rubratoxina B produce en conejos efectos que se reflejan en el peso de órganos tales como hígado, útero, ovario etc, aumento de tamaño de riñones. Se han observado cambios patológicos en cavidad torácica, hígado, ciego y cambios bioquímicos como la sedimentación de sangre 4.

Las aflatoxinas son un grupo de micotoxinas sintetizadas del género Aspergillus flavus, A. parasiticum y Penicillium puberulum. Se conocen varios compuestos en la familia de las aflatoxinas, algunos de los cuales, ocurren en el alimento mientras que otros son metabolitos formados en el organismo animal después de la ingestión del alimento contaminado. Las 4 aflatoxinas principales son : B1, B2, G1 y G2. La Aflatoxina B1 produce toxicidad en el organismo después de la ingestión de alimentos contaminados y aparecen en orina como aflatoxina P1, leche y carne como aflatoxina M1 13,17,31,37.

La administración de aflatoxina B1 en el alimento produce disminución en su consumo en conejos sin embargo aumenta el consumo del agua. Así mismo disminuye la digestibilidad de la fibra, proteína cruda y el peso del hígado, bazo 2,3,12,39.

Se han notificado casos de aflatoxicosis en granjas de conejos de India, Egipto etc, con una pérdida de peso gradual en los animales. Se observó que la mortalidad fué más alta en gazapos y recién destetados, lo que indicó una alta susceptibilidad de los animales jóvenes a la toxina. Uno de los factores que contribuye en esta susceptibilidad es el stress ^{23,24,25,36,38,40.}

Las aflatoxinas afectan a la respuesta inmune de los animales, haciéndolos susceptibles a infecciones por diversos microorganismos ^{31.}

La lesión principal en conejos debida a las aflatoxinas se observa en hígado esta se liga al ácido desoxirribonucléico e inhibe la formación de RNA mensajero por lo que se han aumentado los estudios de inmunidad y resistencia. Los efectos biológicos de las aflatoxinas pueden agruparse en: daño hepático agudo ó crónico, reducción en la tasa de crecimiento, deterioro de los mecanismos inmunológicos, efectos carcinogénos, teratogénos y los derivados de la insuficiencia hepática ^{11,29,31.}

En estudios clínico patológicos en aflatoxicosis inducida experimentalmente en conejos se observó que rechazaban el alimento así como una gradual pérdida de peso. Los valores de glucosa, urea y bilirrubina sanguíneas fueron altos, en órganos se observaron cambios degenerativos, principalmente en hígado, riñón y corazón ^{2,3,4,7,18.}

Al exámen histológico de pulmón, hígado, bazo, intestino delgado, ganglio linfático y glándulas adrenales

de conejo intoxicado se conoce que al comienzo de la intoxicación, representaron pequeñas hemorragias, edemas y lesiones severas en membranas serosas del pulmón, alveolitis y bronconeumonía con una infiltración de eosinófilos presentes ^{11,23,36}.

Por el efecto de las aflatoxinas hay aumento severo de bilirrubina, protrombina, tromboplastina y la enzima amino aspartato transferasa (AST) ^{10,11,39}.

Se ha estudiado en animales de laboratorio el efecto de la administración de aflatoxina ya que esta es la causa de la hepatosis exudativa ó enfermedad de edemas en cobayos y en monos jóvenes alimentados con 1 mg de la micotoxina por día desarrollaron lesiones típicas al cabo de 3 semanas, sus efectos carcinogénicos se han relacionado con posibles riesgos de las aflatoxinas para la especie humana. ^{9,19}.

Existen varios agentes químicos que reducen la mutagenicidad de la aflatoxina B1 como resultado de inhibir su activación metabólica o uniéndose al epóxido resultante. El ascorbato, el ácido fólico, la riboflavina, el alfatocoferol, el ácido retinoico y el retinol inhiben la unión de la aflatoxina B1 al DNA in vitro. El retinol posee la propiedad de interferir con la conducción de intercambio de crómatidas hermanas y aberraciones cromosómicas en células de hamster chino in vitro, la sulfadimetoxina reduce ligeramente la mortalidad, así mismo la cisteína y metionina inhiben la aflatoxicosis como la oxitetraciclinas ofrecen

protección contra la aflatoxicosis crónica en conejos, la administración de cobre en la ración podría tener un efecto protector contra los niveles bajos de aflatoxina en hamster 10,11,39,43.

El grupo más grande de micotoxinas químicamente afines, es el de los Tricotecenos, estos compuestos son producidos por varios hongos, los microorganismos más predominantes son *Fusarium* existiendo diferentes micotoxinas de este hongo FB1, FB2, FB3, estas se pueden producir en el maíz, el alimento contaminado con *Fusarium moniliforme* se asocia con diversas enfermedades en animales y humanos. 19,28,37.

La especie *Fusarium moniliforme*, inicialmente tiene un crecimiento rápido y transparente. Sus cepas son característicamente de color violeta-púrpura ó lila, crema pálido, de micelio aéreo, denso y delicadamente afelpado 28,8.

Este género de hongo se distribuye en todo el mundo, a lo largo de zonas tropicales y subtropicales en lugares húmedos. El hongo se desarrolla y contamina cultivos agrícolas como maíz, trigo, arroz etc, así como en suelos no cultivados preferentemente cálidos.

En recientes estudios se ha demostrado que en ciertos cultivos se produce un grupo de micotoxinas llamadas fumonisinas, ácido fusárico y Zearalenona. Otras especies del género son capaces de producir fumonisinas como *Fusarium proliferatum* 34,35.

La Fumonisina B1 (FB1) se le considera como promotor de cáncer esofágico y causa queratitis ulcerativa micótica diseminada en humanos. En ratones provoca múltiples nódulos hepáticos y áreas de depresión hepática, adenofibrosis actividad que a corto tiempo da inicio y/o lo promueve. También se ha identificado a la Fumonisina B1 como agentes causal de la enfermedad conocida como leucoencefalomalacia equina, el estudio histopatológico necrosis de la sustancia blanca encéfalica, además hemorragias, edemas y necrosis hepática. Se sospecha que causa infertilidad en el ganado lechero, estudios comprueban que en la dieta de pollos con una mínima concentración FB1 provoca efectos como una baja de peso, diarrea, necrosis hepática multifocal, hiperplasia biliar y muerte así como efectos inmunosupresores. En cerdos produce el síndrome de edema pulmonar. En conejos no se ha investigado un efecto

13,19,22,27,33,34,35,42,45.

HIPOTESIS

Las cepas de hongos Aspergillus flavus y Fusarium moniliforme aisladas del alimento comercial son micotoxigénicos para los conejos.

Estas cepas producen cambios en la determinación de minerales cobre, calcio, hierro, magnesio, manganeso, potasio, sodio y zinc en bazo, hígado, corazón y riñón de los conejos intoxicados con respecto al grupo control.

OBJETIVO

1.- Evaluar los efectos de la administración de alimento contaminado con Aspergillus flavus (Aflatoxina B1) y Fusarium moniliforme (Fumonisina B1) por medio de parámetros productivos como: ganancia de peso corporal, conversión alimenticia, cambios macróscopicos y micróscopicos

2.- Evaluar la alteración en los valores en la determinación de elementos minerales como son : cobre, calcio, potasio, magnesio, hierro manganeso, sodio y zinc en bazo, hígado, corazón y riñón del conejo.

MATERIAL Y METODOS

a) *Aislamiento del hongo -*

Los medios de cultivo utilizado para el aislamiento y purificación de los hongos fueron :

Medio de Papa-Dextrosa Agar (PDA) - Se calentaron 200 g de papa blanca pelada y cortada en trozos en un matraz Erlenmeyer con 1 litro de agua destilada por 10 minutos. A la infusión se le agregaron 20 g de agar y 15 g de dextrosa y se agitó la mezcla. Se colocó un tapón de algodón en la boca del matraz y se esterilizó en autoclave a 15 libras de presión durante 20 minutos. Se vaciaron en cada una de las cajas de petri (previamente esterilizadas en un horno a 170°C por 1 hora) veinte mililitros de medio de cultivo ya esterilizado, dentro de una campaña de flujo laminar para evitar contaminación, finalmente cuando el medio solidificó las cajas de petri fueron colocadas en el refrigerador durante 24 hrs para su posterior uso. ²⁸.

b) *Aislamiento de microflora.*

Para el aislamiento y purificación del género Aspergillus flavus se sembraron las colonias encontradas en el análisis general de microflora en medio de PDA del siguiente modo : Junto a un mechero con asa bacteriológica se colocó un poco de micelio de la colonia del hongo. Posteriormente se inoculó este en el centro de las cajas de petri. estas cajas se incubaron a 25°C durante 7 días . Transcurrido el tiempo de incubación se revisaron los

cultivos y se observó que sólo había una colonia por caja cuyo crecimiento era a partir del centro, con características similares a la colonia inicial, se le consideró como cepa pura ²⁸.

Para el aislamiento y purificación del género Fusarium spp. se resembraron las colonias de este hongo, encontradas en el análisis general de microflora en medio de PDA del siguiente modo: Junto a un mechero se tomó con una asa bacteriológica un poco de micelio de la colonia del hongo. Posteriormente se inoculó éste en el centro de la caja de petri. Las cajas se incubaron a 25°C durante 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación se revisaron los cultivos y se observó que sólo había una colonia por caja cuyo crecimiento era a partir del centro, con características iguales a la colonia inicial, se consideró como cepa pura ²⁸.

Para obtener una buena esporulación del hongo y así facilitar la determinación a nivel de especie, las cepas puras de Fusarium spp. fueron sembradas en el medio de cultivo de PDA, al término de la incubación se elaboraron preparaciones para observar al microscopio las cepas puras de los hongos y realizar la determinación a nivel de especie ²⁸.

c) Reproducción del hongo en arroz

Se utilizó el método de Eugenio¹³ modificado por Abbas ¹, el cual da una mayor cantidad de micotoxinas como resultado del rápido crecimiento y desarrollo del hongo.

La metodología para la elaboración del medio de arroz para ambos hongos se describe a continuación :

Se agregaron 200 g de arroz en un frasco de boca ancha de 1 litro y 180 ml de agua destilada, dejándose reposar durante una hora, a la tapa del frasco se le hizo un agujero de 2 centímetros de diámetro, al cuál se le colocó un tapón de algodón. Se agitó el arroz y se tapó el frasco después se esterilizó en autoclave a 15 libras de presión durante 60 minutos después de esto se agita el frasco para despegar el arroz, se deja reposar a temperatura ambiente durante 24 hrs, se volvió a esterilizar en autoclave a 15 libras de presión durante 60 minutos. Nuevamente se agitó el frasco después de esta segunda esterilización. En una campana de flujo laminar y junto a un mechero, se inóculo el arroz una vez frío, cortando un cuadrito del medio de cultivo PDA con el hongo utilizando una aguja de disección y colocándolo dentro del frasco. El medio de arroz inoculado se incubó a 25°C durante dos semanas. A partir del primer día se agitaron los frascos para facilitar la penetración uniforme del hongo en el arroz. Posteriormente los medios se incubaron a 10°C durante otras dos semanas.

d) *Determinación del hongo*

Se utilizó el manual de identificación para las especies del género Fusarium de Nelson y C.Booth ^{8,28} para la determinación a nivel de especie del hongo.

e) *Extracción de Micotoxinas*

Una vez reproducidos e identificados estos hongos se esterilizaron en autoclave, para ser molidos y poder realizar la extracción de micotoxinas.

Se utilizó el Método de Stoloff ⁴¹ Para la extracción de aflatoxinas.

1.- Se inocularon 25 g de la muestra de arroz con hongo con 45 ml de acetonitrilo (CH_3CN) y 5 ml de cloruro de potasio (KCl) al 4% en una licuadora, a alta velocidad durante 2 minutos.

2.- El extracto se filtro a través de un papel filtro Whatman #4 a un embudo de separación de 250 ml.

3.- Al filtrado se le adicionaron 12.5 ml de éter petróleo, se agitó durante un minuto, abriendo la llave para que salieran los gases. Posteriormente se formaron las dos fases, se desecho la fase superior. Este procedimiento se repitió dos veces y se realizó para desengrasar el extracto.

4.- Para colocar el extracto se preparó un gel con 50 ml de agua destilada y 5 ml de cloruro férrico (FeCl_3) al 10% con hidróxido de sodio (NaOH) al 4% a un pH de 4.6 en un potenciómetro.

5.- Se vació el gel en un extracto y se agitó por un minuto, abriendo la llave para dejar salir los gases; Se dejo reposar hasta que se separó el gel y se transfirieron 50 ml del extracto decolorado a un vaso de precipitado de 250 ml a través de un papel filtró Whatman #4.

6.- Se agregó el extracto en otro embudo de separación añadiendo posteriormente 5 ml de ácido clorhídrico (HCl) a un pH de 1.5 (este paso es una modificación - Campos 1987- de la técnica original, debido a que se ha encontrado que los ácidos ayudan a la extracción de las micotoxinas) y 12.5 ml de cloroformo (CHCl_3), se agitó por un minuto liberando los gases. Cuando se formaron las dos fases se colectó la inferior (cloroformo) en un vaso de precipitado y se desechó la fase superior. Se repitió el proceso vaciando la fase colectada en un embudo de separación añadiendo nuevamente 12.5 ml de cloroformo y se agitó por un minuto liberando los gases.

8.- Se decantó el cloroformo a otro matraz y se evaporó hasta quedar aproximadamente 1 ml, transfiriendolo posteriormente a un vial donde se dejó evaporar por completo en una estufa a una temperatura máxima de 40°C.

9.- Se resuspendió la muestras evaporada con 0.5 ml de metanol (CH_3OH) agitando en un vórtex por un minuto.

10.- Se aplicaron los extractos y los estándares en una placa para cromatografía en capa fina. La placa se colocó dentro de la cámara de vidrio para cromatografía; la cual contenía el desarrollador para micotoxinas preparado con 20 ml de acetona (CH_3COCH_3), 40 ml de acetato de etilo ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) y 60 ml de tolueno ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$).

11.- Finalmente se observó la placa bajo la luz ultravioleta marcando las manchas fluorescentes que se observaron y se midió la distancia recorrida por la mancha

en la placa para calcular la velocidad de flujo ó valor de R_f (factor de retardación = distancia recorrida por el soluto entre la distancia recorrida por el solvente) ⁴¹.

La concentración final de 50 ppb se mezcló en el alimento de conejos.

Se ha reportado que la determinación de FB1, FB2, FB3 en maíz por el método de Cromatografía de líquidos. ^{20,37}.

La dosis de fumonisina B1 1 ppm se seleccionó con base en los efectos indeseables que produce en equinos.

f) Elaboración del Pellet

Se utilizaron 80 kg de alimento comercial, 40 kg para Aflatoxina B1 y 40 kg para Fumonisina B1, estos se molieron en una licuadora casera y se tamizaron con una malla de alambre mosquitera, despues se mezclaron 500 mg de harina de trigo para 25 kg en una mezcladora de 100 kg para una distribución más homogénea de estas micotoxinas.

Para la elaboración del pellet se utilizó un molino de carne manual, el alimento se mezcló con agua hasta formar una masa compacta para evitar que se partiera al momento de formarse el pellet, este se colocó en charolas de malla de alambre para meterlas a la estufa a una temperatura de 70-80°C durante 12 hrs, al estar ya seco el pellet se fue colocándolas en cajas de cartón tapándolas muy bien en un lugar seco y que no le diera la luz solar para no inactivar la micotoxina.

g) *Obtención de conejos*

Se metieron a cruce 12 conejas de estas sólo parieron 5 ; esto se debe a la consanguinidad que existe en el bioterio. Después se metieron a cruce otras 12 conejas y se obtuvieron 32 conejos de los cuales 18 eran machos y 14 hembras, se escogieron únicamente los machos, debido a que presentan menos problemas hormonales; se espero a que se destetaran para pesarlos, se escogieron los que presentaban mayor peso y condiciones generales adecuadas. Antes de iniciar el experimento los animales se tatuaron y se volvieron a pesar, después se formaron 3 grupos de 5 conejos cada uno de 45 días edad, con un peso de 850 a 1200 g en promedio, el grupo testigo tuvo un peso inicial 1200 g y un peso final 2500 g. En los grupos experimentales Aflatoxina B1 su peso inicial es de 994 g y su peso final de 1480 g y el del grupo con Fumonisina B1 fue de 1310 g y su peso final de 1225 g donde en lugar de aumentar se redujó el peso (Fig 1).

Se evaluó la conversión alimenticia - pesándose diariamente el alimento y administrando 350 g para cinco conejos y se pesó el alimento sobrante de cada lote.

Los conejos se pesaron durante 19 días de tratamiento para obtener la ganancia de peso.

Al término del experimento los conejos se sacrificaron para conocer la intensidad de los cambios producidos por estos hongos y corroborar su toxicidad.

Se realizó la necropsia de cada conejo con la finalidad de conocer las lesiones macroscópicas.

Posteriormente se pesaron los órganos de los conejos de cada lote y se obtuvo un peso relativo de los órganos por lote. Para estudiar las lesiones microscópicas se recolectó la mitad de hígado, bazo, corazón y riñón, fijándose en formalina al 10 %, después se incluyeron en parafina para ser cortados y teñidos con Hematoxilina-Eosina (H-E), para su observación al microscopio de luz visible, tomando en cuenta cambios circulatorios, degenerativos, inflamatorios, necróticos y neoplásicos, se asignó grado de severidad de leve, moderado, severo, que presentaron comparando la intensidad entre los tres grupos. En la otra parte de los órganos se determinaron los elementos minerales como cobre, calcio, magnesio, manganeso, hierro, sodio, potasio, y zinc siguiendo la metodología que consiste en deshidratar los órganos en una estufa a una temperatura de 60 a 80°C. Una vez deshidratado cada órgano se pesa en una balanza analítica para ser incineradas en una mufla a una temperatura de 400 a 450°C durante 24 horas. Las muestras fueron disueltas en ácido clorhídrico al 3% y aforadas a 50 ml con agua desmineralizada. Una vez aforadas se realizó la determinación de elementos minerales por medio de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica ³⁰.

Los datos de conversión alimenticia, ganancia de peso, peso relativo de los órganos, y concentración de elementos minerales de los órganos se tabularon y se gráfcaron para

conocer las diferencias entre los órganos de los conejos de cada lote tratado. los datos se analizaron mediante un análisis estadístico de comparación de medias, análisis de varianza mediante el programa de informática True epistat 44.

Se realizó en el Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por el Método de A.O.A.C. un Análisis Químico Proximal de los tres tipos de alimento (alimento testigo, alimento tratado con Aflatoxina B1, alimento tratado con Fumonisina B1) Esto se llevó a cabo para evitar cualquier asociación de cambios ocasionados en los conejos durante el proyecto por la elaboración del alimento contaminado, notándose que no hubo diferencia significativa en los componentes de los alimentos a tratar. (Anexo 1, 2 y 3)

RESULTADOS

Los resultados que se obtuvieron en los siguientes parámetros fueron:

I.- Conversión alimenticia - El alimento consumido se dividió por el peso ganado durante los 19 días de exposición y se obtuvieron los siguientes índices :

Del grupo tratado con Aflatoxina B1	16.8 gr/kg
Del grupo tratado con Fumonisina B1	24.9 gr/kg
Del grupo testigo	9.2 gr/kg

Esto nos indica que hay una diferencia en la conversión alimenticia entre los grupos experimentales con respecto al grupo testigo (Fig.1 y Cuadro 1)

El comportamiento del índice de la ganancia de peso y alimento consumido durante la exposición de cada tres días se describe en la Fig.1. En esta se observa un mayor consumo de alimento con una menor ganancia de peso en los grupos experimentales con respecto al grupo testigo.

II.- Ganancia de peso - El comportamiento de la ganancia de peso como era de esperarse en el grupo testigo tuvo un incremento diario de aproximadamente 50 g, en cambio en los grupos experimentales se puede apreciar que no se incremento el peso durante los días de experimento Fig.3. Esto se observa en las gráficas donde se anotó el peso diario y cada

tres días (Fig. 2 y 3).

El peso promedio corporal se incremento sólo en el grupo testigo, en los grupos experimentales no se observó incremento permaneciendo igual a lo largo del experimento (Fig. 4)

III.- Peso Relativo de órganos - Con respecto al peso relativo de los órganos de acuerdo a cada grupo experimental se observó lo siguiente:

En los grupos tratados con Aflatoxina B1 y Fumonisina B1 hubo una reducción en el peso del hígado, sin embargo se observo un aumento en el peso del bazo de Fumonisina B1. En Corazón no se observaron cambios del peso.

Con respecto al grupo testigo se observó en el riñón una disminución de peso con el grupo tratado con Aflatoxina B1 y un aumento con el grupo con Fumonisina B1. (Cuadro 2)

IV.- Determinación de elementos minerales - En la evaluación de elementos minerales de los grupos experimentales se encontró que :

El calcio se vio aumentado en el bazo del grupo Aflatoxina B1 (636.61 mg/kg). En el riñón aumentó (102.04 mg/kg) con Fumonisina B1 (Fig. 5).

El cobre disminuyó en bazo (40.92 mg/kg) y en corazón (13.87 mg/kg) del grupo Aflatoxina B1 así como en bazo (41.29 mg/kg) del grupo Fumonisina B1 (Fig. 6).

El hierro en el bazo disminuyó (265.50 mg/kg) en el grupo

Aflatoxina B1 y aumentó en el grupo Fumonisina B1 (416.35 mg/kg). Este elemento tuvo una tendencia a incrementarse en los órganos restantes hígado (180.23 mg/kg), riñón (176.95 mg/kg) y corazón (231.91 mg/kg) del grupo Aflatoxina B1. Se observó un incremento marcado en hígado (346.54 mg/kg), riñón (416.35 mg/kg) y corazón (241.65 mg/kg) del grupo tratado con Fumonisina B1 (Fig.7).

En magnesio presentó un incremento en el riñón (3702.2 mg/kg) del grupo Fumonisina B1 de la misma manera que en el hígado (2311.52 mg/kg) y bazo (2152.07 mg/kg) del grupo tratado con Aflatoxina B1 (Fig.8).

El contenido de manganeso se vió disminuido en el bazo Aflatoxina B1 (13.63 mg/kg) y Fumonisina B1 (10.61 mg/kg), siendo más intenso en el grupo con Fumonisina B1 (Fig.9).

El contenido de potasio disminuyó en el bazo con el grupo de Aflatoxina B1 (0.8572%) y Fumonisina B1 (2.43 %) (Fig.10); el sodio en este mismo órgano se incremento en el grupo con Aflatoxina B1 (3.24 %) y Fumonisina B1 (2.13 %). En hígado (1.18 %) del grupo tratado con Aflatoxina B1 (Fig.11).

El zinc se incremento ampliamente en el bazo (10086.21 mg/kg) el grupo con Aflatoxina B1 y en riñón (2539.9 mg/kg) y con Fumonisina B1 (1870.03 mg/kg) (Fig.12).

V. - *Histopatología* -

a) GRUPO CON AFLATOXINA B1

Los hallazgos histopatológicos encontrados en bazo, hígado, riñón y ganglios linfáticos de conejos alimentados con Aflatoxina B1 fueron :

En la sección de hígado se observó hiperplasia del conducto biliar moderada multifocal (Fig.15) también se apreció exfoliación intraluminal del conducto biliar (Fig.16), al igual que cambios degenerativos en la mayoría de las células presentándose procesos del tipo degeneración grasa a nivel zona centrolobulillar (Fig.17).notándose desórdenes de los cordones difusa moderada (Fig.18).

En riñón se identificó discretos cambios degenerativos que corresponde a degeneración grasa y degeneración hidrópica de las células del epitelio de los conductos proximales (Fig 22).

En Bazo se observó atrofia subcapsular así como atrofia del centro germinativo.

b) GRUPO CON FUMONISINA B1

Los hallazgos histopatológicos encontrados en bazo, hígado, riñón y ganglios linfáticos de conejos alimentados con

Fumonisina B1 fueron :

En hígado hay una marcada hiperplasia del epitelio y exfoliación de células intraluminales del conducto biliar así como fibroplasia alrededor del epitelio del conducto biliar (Fig.19), observándose desorden de los cordones y discretos cambio degenerativos del tipo grasa e hidrópica en las células a nivel centrolobulillar (Fig.20 y 21).

En riñón se aprecian cambios degenerativos en la mayoría de las células de los túbulos contorneados proximales que sugieren cambio hidrópico (Fig.23).

En Bazo se observaron cambios asociados a discreta atrofia de los folículos germinales.

DISCUSION

Los resultados observados en conversión alimenticia y en ganancia de peso de conejos alimentados con aflatoxina B1 (50ppb) y Fumonisina B1 (1 ppm) fueron los esperados ya que los índices aumentaron con respecto al grupo testigo lo que es similar a lo notificado por Lal, Krishna ²³, quien encontró que con una dosis mínima de 90 microgramos/kg de Aflatoxina B1 los parámetros productivos se reducían. Silvestri, G.R.³⁷ detectó la Aflatoxina B1 en el 35.5% de 299 muestras de maíz entero, de éste 35.5% el 16.3% tuvieron más de 20 ppb; 5.9% más de 100 ppb, y en el caso del maíz molido el 31.8% de 255 casos, el 19.3% tuvieron más de 20 ppb y el 3.5% más 100 ppb.

Al comparar la dosis administrada de aflatoxina en esta investigación con las de los autores antes mencionados se determino que la dosis tóxica del alimento es de 20 a 100 ppb pudiendo obtener una dosis mínima de 20 ppb y una dosis media de 50 ppb con los valores mencionados por estos autores.

En estudios realizados con FB1 se encontraron las concentraciones de esta micotoxina en la dieta que provocan muerte de los animales. Se reportaron 44 casos asociados a Leucoencefalomalacia equina que contenían rangos menores de 1 ug/g de FB1 a 126 ug/g. y 42 casos de edema pulmonar en cerdos el rango era menor de 1 ug/g. a 330 ug/g ³⁵. La dosis administrada en esta investigación fue de 1 ppm (dosis mínima tóxica en equinos) puesto que no se encontraron datos

en conejos.

La conversión alimenticia se vio disminuida en los grupos experimentales al compararse con el grupo testigo. En la ganancia de peso se observó un incremento diario del grupo testigo .

Se ha observado que hay una pérdida de peso drástica en la primera semana en el grupo tratado con Aflatoxina B₁ manteniéndose en la segunda semana. En el grupo tratado con Fumonisina B₁ hubo una pérdida de peso gradual en la primera semana, viéndose más disminuida en la segunda semana , en el grupo testigo no se observó esta pérdida de peso. Esto concuerda con lo descrito por Abdelhamid, A.M.², Abdelhamid A.M.³, Clark, J.D.¹², y Singh, J.³⁹ quienes observaron una pérdida de peso corporal que llegaba hasta la muerte por la administración de Aflatoxina B₁. Sin embargo los efectos tóxicos de las aflatoxinas sobre el animal dependen estrechamente del tiempo de exposición, dosis, edad y especie animal como lo menciona Pier, A.C.³¹.

El peso relativo del hígado tuvo una reducción en ambos grupos de animales tratados con Aflatoxina B₁ y Fumonisina B₁, el bazo tuvo un aumento en el grupo Fumonisina B₁; el riñón una disminución con el grupo Aflatoxina B₁ y un aumento con el grupo Fumonisina B₁ (Cuadro 2). En este estudio se obtuvo un peso relativo significativamente menor en hígado, bazo, corazón y riñón de los animales alimentados con Aflatoxina B₁ y Fumonisina B₁ tales hallazgos difieren con los encontrados por Chavez, N.V.M.⁹, Clark, J.M.¹², Pier,

A.C.³¹, quienes mencionan que el peso del hígado, riñón y bazo se incrementan con las aflatoxina por el efecto de su toxicidad.

A pesar de que se ha estudiado al Fusarium moniliforme en algunas especies domésticas no se han descrito informes del efecto que causa la Fumonisina B1 en conejos en la literatura consultada.

En la determinación de minerales se observó que el contenido de Calcio aumentó en bazo del grupo con Aflatoxina B1 así como en el riñón del grupo con Fumonisina B1 (Fig.5). El Cobre se ve disminuido en bazo y corazón del grupo con Aflatoxina B1 al igual que en bazo del grupo con Fumonisina B1 (Fig.6). Falandysz, J.¹⁷ ha encontrado en músculo hígado y riñón de conejos para abasto del noroeste de Polonia que el nivel medio obtenido de cobre es 0.52-7.3, 3.8-88 y 2.8-15 mg/kg respectivamente y al comparar el contenido del hígado del grupo testigo con estos niveles se observó estan dentro del rango 7.27-45.40 mg/kg dados por Falandysz, J; en el grupo con Aflatoxina B1 también se encontró en el nivel promedio que fue de 9.68-40.94 mg/kg al igual que el grupo con Fumonisina B1 se encontró un nivel de 8.71-23.54 mg/kg. El riñón también se comparó y se tuvo en el grupo testigo 10.30-644.17 mg/kg rebasa el nivel promedio; el grupo con Aflatoxina B1 obtuvo 10.74 - 15.14 mg/kg se mantuvo en los niveles ya mencionados; el grupo con Fumonisina B1 1.32-17.56 mg/kg se mantuvieron en el nivel promedio ya mencionado. El nivel del hierro en bazo disminuyó en el

grupo con Aflatoxina B1 y se incrementó en el grupo Fumonisina B1; se observó una tendencia a incrementarse en los órganos restantes (hígado, riñón y corazón) del grupo con Aflatoxina B1 pero se incrementó más en el grupo con Fumonisina B1 (Fig.7). Falandysz, J.¹⁷ menciona que el promedio de hierro en músculo, hígado y riñón de conejos es 10-35, 27-83 y 50-180mg/kg. Al compararse con la concentración en el hígado de los conejos testigo el nivel fue 83.35-183.53 mg/kg es superior a los niveles encontrados por Falandysz, J.; en el grupo con Aflatoxina B1 se obtuvieron 114.68-250.06 mg/kg al igual que el grupo con Fumonisina B1 se obtuvieron 86.83-1209.8 mg/kg encontrándose superiores a los niveles promedio. Se comparó el riñón del grupo testigo y se obtuvo 92.36-8650.30 mg/kg es más alto, en el grupo Aflatoxina B1 fue de 142.65-215.87 mg/kg y el grupo con Fumonisina B1 obtuvo de 123.38-1242.35 mg/kg ambos fueron superiores a los niveles promedio que los mencionados por Falandysz, J.¹⁷. Si aumenta la concentración mineral en riñón es indicativo de que la excreción de ese elemento está aumentada. El Magnesio aumento en riñón del grupo con Fumonisina B1 al igual que en el hígado y bazo del grupo con Aflatoxina B1 (Fig.8). En el Manganeso hay disminución en bazo de los dos grupos experimentales pero más intenso en Fumonisina (Fig.9). Falandysz, J.¹⁷ menciona que el nivel promedio de este mineral en músculo, hígado y riñón es de 0.11-0.27, 0.73-3.3 y 0.90-1.9 mg/kg. En el hígado del grupo testigo se encontró 3.979-6.45 mg/kg se encuentra superior

al nivel promedio; en el grupo con Aflatoxina B1 fue de 4.93-7.79 mg/kg es superior al nivel promedio; en el grupo de Fumonisina B1 es 3.87-6.53 mg/kg se encuentra ligeramente superior al promedio ¹⁷. El potasio sufrió una disminución en bazo de los dos grupos experimentales en contra posición al sodio que en este mismo órgano se incrementó intensamente y en el hígado del grupo con Aflatoxina B1 (Fig.11). El zinc se incrementó en el bazo del grupo con Aflatoxina B1 y en el riñón de los dos grupos experimentales (Fig 12).

En el exámen histopatológico se observó una marcada diferencia de las lesiones entre Aflatoxina B1 y Fumonisina B1 en Hígado en este trabajo:

La aflatoxina B1, se identificaron procesos degenerativos alrededor de la vena central tipo degeneración grasa. En la pared de los canales biliares se identificó hiperplasia de células epiteliales que concuerdan con lo descrito por Clark, J.D., Hatch, R.C.¹¹, Lal, Krishna²³ y Pier A.C.O³¹ que mencionan cambios similares descritos en hígado. La fumonisina B1, Se observó una infiltración de células mononucleares alrededor de los canales biliares y se identificó una hiperplasia de células en la pared de conductos biliares hasta de 5 a 6 células en línea.

En la literatura se ha notificado que el Aspergillus flavus (Aflatoxina B1) comúnmente va acompañado de Fusarium spp (Fumonisina B1) lo que constituye un problema para la Salud Pública en México ya que su población consume el maíz. Se ha detectado que la Aflatoxina B1 es un factor etiológico

en el desarrollo de la enfermedad de Reyé al noroeste de Tailandia, la cual se caracteriza por presentar en el hombre estupor, coma, ataques, hiperventilación, hepatomegalia y muerte. También se ha hecho mención de que el tejido hepático de niños de 8 y 22 meses de edad se obtuvo una concentración de Aflatoxina B1 de 50 µg/kg después de ingerir arroz ¹³.

La Fumonisina B1 no ha sido estudiada en México, desconociéndose la mayoría de sus efectos, lo cual da una revelante importancia a su identificación en el maíz ya que se considera al Fusarium spp. un contaminante casi universal de este. Además de ser la primera vez que esta micotoxina es identificada en México por métodos cromatográficos.

LITERATURA CITADA.

- 1.- Abbas, H.K., Shier, W.T. and Mirocha, C.J. : Sensitivity of cultured human and mouse fibroblasts to Trichothecenes. J.Assoc.off Anal. Chem. 67:607-610 (1984).
- 2.- Abdelhamid, AM; .El-Shawas, I; El Ayoty, SA;Ali, MM;Gamil, T;. Effect of low level of dietary aflatoxins on Baladi rabbit. Arch.of Anim. Nut.,40:,517-537.(1990).
- 3.- Abdelhamid, AM;. Effect of feeding rabbits on naturally moulded and mycotoxin-contaminated diet. Arch. of Anim. Nut.,40:, 55-63(1990).
- 4.- Abdelhamid, AM;.Physionutritional effects of rubratoxin-B on rabbits. Arch.of Anim. Nut. 38: 825-832.(1988).
- 5.- Andrade, O.F.; Efecto de los aluminosilicatos como secuestrantes de aflatoxinas B1, evaluado por conversión alimenticia y concentración de Ca, P, Mg, Fe, Cu y Zn.en pollo de engorda,Tesis Fac. de Med. Vet y Zoot. Universidad Nacional Autonoma de México,México,D.F.,1993
- 6.- Anon; Pier, AC; Newberne, PM; Munro, IC; Scott, PM; Moodie, CA:. Mycotoxicoses of domestic animals. J. of the Am. Vet.Med.Assoc.163:(1973)..
- 7.- Bauer, J; Buether, M; Godek, B:. Suppression of the activity of natural killer-cells in NMRI mice by T-2 Toxin . Proceedings of the Japanese Assoc. of Myco. Supplement No.1 ,111-112.(1988).

- 8.- C. Booth.; The genus Fusarium. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England . 1971.
- 9.- Chavez, N.V.M.; Aislamiento e identificación de hongos y sus micotoxinas a partir de sorgo con alto grado de humedad y sus efectos en animales experimentales. Tesis de Maestría, Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., 1991.
- 10.- Clark, JD; Jain, AV; Hatch, RC; Mahaffey, -EA.: Experimentally induced chronic aflatoxicosis in rabbits. Am. J. of Vet. Res. 41:1841-1845. (1980).
- 11.- Clark, JD; Hatch, RC; Jain, AV; Weiss, R.: Effect of enzyme inducers and inhibitors and glutathione precursor and depletor on induced acute aflatoxicosis in rabbits. Am. J. of Vet. Res. 43:1027-1033. (1982).
- 12.- Clark, JD; Jain, AV; Hatch, RC.: Effects of various treatments on induced chronic aflatoxicosis in rabbits. Am. J. of Vet. Res., 43:, 106-110. (1982).
- 13.- Enriquez, E.C. : Micotoxicosis provocadas por hongos de los géneros Penicillium y Aspergillus en pollos para engorda. Tesis Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México D.F. 1980.
- 14.- Eugenio, C.P., Christensen, C.M. and Mirocha, C.J.: Factors affecting production of the Mycotoxin F-2 by Fusarium roseum. Phytopathology 60:1055-1057 (1970).
- 15.- E. Wang and A.H. Merrill Jr. : Effects of feeding Fusarium moniliforme culture material containing known levels, of fumonisin B1 on the young broiler chick

Poultry Sci. 72:456-466 (1993).

- 16.- Fakete, S; Tamas, J; Vany, A; Glavits, R; Bata, A; .
Effect of T-2 Toxin on feed intake, digestion and
pathology of rabbit. Lab. Anim. Sci. 39: 603-
606. (1989).
- 17.- Falandysz, J.: Manganese, copper, zinc, iron, cadmium,
mercury and lead in muscle meat, liver and kindeys of
poultry, rabbit and sheep slaughtered in the northern
part of Poland. Food addit. and contam. 8: 1,71-83
(1991).
- 18.- Gill, BS; Roy, KS; Baxi, KK;. Clinico-pathological
studies on experimentally induced aflatoxicosis in
rabbits. Ind. Vet. Med. J. 2: 21-25. (1985).
- 19.- Humphreys D.J., BSc PhD CChem. FRSC Veterinary
Toxicology. Ed. Baillere Tindall 3rd edition The Royal
Vet. College Univ. of london 1988..
- 20.- Hutchins, J.E. and Hagler W.M. : Rapid liquid
cromagraphic determinatiin of aflatoxins in haevily
contaminated corn J. Assoc. of Anal. Chem. 66 (1986).
- 21.- J.P.Rheeder, W.F.O; Marasas, P.G. Thiel, E.W. Sydenham,
G.S. Shephard and D.J. Van Schalkwyk : Fusarium
moniliforme and fumonisins in corn in relation to
human esophageal cancer in transkei, the American
Phytopathological Society 82:3 (1992).
- 22.- Karppanen, E; Rizzo, A; Berg, S; Lindfors, E; Abo, R. :
Fusarium mycotoxins as a problem in finnish feeds and
cereals . J. of Agricul. Sci. in Finland 57: 3, 195-

205 (1985).

- 23- Lal, Krishna; Dawra, RK; Vaid, J; Krishna, L;. An outbreak of aflatoxicosis in Angora rabbits . Vet. and Hum. Toxic. 33:159-161.(1991).
- 24.- Makkar, HPS; Singh, B:. Aflatoxicosis in rabbits. J. of Appl. Rabbit Res. 14: ,210-221.(1991).
- 25.- Maru A; Srivastava, CP; Lonkar, PL; Dubey, SC;. Anote on acute aflatoxicoses in farm rabbits . Ind. J. of Comp. Microb., Immun. and Infect. Dis. 8:102-104. (1987).
- 26.- Martínez C.M.A. : Manual para el cuidado y utilización de los animales de laboratorio ratas, ratones y conejos. Tesis Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 1984.
- 27.- Merck, and Co; Manual Merck de Veterinaria , 3a. ed., Centrum España. 1988
- 28.- Nelson, P.E., Tousson, T.A. and Marasas, W.F.O. : Fusarium species. An illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press. U.S.A. (1983).
- 29.- Norred, W. P., Bacon, C.W; Porker J.K; Voss, K.A. : Inhibition of protein synthesis in rats primary hepatocytes by extractos of Fusarium moniliforme contaminated corn. Food and Chemical Toxicology 28:2,89-94 (1990).
- 30.- Perkin-Elmer : Analytical Methodos for Atomic Absortion Spectrophotometric. USA Perkin-Elmer Co (1982).

31. Pier, A.C. : Mycotoxins and animal health. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 25 :185-243 (1981).
32. Pier, A.C., D.V.M Ph.D : Effects of aflatoxin on immunity J.A.V.M.A. 163:
33. Piennar, J.G., Kellerman, T.S., Marasas, W.F. O : Field Outbreaks of Leukoencephalomalacia in horses consuming maize infected by Fusarium verticillioides (F.moniliforme) in South Africa J. of the South African Vet. Assoc. 52 : 21-24 (1981).
34. Ross, P.F. Nelson, P.F., Richard, J.L. Osweiler, G.D., Rice, L.G., Plattner, R.D. Wilson, T.M. : Production of Fumonisin by Fusarium moniliforme and Fusarium proliferatum isolated associated with equine Leukoencephalomalacia and a pulmonary edema syndrome in swine Appl. and Environ. Microbiol. 56 :10,3225-3226 (1990).
35. Ross, P.F: Rice, L.G. Plattner, R.D. Osweiler, G.D., Wilson, T.M. Owens, D.L., Nelson, H.A., Richard, J.L. : Concentrations of Fumonisin B1 in feeds Associated with animal health problems Micopathologia 114: 3,129-135 (1991).
36. Serban, O; Istrate, N; Boltasu, G; Losrf, V; Bunea, M;. Natural mycotoxicosis in rabbits breeding farms with predominant implication of aflatoxin. Laboratory investigation, histopathology aspects and mycotoxicological investigations. Arch. Roumaines de Pathol. Exp. de Microb. 40: ,353-359. (1981).

- 37.- Sydenham, E.W; Shephard G.S. and Pieter G. Thiel :
Liquid chromatographic determination of fumonisins B1,
B2 and B3 in foods and feeds. J.of AOAC Internat. 75:2
(1992).
- 38.- Silvestri, GR; Alayon, ES.: Incidencia de aflatoxinas
en alimento para conejos y truchas y en maíz para uso
animal. Rev. de la Fac.C. Vet. Univ. Central de
Venezuela. 34:1-4 (1987).
- 39.- Singh, J.; Tiwari, RP; Singh, S; Vadehia, DV.:
Biochemical and immunological effects of aflatoxins in
rabbits. Toxic. - Letters. 35:.(1987).
- 40.- Smith, TK; James, LJ.: Mycotoxins in animal feeds : an
update. Feedstuffs. 52:30-31.(1980).
- 41.- Stoloff, L;.: Analytical Methods for Mycotoxins
Clinical Toxicology 5 : 30-31 (1980).
- 42.- Vesonder, R Haliburton, J; Golinsk, P. Toxicity of
field samples and Fusarium moniliforme from feed
associated with equine Leucoencephalomalacia. Arch.of
Environm. Contam. and Toxic. 18 : 439-442 (1988).
- 43.- Waters. M.D., Brady, A.L., Stack, H.F. and Brockman.E:
Antimutagenicity prefiles for some model compounds
Mutation Research 238:57-58 (1990).
- 44.- Wayne W. Daniel.: Bioestadística. Base para el análisis
de las ciencias de la Salud. 3a edición , Ed.
LIMUSA. 1987.

- 45.- Wilson, T.M.; Nelson, P.E; Knepp C.R. : Hepatic neoplastic nodules, adenofibrosis and cholangiocarcinomas in male Fisher 344 rats fed corn naturally contaminated with *Fusarium moniliforme*. Vet. Diagnostic.Lab.Centralized Biol. Lab. Pennsylvania, State University Park, U.S.A Carcinogenesis 6:8,1155-1160 (1985).

CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 1

CONVERSION ALIMENTICIA DE CONEJOS EXPUESTOS A ALIMENTO
CONTAMINADO CON Aspergillus flavus y Fusarium moniliforme

GRUPO	ALIMENTO CONSUMIDO DURANTE 18 DIAS g/kg	GANANCIA DE PESO DURANTE 18 DIAS	CONVERSION ALIMENTICIA ALIM/KGPESO
AFLATOXINA	5,608	332	16.89
FUSARIUM	5,770	231	24.97
TESTIGO	6,359	690	9.21

Cuadro 2

PESO PROMEDIO RELATIVO DE ORGANOS DE CONEJOS
EXPUESTOS A Aspergillus flavus y Fusarium moniliforme

	HIGADO	BAZO	CORAZON	RINON
AFLATOXINA	3.103	0.041	0.2017	0.3105
FUSARIUM	3.279	0.138	0.2405	0.4207
TESTIGO	2.655	0.060	0.2166	0.3484

Fig.1 Conversión Alimenticia por grupo de conejos expuestos al inóculo de A.flavus y F. moniliforme.

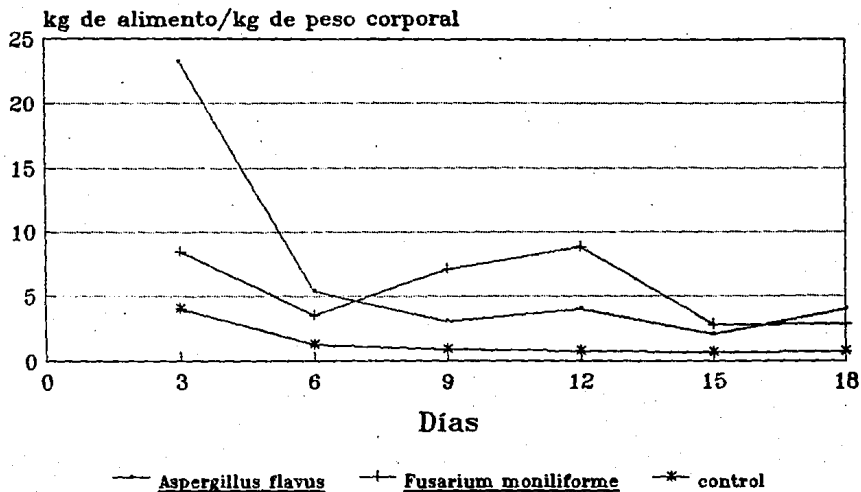


Fig.2 Ganancia de peso promedio por grupo de conejos expuestos a inóculo F.moniliforme y A. flavus.

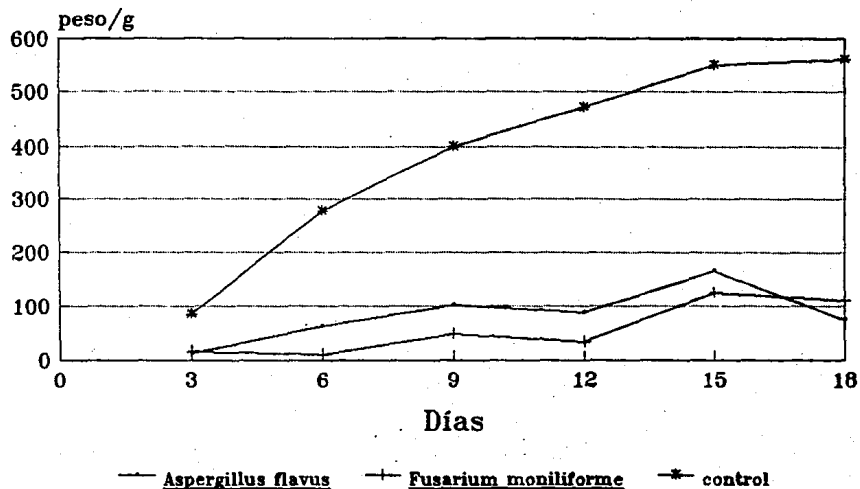


Fig.3 Ganancia de peso promedio por grupo de conejos expuestos a inóculo de A. flavus y F. moniliforme.

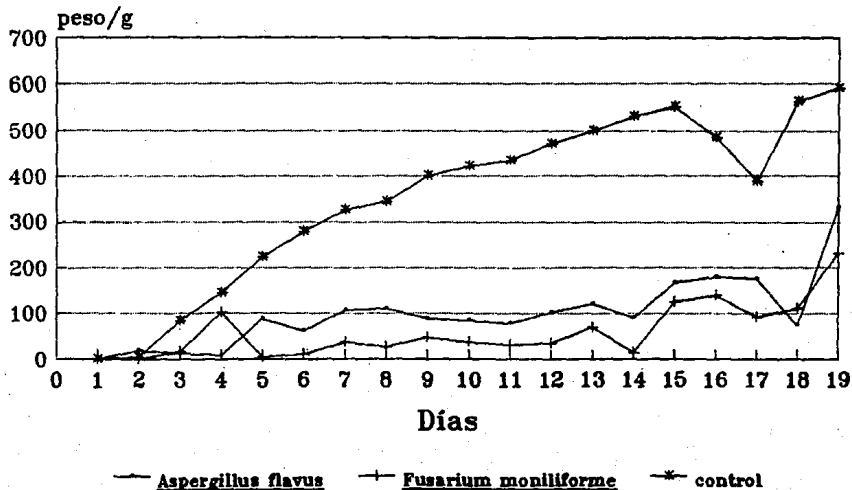


Fig.4 Peso promedio por grupo de conejos expuestos a inóculo de Fusarium moniliforme y Aspergillus flavus.

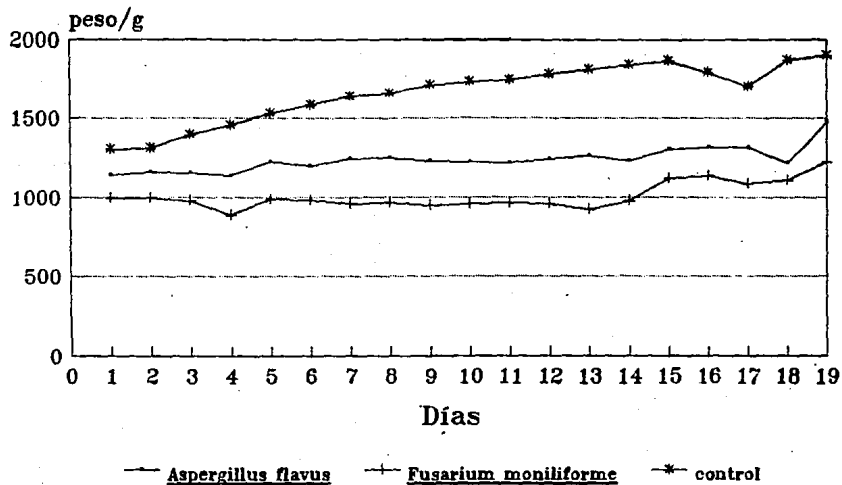


Fig.5 Concentración de Ca (ppm) en órganos de conejos expuestos a alimento con inóculo de A.flavus y F.moniliforme

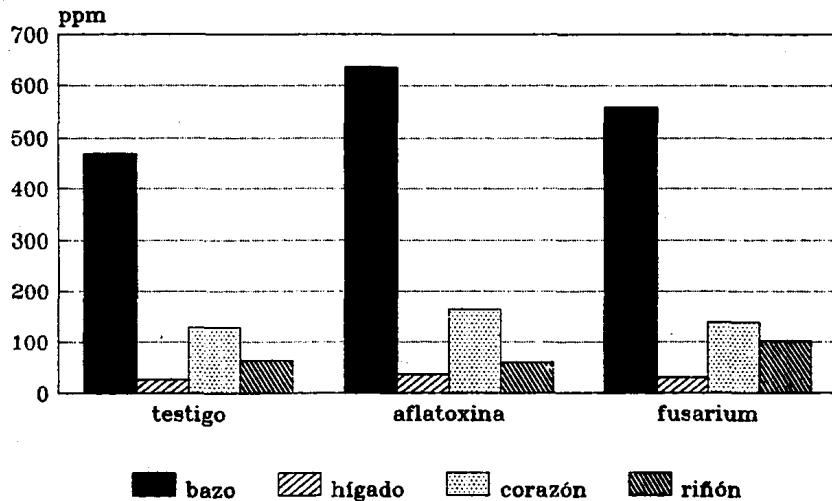


Fig.6 Concentración de cobre (mg/kg) en órganos de conejos expuestos a alimento con inóculo de A.flavus y F.moniliforme

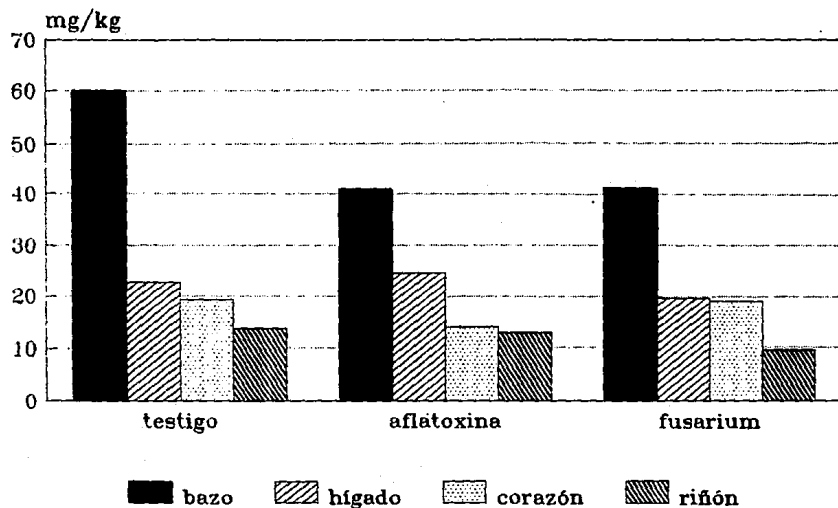


Fig.7 Concentración de Fe (mg/kg) en órganos de conejos expuestos a alimento con inóculo de A.flavus y F.moniliforme

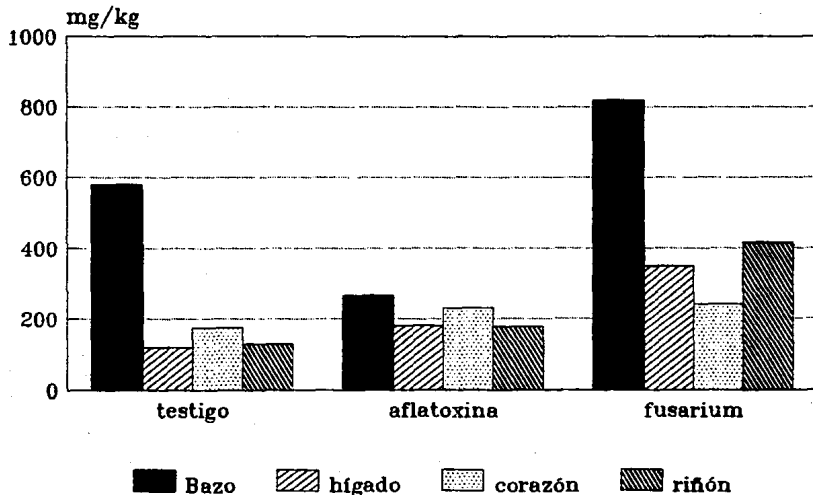


Fig.8 Concentración de Mg (mg/kg) en órganos de conejos expuestos a alimento con inóculo de A.flavus y F.moniliforme.

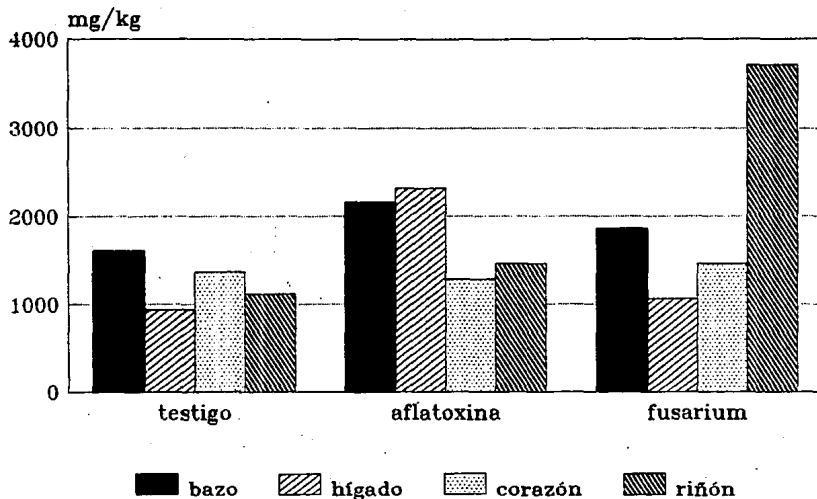


Fig.9 Concentración de Mn (ppm) en
órganos de conejos expuestos a alimento
con inóculo de A.flavus y F.moniliforme.

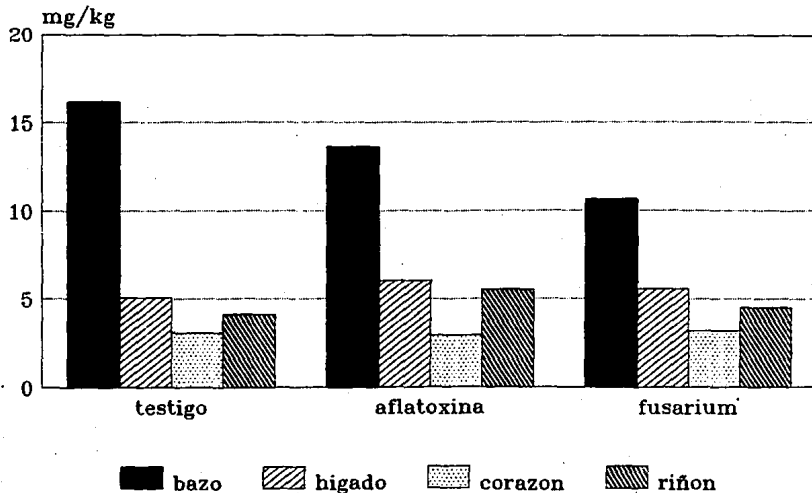


Fig.10 Concentración de K (%) en órganos de conejos expuestos a alimento contaminado con A. flavus y F. moniliforme

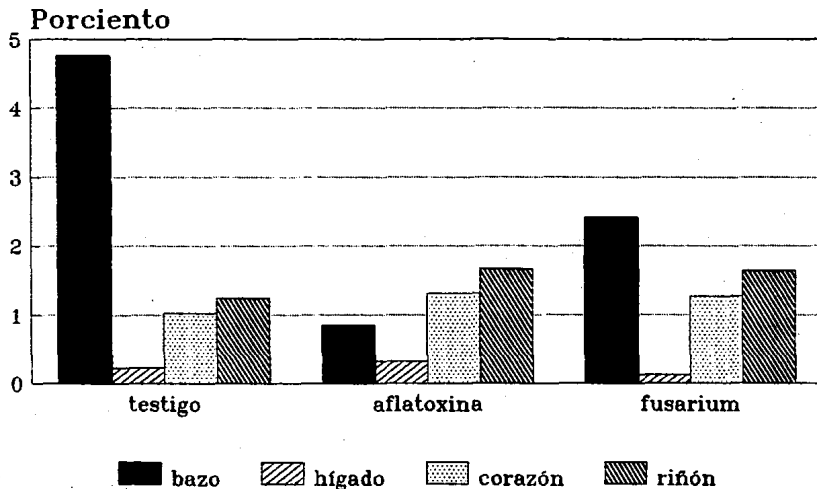


Fig.11 Concentración de Na (%) en órganos de conejos que consumieron A. flavus y F. moniliforme

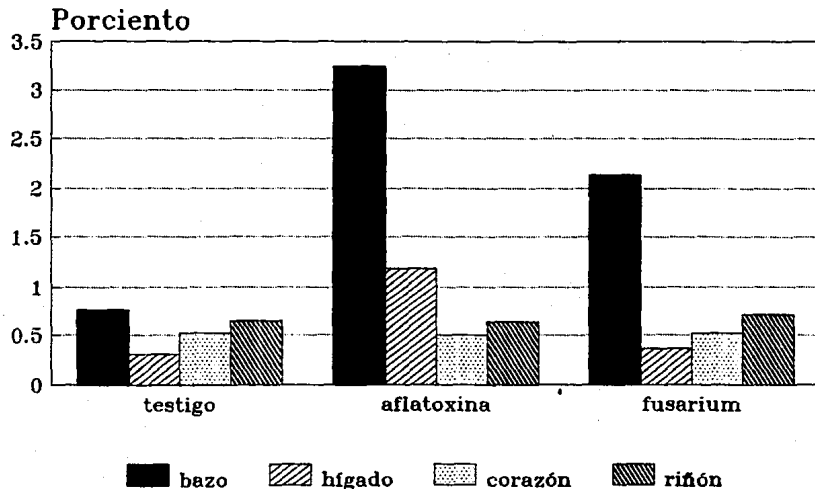


Fig.12 Concentración de Zn (ppm) en
 órganos de conejos expuestos a alimento
 contaminado con A.flavus y F.moniliforme

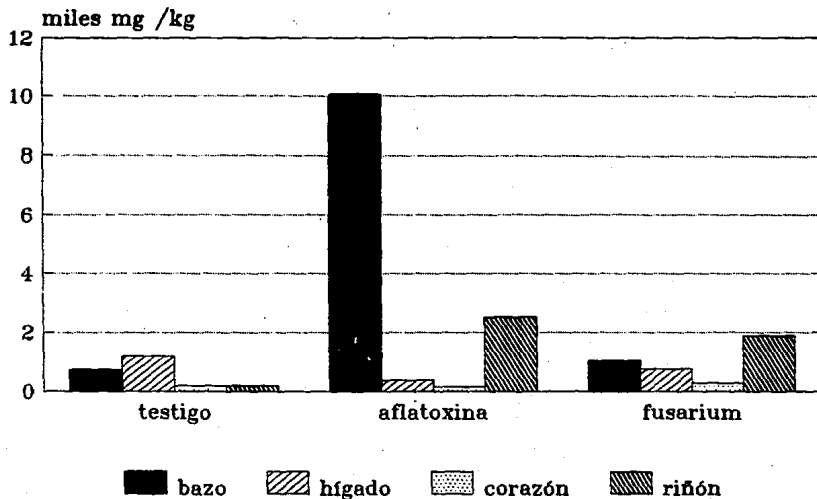




Fig. 13- Sección de hígado de conejo sin tratamiento. Se aprecia el epitelio cúbico simple del conducto biliar (Santamaría F.I. y Ramírez.L.J.; F.M.V.Z. UNAM)(4375x, Tinción H-E).

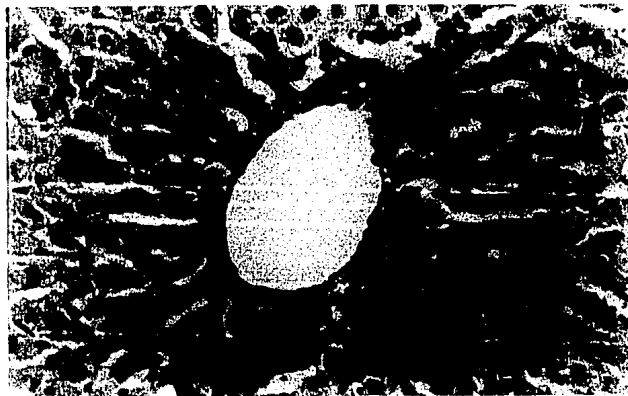


Fig. 14- Sección de hígado de conejo sin tratamiento. Sin cambios histológicos evidentes (Santamaría F.I. y Ramírez.L.J.; F.MV.Z. UNAM)(4375x, Tinción H-E).



Fig. 15- Sección de hígado de conejo expuesto a aflatoxina B₁. Se aprecia hiperplasia del conducto biliar multifocal moderada (Santamaría, F.I y Ramírez L.J., FMVZ, UNAM)(8750x, Tinción H-E).

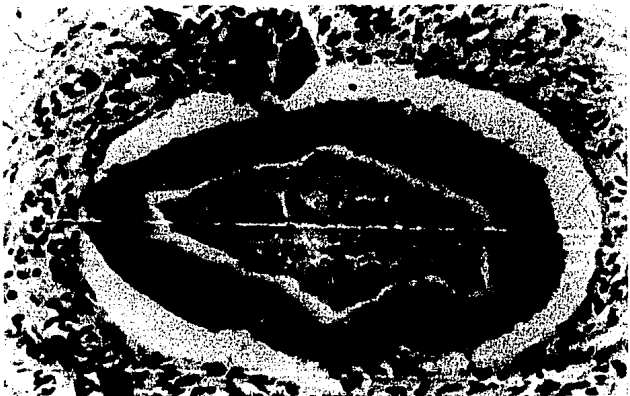


Fig. 16- Sección de hígado de conejo expuesto a aflatoxina B₁ en el alimento. Se aprecia en el conducto biliar marcada hiperplasia del epitelio y exfoliación intraluminal (Santamaría F.I. y Ramírez L.J.; F.M.V.Z. UNAM) (4375x, Tinción H-E).

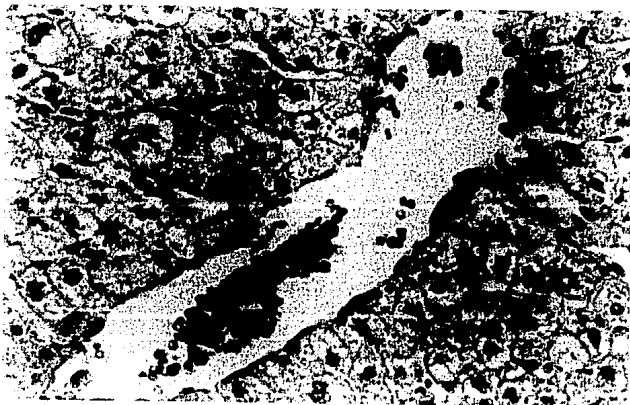


Fig. 17- Sección de hígado de conejo expuesto a Aflatoxina B1 en el alimento. Se aprecian cambios degenerativos en la mayoría de las células sugestivo a grasa a nivel zona centro lobulillar (Santamaría F.I. y Ramírez.L.J.; F.M.V.Z UNAM)(4375x, Tinción H-E).

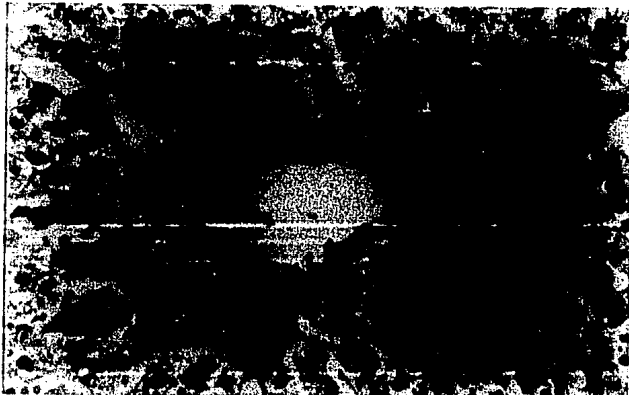


Fig. 18- Sección de hígado de conejo expuesto a aflatoxina B1. Se aprecian desórdenes de los cordones moderada difusa (Santamaría F.I. y Ramírez.L.J.; F.M.V.Z. UNAM) (8750x, Tinción H-E).



Fig 19- Sección de hígado de conejo expuesto a fumonisina B1. Se observa hiperplasia del conducto biliar y fibroplasia alrededor del mismo (Santamaría F.I. y Ramírez.L.J.; F.M.V.Z. UNAM)(4375x, Tinción H-E)

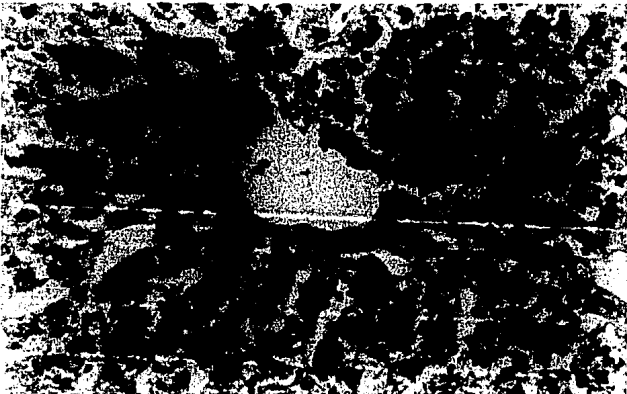


Fig. 20- Sección hígado de conejo expuesto a fumonisina B1. Se observan desórdenes de los cordones y discretos cambios degenerativos en las células a nivel centrolobulillar (Santamaría F.I. y Ramírez.L.J.; F.M.V.Z. UNMA)(8750x, Tinción H-E)

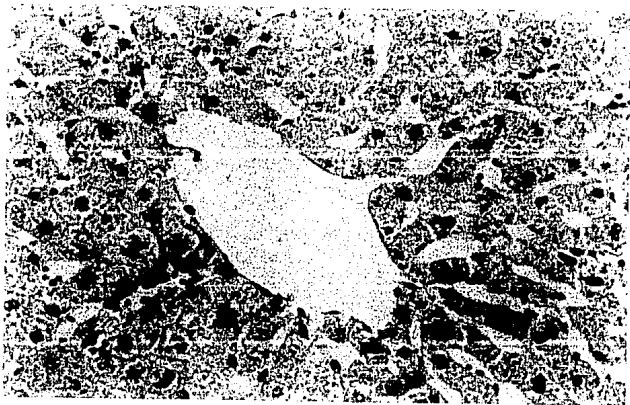
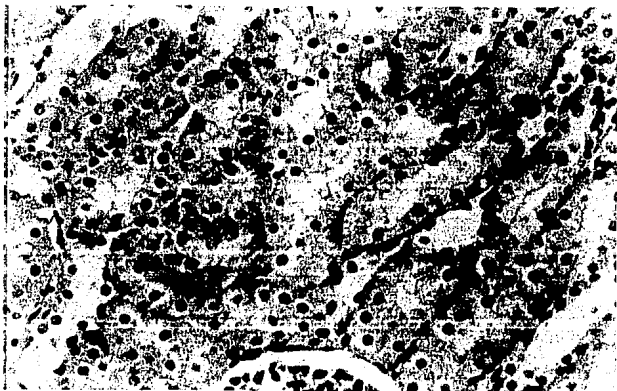


Fig 21- Sección de hígado de conejo expuesto a fumonísina B1. Se observan cambios degenerativos en la mayoría de las células sugestivo a grasa nivel de la zona centrolobulillar. (Santamaría F.I. y Ramírez .L.J.; F.M.V.Z. UNAM)(4375x, Tinción H-E)



Fig. 22-. Sección de riñón de conejo sin tratamiento. Sin cambios histológicos aparentes (Santamaría F.I. y Ramírez.L.J.; F.M.V.Z. UNAM)(4375x, Tinción H-E).



59

Fig. 23 Sección de riñón de conejo expuesto a aflatoxina B₁. Se observan cambios degenerativos en la mayoría de las células del epitelio de los túbulos contorneales proximales sugestivos a cambio hidrópico (Santamaría F.I. y Ramírez L.J.; F.M.V.Z. UNAM) (8750x, Tinción H-E).

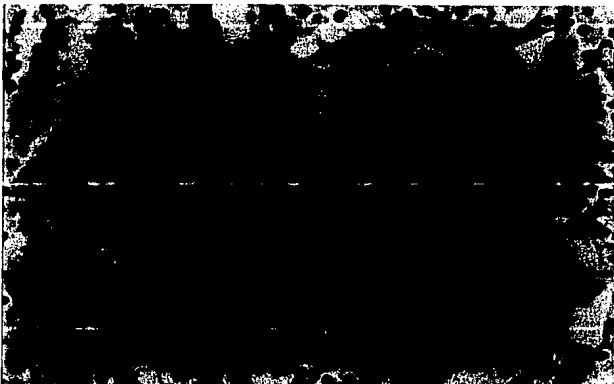


Fig. 24 Sección del riñón de conejo expuesto a fumonisina B₁. Se aprecian discretos cambios degenerativos en la mayoría de las células de los túbulos contorneales proximales que sugieren cambio hidrópico (Santamaría F.I. y Ramírez.L.J.; F.M.V.Z. UNAM)(4375x, Tinción H-E)

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICION ANIMAL Y BIOQUIMICA
LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICOS PARA ALIMENTOS (SARH No.0980693)

C. Universitaria, D.F. a 17 DE MARZO DE 1994

Ingrediente: ALIMENTO PARA CONEJO C.

Numero de muestras: 215

Remitido por: MVZ. IRMA SANTA MARIA.

Procedencia: PURINA

Analisis Quimico Inmediatos metodo A.O.A.C. QUIMICO PROXIMAL
Pagado con recibo No.: MEMORANDUM

	BASE HUMEDA %	BASE 90 MAT. SECA %	BASE SECA %
Materia seca %	90.94	90.00	100.00
Humedad %	9.06	10.00	00.00
Prot. Cruda (N*6.25) %	15.50	15.34	17.05
Extracto Etereo %	4.26	4.21	4.68
Cenizas %	6.94	6.86	7.63
Fibra Cruda %	11.10	10.98	12.20
Ext. Libre de N %	53.15	52.60	58.44
T.N.D. %	73.63	72.87	80.96
E.D. Kcal/Kg. (Aprox.)	3246.14	3212.67	3569.64
E.M. Kcal/Kg. (Aprox.)	2661.55	2634.12	2926.79

Observaciones :

Vo.Bo. JEFE DEL LABORATORIO

ANALIZO:
NANCY MARTINEZ

G. Ma. ANTONIETA AGUIRRE G.

*MERH

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICION ANIMAL Y BIOQUIMICA
LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICOS PARA ALIMENTOS (SARH No.0950693)

C. Universitaria, D.F. a 18 DE MARZO DE 1994

Ingrediente: ALIMENTO PARA CONEJO A.

Numero de muestra: 213

Remitido por: MVZ IRMA SANTAMANIA

Procedencia: PURINA

Analisis Quimico Inmediato: metodo A.D.A.C. QUIMICO PROXIMAL
Pagado con recibo No.: MEMORANDUM

	BASE HUMEDA %	BASE 90 MAT. SECA %	BASE SECA %
Materia seca %	93.98	90.00	100.00
Humedad %	6.02	10.00	00.00
Prot. Cruda (N*6.25) %	15.13	14.49	16.10
Extracto Etereo %	1.73	1.65	1.84
Cenizas %	7.65	7.32	8.14
Fibra Cruda %	12.76	12.22	13.58
Ext. Libre de N %	56.72	54.31	60.305
T.N.D. %	72.27	69.21	76.90
E.D. Kcal/Kg. (Aprox.)	3186.18	3051.32	3390.33
E.M. Kcal/Kg. (Aprox.)	2612.40	2501.82	2779.75

Observaciones :

Vo.Bo. JEFE DEL LABORATORIO

ANALIZO:
JAIME BALLINAS

P.A. Antonieta Aguirre G.
D. Ma. ANTONIETA AGUIRRE G.

*MERH

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICION ANIMAL Y BIOQUIMICA
LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICOS PARA ALIMENTOS (SARH No.0950693)

C. Universitaria, D.F. a 17 DE MARZO DE 1974

Ingrediente: ALIM. PARA CONEJO F.

Numero de muestras: 214

Remitido por: MVZ. IRMA SANTAMARIA.

Procedencia: PURINA

Analisis Quimico Inmediato: metodo A.O.A.C. QUIMICO PROXIMAL
Pagado con recibo No.: MEMORANDUM.

	BASE HUMEDA %	BASE 90 MAT. SECA %	BASE SECA %
Materia seca %	93.59	90.00	100.00
Humedad %	6.41	10.00	00.00
Prot. Cruda (Nx6.25) %	16.24	15.62	17.36
Extracto Etereo %	4.47	4.30	4.77
Cenizas %	6.63	6.38	7.09
Fibra Cruda %	12.79	12.30	13.67
Ext. Libre de N %	53.45	51.40	57.11
T.N.D. %	75.73	72.83	80.92
E.D. Kcal/Kg. (Aprox.)	3339.08	3211.09	3567.88
E.M. Kcal/Kg. (Aprox.)	2737.76	2632.82	2925.35

Observaciones :

Vo.Bo. JEFE DEL LABORATORIO

ANALIZO:
NANCY MARTINEZ.

Q. Ma. ANTONIETA AGUIRRE G.

*MERH