



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“DESTOXIFICACIÓN CON ÁCIDO CÍTRICO
DE ALIMENTO CONTAMINADO CON
AFLATOXINAS EN PATOS PEKIN”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
JULIA ERENDIRA PONCE SÁNCHEZ

ASESOR: MC. JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA
COASESOR: MC. CAROLINA MORENO RAMOS

CUAUTITLÁN IZCALLI , EDO. DE MÉXICO 2005

m344899



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



VERGAD NACIONAL
AYUTMA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS
C. P. F. E. S. CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Destoxificación con ácido cítrico de alimento contaminado con aflatoxinas en pates pakin".

que presenta 1a. pasante: Julia Erendira Ponce Sánchez.

con número de cuenta: 9202626-5 para obtener el título de :
Medica Veterinaria Zootechnista.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de ABRIL de 2005.

PRESIDENTE

HVZ. Juan Alfonso Monroy Juárez

VOCAL

M.C. Juan Carlos del Río Cancía

SECRETARIO

I.A. Jesús Alberto Guevana González

PRIMER SUPLENTE

MVZ. Graziela Castañeda Aceves

SEGUNDO SUPLENTE

M.C. Celso López López.

[Firmas manuscritas de los miembros del departamento de exámenes profesionales]

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM, en especial a la FESC- 4 por ser un pilar importante para mi formación profesional además de enriquecer mi vida personal, donde disfrute momentos importantes e inolvidables. Gracias.

A UNIGRAS C-3 por brindarme apoyo y recursos para la realización de esta tesis. Gracias.

A mi asesor MC. Juan Carlos Del Río, Coasesor MC. Carolina Moreno y I.A Abraham Mendez, por brindarme la ayuda necesaria y además contar con su valiosa amistad. Gracias.

A Dios y a la vida por brindarme la oportunidad de estar viviendo uno de mis tantos sueños. Gracias.

A mis padres Roberto y Felipa, por darme el mejor regalo “Vivir”. Además de tener su apoyo, amor y comprensión. Los amo. Gracias.

A mis hermanos Ivonne, Paty, Jose Luis y Ricardo, por compartir mis locuras, siempre apoyándose y saber que siempre restan conmigo. Los amo. Gracias.

A mis amigos, que en diferentes etapas de mi vida me han apoyado, brindado amor, amistad y paciencia. No quiero mencionar nombres ya que sería imperdonable omitir alguno, pero cada uno de ustedes sabe lo importante que es para mí. Gracias.

JULIA ERENDIRA PONCE SANCHEZ.

GRACIAS, MUCHAS GRACIAS_{iii}

ÍNDICE

	Pag.
I Resumen	1
II Introducción	2
III Revisión de la literatura	3
3.1.1 Aflatoxicosis	3
3.1.2 Epizootiología	7
3.1.3 Toxicidad	9
3.1.4 Patógena	10
3.1.5 Lesiones	12
3.1.6 Cambios hematológicos	16
3.1.7 Inmunología	19
3.1.8 Sinología	21
3.1.9 Diagnostico	22
3.1.10 Prevención y control	23
IV Hipótesis	28
V Justificación	29
VI Objetivo general	30
VII Objetivos particulares	30
VIII Material y métodos	31
8.1.1 Diseño experimental	31
8.1.2 Análisis estadístico	35
IX Resultados	35
9.1.1 Examen morfológico	38
X Discusión	40
XI Conclusiones	43
XII Bibliografía	44
XIII Apéndice	51

I. RESUMEN

El trabajo realizado tuvo como objetivo evaluar el efecto del ácido cítrico (1.0N) como agente destoxificante de aflatoxinas en alimento. Por lo que se utilizaron patos Pekín de un día de edad a los cuales se les administro alimento balanceado con aflatoxinas y tratados con ácido cítrico, sin aflatoxinas y ácido cítrico. Los hallazgos observados, fue que el ácido cítrico si disminuye la concentración de aflatoxinas medible en el alimento por la técnica de columnas de inmunoafinidad (AFLATEST-VICAM). Sin embargo el efecto tóxico en este modelo animal siguió presente, ya que al término del trabajo experimental (11 días) se registró una mortalidad > 50% en los lotes que consumieron aflatoxinas y con ácido cítrico, además de que las aves presentaron mal estado de carnes, perdida de peso, disminución del apetito. A la necropsia se observó hígado graso, disminución de tamaño de la bolsa de Fabricio, siendo menos severas las lesiones al estar presente el ácido cítrico. Aunque se sabe que la presencia de micotoxinas es uno de tantos problemas con que se enfrenta la industria pecuaria, es conveniente seguir esta línea de investigación en otras especies animales como son pollos de engorda y cerdos.

II. INTRODUCCION

La nutrición animal en gran parte se basa en el consumo de granos y sus derivados, estos son cosechados todo el año bajo condiciones climáticas diversas, que favorecen el desarrollo de hongos, tanto en el campo como durante su almacenamiento (Christensen y Kauffmann, 1969; Mendez-Albores et al., 2004). Teniendo como factores predisponentes la presencia natural de los hongos, la variación estacional, su prevalencia regional y la preferencia por un determinado sustrato (Sharby, 1977; Mendez-Albores et al., 2004). Siendo estos capaces de elaborar metabolitos secundarios conocidos como micotoxinas, las cuales son responsables de provocar el síndrome llamado "micotoxicosis", afectando al hombre y animales (Pier, 1981).

Se han reportado casos de micotoxicosis en todas las especies domésticas. En 1952, se observó en Georgia, Estados Unidos una hepatitis hemorrágica aguda, fatal en cerdos y bovinos que consumieron maíz mohoso. En 1958, algunos perros de caza murieron de hepatitis aguda después de consumir alimento enlatado que contenía maíz con similares características de contaminación (Pier, 1973; Mendez-Albores et al., 2004). Los efectos de las micotoxinas en las aves pueden variar de un caso asintomático hasta un brote severo; los pequeños efectos a menudo, no se detectan fácilmente al inspeccionar individualmente o en grupo a las aves. Algunas limitantes para diagnosticar la micotoxicosis son que la enfermedad es muchas veces subclínica, crónica y endémica (Hamilton, 1990).

Un gran número de alternativas han sido tomadas para el control o detoxificación de los alimentos, mediante procedimientos químicos y físicos, pero solo algunos tienen usos prácticos. De entre los cuales encontramos secuestrantes de micotoxinas, compuestos por aluminosilicatos de calcio hidratados, cabe aclarar que el secuestrante debe ser específico para cada especie, también estos productos pueden incluir inhibidores de hongos como ácido propiónico. En la industria avícola, al igual que en otras actividades agropecuarias, han tenido una larga historia de

constantes retos causados principalmente por agentes infecciosos y no infecciosos, siendo estos últimos los que poseen menos alternativas para su control. Además de provocar repercusiones socioeconómicas en la mortalidad, en el índice de la conversión alimenticia, costos de producción y los efectos negativos en la salud pública en relación al consumo humano de animales expuestos (Quezada et al., 1999).

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1.1 AFLATOXICOSIS

Este es el nombre que se le da al síndrome causado por los metabolitos secundarios (micotoxinas) de ciertas cepas de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, de donde se le da el nombre de aflatoxinas, siendo estas las más estudiadas y con una distribución muy amplia (Sharby, 1977; Mendez-Albores et al., 2004).

El estudio sobre las aflatoxinas, se remonta al año 1960 en Inglaterra donde surge un brote de una enfermedad explosiva que arrasó con 100 mil pavos. La etiología era desconocida en ese momento, por lo que se le dio el nombre de "Enfermedad X" de los pavos (Blount, 1961, citado por Klein et al, 2000).

Primero solo se detectaron casos en pavos, pero después se encontraron casos esporádicos en patos y faisanes. Después de muchos estudios se encontró que el agente causal era una sustancia contenida en la harina de cacahuete brasileño y que era producto del hongo *Aspergillus flavus*, por lo que a la enfermedad se le llamó "Aflatoxicosis" (Sargeant et al., 1961 Wilson and Payne 1994). Se aislaron de este hongo dos potentes toxinas capaces de producir intoxicación; ya que mediante la cromatografía y bajo la luz ultravioleta, una tiene fluorescencia azul (Blue) y la otra verde (Green) fueron llamadas; aflatoxinas B y aflatoxinas G. El interés sobre

constantes retos causados principalmente por agentes infecciosos y no infecciosos, siendo estos últimos los que poseen menos alternativas para su control. Además de provocar repercusiones socioeconómicas en la mortalidad, en el índice de la conversión alimenticia, costos de producción y los efectos negativos en la salud pública en relación al consumo humano de animales expuestos (Quezada et al., 1999).

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1.1 AFLATOXICOSIS

Este es el nombre que se le da al síndrome causado por los metabolitos secundarios (micotoxinas) de ciertas cepas de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, de donde se le da el nombre de aflatoxinas, siendo estas las más estudiadas y con una distribución muy amplia (Sharby, 1977; Mendez-Albores et al., 2004).

El estudio sobre las aflatoxinas, se remonta al año 1960 en Inglaterra donde surge un brote de una enfermedad explosiva que arrasó con 100 mil pavos. La etiología era desconocida en ese momento, por lo que se le dio el nombre de "Enfermedad X" de los pavos (Blount, 1961, citado por Klein et al, 2000).

Primero solo se detectaron casos en pavos, pero después se encontraron casos esporádicos en patos y faisanes. Después de muchos estudios se encontró que el agente causal era una sustancia contenida en la harina de cacahuete brasileño y que era producto del hongo *Aspergillus flavus*, por lo que a la enfermedad se le llamó "Aflatoxicosis" (Sargeant et al., 1961 Wilson and Payne 1994). Se aislaron de este hongo dos potentes toxinas capaces de producir intoxicación; ya que mediante la cromatografía y bajo la luz ultravioleta, una tiene fluorescencia azul (Blue) y la otra verde (Green) fueron llamadas; aflatoxinas B y aflatoxinas G. El interés sobre

las aflatoxinas motivó entonces la investigación en las micotoxinas conocidas y el descubrimiento de muchas otras (Coulombe et al., 1991).

En la actualidad se conocen más de 100 hongos toxigénicos, pero sólo en una docena de géneros se ha confirmado el papel de las micotoxinas como causa de enfermedad, tal es el caso de las toxinas de *Claviceps sp*, *Fusarium sp*, *Penicillium sp*, *Phytomyces sp* y *Aspergillus sp* (Pier, 1981; Mendez-Albores et al., 2004).

Los hongos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, especialmente en el suelo, y una cepa productora de toxinas puede virtualmente sintetizar la toxina en cualquier alimento o materia prima (Clavaheiro, 1983). En base a sus necesidades de humedad, los hongos productores de micotoxinas se clasifican en tres grandes grupos: hongos de campo, hongos de almacenamiento y hongos de descomposición avanzada. Los hongos de almacén son los que se encuentran en las semillas bajo las condiciones de húmeda que normalmente presenta el grano almacenado (13-20%), en este grupo encontramos principalmente a las especies *Aspergillus sp* y *Penicillium sp* (Sharby, 1977; Mendez-Albores et al., 2004).

Los hongos del género *Aspergillus* pertenecen al grupo de los ascomiceto, normalmente son aerobios, pero la cantidad de oxígeno que requieren y la tolerancia a altas concentración CO_2 son variables dependiendo de las especie y cepa. Se cultivan en medios como el Sabouraud o el Czapek. En condiciones naturales, el crecimiento y esporulación del hongo se ve favorecidos por un exceso de humedad en el ambiente, aunado a una abundancia de materia orgánica. Hay muchas materias primas que se consideran como buenos sustratos para el desarrollo de los hongos. La temperatura óptima para el mejor desarrollo de *A. falvus* es de 36 C a 38 C, temperaturas diferentes hacen cambiar la cantidad y calidad de aflatoxinas producidas. La humedad relativa óptima para la producción de aflatoxinas es cuando existe una alta humedad en el aire del orden de 80-98% y la humedad del sustrato se encuentra por encima del 15%. Las esporas no pueden germinar a temperaturas de 4 C, aunque no mueren, y son destruidos con temperatura de 77 C a 100 C (Valladares, 1986).

Aspergillus flavus es el único hongo que requiere de un mínimo de 18.3 - 18.5% de humedad en base a peso fresco cuando crece en maíz (el sustrato debe estar en equilibrio con una humedad relativa de 85%). Puede crecer a baja cantidad de agua sin competencia con otros hongos (Mirocha, 1982). Su crecimiento, sin embargo, no necesariamente establece la presencia de aflatoxinas así como tampoco la ausencia de hongos visibles puede establecer la ausencia de aflatoxinas (Sharby, 1977; Mendez-Albores et al., 2004). Cerca de la mitad de las cepas de *Aspergillus flavus* Link y *Aspergillus parasiticus* Speare, son tóxicas bajo condiciones ambientales óptimas, destacando principalmente AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂. Generalmente AFB₁ es encontrada en mayores concentraciones que las otras y es la más potente, siendo carcinógena, teratógena y mutágena, y el órgano que más afecta es el hígado, por lo que es considerada una hepatoxina (Moreno, 1996).

Aspergillus flavus tiene además la capacidad de producir ácido aspergílico, ácido kójico, aspertoxina, esterigmatocistina, fisicon y flavotoxinas entre otros compuestos (Esqueda y Villegas, 1991). La capacidad genética es un factor determinante para que una cepa en particular de hongos pueda producir metabolitos tóxicos (Sharby 1977; Mendez-Albores et al., 2004).

Químicamente las aflatoxinas son difuranocumarinas, estos compuestos están formados por anillos heterocíclicos, los furanos relacionados a la toxicidad y un anillo de lactona responsable de la fluorescencia y el cual también hace que estos metabolitos sean susceptibles a la hidrólisis alcalina (Lillehoj, 1983, Mishra et al., 2003). Las letras B y G se refieren a los colores azul y verde de fluorescencia observados bajo luz ultravioleta de onda larga; esta propiedad de fluorescencia de las aflatoxinas ha llegado a ser la base para la cuantificación por métodos fisicoquímicos y los números se refieren a los patrones de separación de estos compuestos al utilizar cromatografía de capa fina (Bullerman, 1987). En la figura 1. se muestra las estructuras moleculares de algunas aflatoxinas.

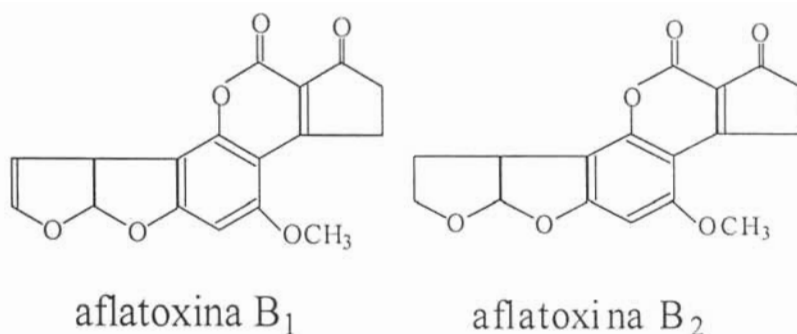


Figura 1. Estructuras de algunas micotoxinas (adaptado por Eaton et al, 1994).

Las aflatoxinas se generan por la vía biosintética de los poliquétidos a partir de acetatos y se consideran los contaminantes biológicos de los alimentos más extendidos a nivel mundial y los más peligrosos (Jelinek *et al.*, 1989).

No se conoce el papel fisiológico del metabolito en el desarrollo del hongo, sin embargo; se ha establecido que existe una estrecha asociación entre la biosíntesis de aflatoxinas y la de los lípidos (Townsend *et al.*, 1984; Cleveland y Bhatnagar, 1991) y que además en algunos casos, la síntesis de proteínas disminuye durante la fase de producción de aflatoxinas. Al crecer inicialmente el hongo existe muy poca o ninguna producción de aflatoxinas, pero al reducirse los niveles de fosfatos y nitrógeno en el medio, el metabolismo primario se desorganiza, se acumulan varios metabolitos primarios y se empiezan a producir las aflatoxinas (Drew y Demian, 1987). Aún cuando su papel ecológico no está bien comprendido, al ser sus estructuras de resistencia (esclerocios) repelentes a ser ingeridos por insectos, se refiere que tienen un papel defensivo (Wicklowsky, 1988; Dowd, 1991). Existen cepas en las que no existe la producción de estas toxinas, por lo que se asume que estos metabolitos no son esenciales para su desarrollo.

Desde hace más de 30 años se descubrió que las aflatoxinas son sustancias muy potentes productoras de cáncer en animales de laboratorio (Newberne, 1973; Abarca et al., 1994).

La mayoría de las aflatoxinas son relativamente resistentes al calor, por lo tanto, persisten en forma activa en los alimentos peletados y enlatados preparados a partir de materias primas contaminados (Newberne, 1973 Abarca et al., 1994). Tienen varias características generales, por lo que no se produce inmunidad contra ellas, además, la terapia farmacológica tiene poco efecto en su patogenicidad (Dalvi, 1984).

3.1.2 EPIZOOTIOLOGIA

Hay cuatro factores importantes que desencadenan el desarrollo de *Aspergillus sp* y por consecuencia la formación de aflatoxinas, estos son: **humedad**, a niveles de 18% en cereales y de 8-9% en semilla de cacahuate; **temperatura**, tenemos que la máxima producción de aflatoxinas se presenta durante la incubación a una temperatura de 20°C a 25°C; **aereación**, la reducción del oxígeno al 1% inhibe dramáticamente el crecimiento de *A. flavus* y la producción de aflatoxinas (Stuart et al., 1987) y **sustrato**, las fuentes de aflatoxinas que la literatura menciona incluyen a todo tipo de productos que contenga carbohidratos o grasas, y cita a granos, forrajes y productos derivados: maíz, trigo, avena, centeno, sorgo, cacahuate, cebada, mijo, arveja, frijol mungo, nuez, copra, semilla de soya; ensilado de maíz, heno de gama común: alimento concentrado, pasta y harina de soya, harina de pescado, pasta de ajonjolí, harinolina, polvo de chile indio y semilla de algodón. La formación de toxinas toma solo unas pocas horas cuando existen las condiciones favorables (Pier, 1981).

La distribución de las fuentes de aflatoxinas es variable y no parece haber un lugar donde hubiese mayor o menor frecuencia. Aunque las muestras provenientes de clima cálido como es la costa parece contener niveles más altos, mientras que las muestras provenientes de climas húmedo y frío, también contienen aflatoxinas pero en niveles relativamente bajos. En relación con las condiciones climáticas se ha visto que, los problemas causados por el consumo de pasta y harina de cacahuate se presentan casi siempre en el verano (Mirocha, 1982).

En general, la mayoría de los ingredientes, excepto el maíz, las nueces y el algodón, están libres de aflatoxinas al momento de la cosecha.

El maíz es infectado en el campo en aquellas regiones donde las mazorcas de las plantas son atacadas por insectos, a lo cual sigue la invasión de *A. flavus* y la posterior formación de aflatoxinas.

En estudios realizados por Ochoa *et al.*, (1989) en el estado de Sonora, encontraron que de 66 muestras de maíz y 137 muestras de trigo analizadas, el 20% presentó contaminación con AFB₁, pero solamente el 6.1% presentó valores por arriba del máximo permitido por la FDA de los Estados Unidos, que establece un valor máximo de 20 ppb. El nivel más alto encontrado fue de 45 ppb, y fueron detectadas en la zona sur del estado, en granos almacenados a la intemperie.

Un problema de micotoxicosis se presentó en el estado de Sonora en 1984, causando mortandad en pollos y la incidencia de abortos en cerdas. Las causas que originaron este problema fueron atribuidas al consumo de alimentos elaborados con granos contaminados con hongos (Álvarez *et al.*, 1989).

En 1995, se realizó un estudio en maíz en la ciudad de Monterrey, el muestreo fue realizado en los meses de junio a septiembre, encontrándose que el 87.8% de las muestras estaban contaminadas con aflatoxinas, siendo AFB₁ la más común, en concentraciones desde 5.03 hasta 465.3 ppb y AFG₁ en niveles de 1.59 a 57.1 ppb. El 58.5% de las muestras analizadas rebasaron los límites legales permitidos por el gobierno mexicano, siendo 20mg/Kg. los límites permitidos, reporta NOM- 188-SSA1-2002, "productos y servicios, control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal, especificaciones sanitarias". Mientras que en el depósito rural "Las Yescas", en el estado de Tamaulipas, el cual almacenó maíz contaminado con aflatoxinas entre los años de 1989 a 1995, se cuantificaron valores promedio de aflatoxinas de 66 ppb en 42 muestras de maíz tamizado, 295 ppb en 49 muestras de maíz no tamizado, 25 ppb en siete muestras de hierba, y 112 ppb en nueve muestras de suelo. (Torres *et al.*, 1995)

El tamizar redujo la aflatoxina en 75%; sin embargo, el suelo siempre presentó AFB₂ y algunas veces AFB₁, debido a la alta contaminación (Carvajal y Arroyo, 1997).

Como principales factores predisponentes para la formación de aflatoxinas se hace especial mención a: la negligencia en la preparación del silo, ya que se ha observado que en silos que no están bien cubiertos casi siempre hay actividad fúngica en la superficie: al deficiente almacenaje de los granos en las bodegas y, al insuficiente secado de los granos en el campo. Un punto común de contaminación del alimento y sus ingredientes es el área circundante a los silos y a los transportadores (Hamilton, 1990)

Las autoridades de nuestro país deben insistir por ello en hacer determinaciones de aflatoxinas; sin embargo, este tipo de pruebas son costosas, y pueden llegar a ser complicadas ya que solo existen trazas de estas sustancias en las muestras, especialmente en alimentos destinados para consumo animal (Wood, 1993).

3.1.3 TOXICIDAD

Las propiedades tóxicas de las aflatoxinas son variadas dependiendo de la dosis ingerida, tiempo de exposición, especie, raza, sexo y edad de los animales afectados (Reddy et al., 1984). La toxicidad de las aflatoxinas está ampliamente investigada, esto obedece directamente a la repercusión en la salud humana, así como a las pérdidas materiales y económicas que puede ocasionar una intoxicación aguda como la descrita anteriormente en los años 60's con pavos (Roebuck y Maxuitenko, 1994).

La susceptibilidad de las especies domésticas, hacia las aflatoxinas va en relación con las dosis, como se observa en el siguiente cuadro donde se muestra que

los patos, gatos y cerdos, son afectados con dosis mínimas a diferencia de otras especies en donde la concentración de aflatoxinas es mayor, provocando un menor daño.

Cuadro 1. Susceptibilidad por especie a las aflatoxinas

ESPECIE	DOSIS ORAL *	REFERENCIA
Pato	0.36	Carnahan 1963
Gato	0.55	Newberne 1969
Cerdo	0.62	Paterson 1973
Perro	1.00	Newberne 1969
Pavo	1.36	Pier 1980
Ovino	2.00	Arebrecht 1970
Pollo	6.50	Smith 1970
Rata	5.5-17.9	Wogan 1966

*Dosis única mg/kg de aflatoxinas.

Pier 1980.

Las aves son especialmente susceptibles a las aflatoxinas, considerando el siguiente orden decreciente: patos recién nacidos, pavos, gansos, faisanes jóvenes y pollos. Los pollos y patos jóvenes se afectan más severamente que los adultos, existen ciertas razas y estirpes que son más susceptibles. En cerdos los lechones son más sensibles a la intoxicación, seguidos de las cerdas gestantes, y los cerdos de engorda. Los bovinos y ovinos en general son resistentes a la intoxicación (Hofstad, 1978 McEvoy, 2002). Los niveles experimentales de aflatoxinas en el alimento en los estudios controlados considerados tóxicos para los pollos van de 0.625 a 10 ppm (mg/g) o más dependiendo del tiempo de ingestión de las aflatoxinas (Huff, 1985).

3.1.4 PATOGENIA

La literatura utilizada indica que la vía de entrada más común de las aflatoxinas es la oral, a través de alimento contaminado. Las aflatoxinas se difunden por todos los tejidos corporales, indicando rápida absorción pero lenta eliminación. En el primer día los órganos reproductores, el hígado y los riñones, tienen elevada concentración de aflatoxinas, esto se debe al papel que juegan el hígado y los riñones en la eliminación de toxinas. En la médula ósea también se concentra más la aflatoxina, en comparación con el encéfalo, tejido muscular y grasa corporal en los que la concentración es menor. Las rutas biliar y fecal son las de mayor excreción de la aflatoxina pura o de sus derivados, estas vías representan el 65% del total excretado, el resto se elimina por orina (Rosiles, 1977).

Valladares 1996 menciona que Harland y Cardeilhac 1975, aplicaron aflatoxinas radiomarcadas con C^{14} intravenosa en gallinas Leghorn enanas y Rhode Island anestesiadas, con los uréteres y los conductos biliares canulados, verificaron que la ruta más importante de excreción es la biliar; la cantidad relativa de aflatoxinas excretada por biliar, orina y contenido intestinal, mantuvo una relación de 70:15:15 respectivamente, en un periodo de observación de 350 minutos (Goldblatt, 1979).

Los efectos biológicos de las aflatoxinas se pueden agrupar en cuatro categorías principales: daño hepático agudo y/o crónico; reducción en el rango de crecimiento, interferencia en los mecanismos de defensa naturales e inmunológicos; y efectos teratogénicos y mutagénicos. El hígado es el órgano de degradación enzimática de la toxina vía el sistema multifuncional de oxidasas mixtas (MFO); el sistema MFO convierte a las aflatoxinas en una estructura más polar que reacciona con la cromatina del nucleolo, lo que impide la actividad del molde del DNA para producir RNA mensajero.

La mayoría de los experimentos indican que gran parte de los efectos tóxicos de las aflatoxinas son debidos a la interferencia con la síntesis de RNA mensajero,

aunque hay algunos efectos que también ocurren por alteraciones en la síntesis de DNA. La interferencia en la síntesis de proteínas celulares es la causa de la mayoría de las lesiones en el animal (Pier, 1981; Jindal et al., 1994).

Se ha demostrado que la aflatoxina también separa los ribosomas del retículo endoplásmico. Como una reacción más directa se ha observado que la aflatoxina B1 inhibe la entrada del aminoácido a la proteína (Chen, 1985).

Clifford y Rees (1966) encontraron que durante la aflatoxicosis hay inhibición de la enzima RNA polimerasa (Thaxton, 1974). (Chen et al. 1985) han dado la hipótesis de que las aflatoxinas alteran la integridad de la membrana celular.

Smith et al. (1969) reportados por Pippi mencionan que cuando se administran aflatoxinas a bajas concentraciones, se inhibe la incorporación de ¹⁴C-leucina a la proteína.

Las aflatoxinas alteran el metabolismo del calcio, reduciendo enormemente el calcio plasmático, e interactuando con la vitamina D. También interactúan con otras vitaminas como la A, K, E, riboflavina y biotina; con respecto a estas vitaminas se ha observado que las deficiencias de vitaminas A, D, o riboflavina hacen a los animales más sensibles a las aflatoxinas, mientras que la deficiencia de tiamina produce el efecto contrario (Hofstad, 1978).

Los signos y las lesiones de la enfermedad, por lo tanto, son debidos al efecto inhibidor de las aflatoxinas sobre la síntesis proteica.

3.1.5 LESIONES

Las primeras lesiones observables de aflatoxicosis son la necrosis hepática y cambios degenerativos (cambio graso). La inducción de cáncer hepático es común en ratas, truchas y cerdos. En aves se produce diversas reacciones que van desde una mala absorción de nutrimentos, coagulopatía, desarrollo ineficiente, vulnerabilidad a

las infecciones, incapacidad para reaccionar a las vacunas, problemas reproductivos, etc. En mamíferos producen necrosis y disfunción hepática y extensas lesiones hemorrágicas que resultan letales (Peña y Durán, 1990). En el hombre las intoxicaciones están asociadas con cáncer digestivo, hepatomegalias, hígado graso, cirrosis y además produce diarreas, vómitos, abortos y son causantes de inmunodepresión y hemorragias internas (Organización Panamericana de la Salud, 1983).

El hígado es el principal órgano blanco, su peso relativo aumenta significativamente aún con dosis bajas de aflatoxinas, aunque Huff et al. (1985) indican que la atrofia hepática y no la hepatomegalia es el efecto inicial en estadios tempranos de la aflatoxicosis. Se ha atribuido el incremento en el peso relativo del hígado a una acumulación de lípidos en este (Tung, 1975).

Otras lesiones que se presentan en hígado son: palidez, firmeza disminuida, aumento de tamaño, congestión, áreas hemorrágicas; vesícula biliar distendida (Newberne, 1973 Abarca et al., 1994), la pared de esta se puede encontrar edematosa y la bilis presentar menor viscosidad.

Histopatológicamente se ha observado que una aflatoxicosis subaguda produce variación en el tamaño de los hepatocitos y sus núcleos (Stuart, 1987).

Mientras que en una aflatoxicosis crónica el daño se extiende a otras estructuras del parénquima hepático y las lesiones que podemos encontrar son: degeneración e infiltración grasa por vacuolización de lípidos en los hepatocitos debido a una alteración en la movilización de grasa como consecuencia de un rompimiento en la síntesis enzimática, necrosis celular principalmente en las áreas centrolobulillares, fibrosis (Newberne, 1973 Abarca et al., 1994), proliferación irregular progresiva de los conductos biliares (Giambrone, 1985), cálculos biliares (Stuart et al., 1987), dilatación de vasos linfáticos y áreas focales de hiperplasia linfoide, presencia de células regeneradoras del parénquima (Newberne, 1973 Abarca et al., 1994).

Stuart et al., 1987) reportan que existe la formación de un nuevo plexo vascular alrededor de la vena central que conduce a una nueva necrosis extensiva de los hepatocitos, o a la unión de estos en infartos multifocales.

Valladares (1996), menciona que Gardiner y Oldroyd 1965 observaron que después de 7 días hay un aumento de células hidrópicas y grasa del hígado, con vacuolización celular, pequeño aumento del tamaño de las células, coagulación eosinofílica diseminada el citoplasma y proliferación irregular de los conductos biliares. A los 14 días observaron áreas locales de hemorragia y grupos de hepatocitos levemente tumefactos. Morilla (1986), reportó que los aquellos pollos que consumieron 2.5 ppm de aflatoxinas durante 4 semanas, se observaron los siguientes cambios microscópicos en hígado: en la primera semana; congestión de sinusoides, hemorragias focales, vacuolización grasa del citoplasma de los hepatocitos centrolobulillares e infiltración de nódulos linfáticos; en la 2da., 3ra y 4ta. semanas: tumefacción y vacuolización de los hepatocitos centrolobulillares, necrosis de algunos de estos, proliferación de conductos biliares, infiltración de nódulos linfoides y congestión: en uno de los pollos sacrificados en la tercera semana la hipertrofia biliar estuvo acompañada de infiltración de fibroblastos.

Además del hígado, otras estructuras se encuentran alteradas, tanto en los casos de campo, como en las reproducciones experimentales de la aflatoxicosis. Los riñones pueden presentar aumento de tamaño y congestión, o palidez y edema perirrenal (Reddy et al., 1984; Chen et al.1985; Huff et al. 1985). Menciona que la aflatoxicosis crónica puede provocar picnosis y dilatación de las células de los túbulos distales del riñón y que a dosis elevadas (mayores de 10ppm) además de la necrosis, los túbulos renales pueden contener pigmentos biliares, hialinos y lípidos. Morilla (1986) observaron que la ingestión de dietas con una dosis de 2.5 ppm por cuatro semanas provoca vacuolización del epitelio tubular renal, infiltración linfoide en glomérulos en intersticio, y la presencia de un material hialino homogéneo en la luz de algunos túbulos.

El corazón puede observarse aumentado de tamaño, con congestión o con excesiva cantidad de líquidos pericardio, Morilla (1986) observaron infiltración linfóide entre las fibras cardíacas.

Las observaciones de campo indican que la bolsa de Fabricio llega a presentar reducción en su peso relativo y distintos grados de atrofia, que dan la apariencia de un incremento en el número de folículos linfóide (Thaxton et al. 1974; Morilla, 1986; Campbell et al. 1983; Rosiles, 1987). Ubosi et al. (1985) reportaron que una dosis de 996 ppb durante 6 semanas, causó una disminución en el tamaño de la bolsa de Fabricio, aunque Reddy et al. (1984), con una dosis de 6 ppm por 28 días, no encontraron alteraciones en el peso relativo del órgano.

El bazo tiende a observarse aumentado de tamaño y congestionado, con reducción en la población de linfocitos en la pulpa blanca (Thaxton et al. 1974; Morilla, 1986; Huff et al. 1986).

El timo puede sufrir disminución en su peso relativo y deplesi3n linfóide (Thaxton et al. 1974; Morilla, 1986; Ubosi et al. 1985; Rosiles, 1987) aunque 3ste hallazgo puede no ser observado en las reproducciones experimentales de la enfermedad (Reddy et al. 1984).

Se ha observado una disminuci3n en la fuerza de los huesos de las extremidades de los pollos de engorda (Huff et al. 1985), y la m3dula 3sea se observa p3lida (Tung, 1975).

El aparato digestivo presenta inflamaci3n de proventr3culo y molleja por un efecto irritativo directo de la toxinas (Hofstad, 1984). El p3ncreas puede estar aumentado de tama3o y edematoso (Richardson y Hamilton, 1987) y en el intestino se observa enteritis mucosa a nivel de duodeno. Hamilton (s.a) menciona un efecto raro de las aflatoxinas durante un brote experimental, en el que el 15% de las aves afectadas mostraron ruptura del intestino grueso al pasar por la inspecci3n de rastro.

Otros hallazgos morfológicos observados han sido crestas y pernas pálidas, hematomas subcutáneos sobre los músculos pectorales y los muslos (Chen et al.1985), canales congestionadas y ligero edema general (Hofstad, 1984).

3.1.6 CAMBIOS HEMATOLOGICOS

Las aflatoxinas tienen un efecto depresivo en los tejidos hematopoyéticos, y esto se ve reflejado en la sangre, ya sea en el suero o en los elementos celulares (Mohiuddin, 1986).

Los hallazgos a nivel serológico incluyen, una baja significativa de las proteínas plasmáticas tales como la pre-albúmina, albúmina, alfa-globulina, beta-globulina, transferrina, lipoproteínas, fracción inmunoglobulina tipo G (IgG) y factor de coagulación protombina (Campbell et al.1988). La cantidad de gama-globulinas está incrementada en la mayoría de los casos (Pier, 1981); las inmunoglobulinas tipo M (IgM) no se alteran significativamente (Rosiles, 1987).

Esta hipoproteinemia se debe principalmente a que el hígado está dañado, por lo que la síntesis proteica está disminuida. Aunado a esto las aflatoxinas incrementan en la fragilidad de los capilares, permitiendo una fuga de las proteínas del plasma hacia los tejidos (Hamilton, 1990).

Una de las consecuencias de lo mencionado anteriormente es que habrá una deficiente coagulación, y por consiguiente, los pollos serán más susceptibles a padecer magulladuras y a presentar hemorragias cutáneas sobre todo en la membrana interdigital (Mirocha, 1982). Stuart et al., 1987 mencionan que una de las causas de la deficiente coagulación es la sustitución del núcleo de la molécula de la cumarina por la aflatoxina.

Con respecto a la cuantificación enzimática en el suero aún a bajas dosis de aflatoxinas se ha encontrado aumentado en los niveles de Aspartato Aminotransferasa (**AST/TGO**), Alanina Aminotransferasa (**ALT/TGP**), Fosfatasa Alcalina Serica (FAS) (Chen et al., 1985; Stuart et al., 1987), aumento de Deshidrogenasa Sorbitol (DHS) y Deshidrogenasa Glutamica (DHG), disminución de la Deshidrogenasa láctica (DHL) de la lipasa y amilasa pancreáticas (Richardson et al. 1987).

Ubosi et al. (1985) encontraron una reducción de la actividad de las enzimas microsomales y solubles del hígado. Esta reducción causada por la dieta con aflatoxinas puede incrementar la susceptibilidad de los pollos hacia los tóxicos que son inactivados por estas enzimas.

Otros perfiles químicos de la sangre que se ven alterados son el colesterol, potasio, ácido purico y calcio que están disminuidos, mientras que los niveles de sodio y ácido glucolítico están aumentados (Pier et al., 1985).

Valladares (1996) menciona que Clarke et al., 1986 reportan que en pollos White Leghorn machos alimentados con 10 ppm de aflatoxinas/g de alimento los niveles plasmáticos de testosterona y LH se reducen significativamente. Estos datos indican que hay efectos toxicológicos y nutricionales de las aflatoxinas durante la maduración reproductiva de machos White Leghorn.

En lo que respecta a los cambios en los elementos celulares de la sangre varios autores mencionan que las aflatoxinas producen anemia caracterizada por una disminución en los valores de hematocrito (Ht), del conteo total de eritrocitos y de la concentración de hemoglobina aún a dosis muy bajas (Campbell et al. 1988; Huff et al. 1985). Sin embargo, el origen de la anemia no ha sido bien determinado.

Antes del descubrimiento de las aflatoxinas Forgacs y Cari (1962) Mencionados por Tung et al. (1975) reportaron al *A. Flavus* como el agente causal del síndrome de anemia hemorrágica de los pollos, el cual se presentaba con el

consumo de alimento mohoso y se caracterizaba por hemorragias espontáneas en músculo y órganos internos y por anemia aplástica. La anemia aplástica es un desorden hematológico que se caracteriza por una disminución de los elementos celulares de la sangre periférica, es decir de la que recorre todo el cuerpo. Se debe a que la médula ósea no puede elaborar suficientes leucocitos, eritrocitos o plaquetas, problema conocido como pancitopenia, aunque los que produzca sean por lo general normales. La anemia aplástica puede ser leve o severa y su origen es congénito, hereditario o adquirido. La anemia aplástica congénita se origina por una anomalía cromosómica como la anemia de *Fanconi* o la enfermedad del *Dyskeratosis* (esto en humanos). Los síntomas comunes son, palidez, problemas respiratorios, aceleración del ritmo cardíaco y arritmias, erupciones en la piel y presencia de moretones de fácil aparición:

- Fatiga y debilidad cuando hay una disminución de los eritrocitos.
- Infecciones frecuentes cuando la disminución es de leucocitos.
- Sangrados frecuentes especialmente de las membranas mucosas y de la piel cuando las plaquetas se encuentran disminuidas. Estos pueden ser muy peligrosos si no se controlan oportunamente. ([http:// medic. med. uth. tmc. edu](http://medic.med.uth.tmc.edu). University of Texas 1995).

Sin embargo, el mismo Tung en 1975 encontró que la dieta con aflatoxinas aumentaba la fragilidad capilar pero no causaba sangrado espontáneo.

Tung et al. (1975) clasificó diversos tipos de anemia encontrando que en la anemia aplástica hay disminución de hematocrito. La hemoglobina, eritrocitos y aplasia de médula ósea con sustitución de células hematopoyéticas por grasa: por otro lado, en la anemia hemolítica se observa generalmente una macrocitosis leve.

Por otro lado, las aflatoxinas causan un aumento en el conteo total de leucocitos cuando los niveles tóxicos son altos, esta es otra característica de la anemia hemolítica y se cree que se debe a la hiperplasia medular de células granulocíticas en pollos. Esta leucocitosis está dada principalmente por un incremento en el porcentaje de heterófilos (neutrófilos en pollos). Los trombocitos,

linfocitos y basófilos disminuyen: la linfopenia indica una acción inmunosupresora de las aflatoxinas: la baja en basófilos (basopenia) se presenta en el estadio final de la enfermedad. Los eosinófilos y monocitos se mantienen generalmente sin cambios y, solo en el caso de que exista una infección secundaria habrá eosinopenia; mientras que los monocitos a veces pueden reducirse (Chang, 1979; Stuart et al., 1987). Estos es lo reportando en pollos, ya que en patos no encontraron reportes.

Se ha encontrado una respuesta similar en los leucocitos circulantes cuando los pollos sufren estrés fisiológico (Tung et al. 1975; Ubosi et al. 1985). Esta similitud de la leucocitosis entre la aflatoxicosis y el estrés puede explicarse a partir de que la aflatoxina en los pollos interactúa con diferentes estresores (Tung et al., 1975).

3.1.7 INMUNOLOGIA

Uno de los efectos más importantes de las aflatoxinas es su capacidad para alterar la funcionalidad del sistema Inmune(Chang, 1979) Todos los componentes del sistema inmune están afectados, siendo la inmunidad celular la primera; los cambios que se han observado sobre los mecanismos de inmunidad celular inespecífica por el efecto de las aflatoxinas son : inhibición de la actividad quimiotáctica, tanto espontánea (indirecta) como dirigida (directa) de los heterófilos, monocitos y macrófagos alveolares, alteración de la actividad fagocítica de los heterófilos, monocitos y macrófagos (Chang et al. 1979),esta alteración se debe a dos causas: a) que existen niveles bajos del componentes tienen los estímulos necesarios ; b) los fagocitos de los pollos con aflatoxicosis tienen dificultad para moverse cuando hay un estímulo quimiotáctico , que les impide salir de los tejidos capilares sanguíneos y llegar al foco inflamatorio en los tejidos (Morilla, 1986). El porcentaje de fagocitosis de los trombocitos durante la aflatoxicosis se reduce, pero no significativamente (Chang, 1979; Morilla, 1986). También se altera la actividad del sistema reticuloendotelial (Stuart et al., 1987).

Con respecto a la inmunidad celular específica se han visto cambios como: una menor producción de linfocitos B y T por el daño en médula ósea, bolsa de Fabricio y timo (Mohiuddin, 1986). Supresión de la respuesta de hipersensibilidad cutánea retardada y disminución en la respuesta de la prueba injerto contra hospedador (Morilla 1986; Pier 1973).

Aunque los efectos en los mecanismos de inmunidad celular no se han explicado, se creen que se presentan a partir de 1) las diferencias en la población de linfocitos en la sangre periférica; 2) de la función de los linfocitos; 3) de la producción de linfocina; o, 4) de la función de los macrófagos (Pier 1985).

En relación a los cambios en la inmunidad humoral inespecífica se ha encontrado que hay una baja en la actividad del complemento y una reducción significativa de sus títulos (Campbell 1988; Hamilton 1990; Morilla 1986; Stuart et al., 1987). Otro cambio es una menor producción de interferón (Hamilton 1990; Hofstad 1984; Morilla 1986; Pier 1973; Pier 1985).

Valladares (1996) estudiaron el efecto que tienen las aflatoxinas en el complemento, y mencionan que las aflatoxinas son perjudiciales para el desarrollo de la inmunidad (complemento) solo cuando éstas están presentes durante la inmunización. También postulan que el complemento interviene en la patogénesis de la enfermedad infecciosa viral de la bolsa de Fabricio, ya que la actividad del complemento disminuye después de una infección experimental. Durante un experimento observaron que hay disminución de la actividad del complemento de pollos machos alimentados con aflatoxinas (2.5 mg) durante seis semanas, y concluyeron que ya que el complemento es el mayor componente del sistema inmune se refuerza la evidencia de que las aflatoxinas pueden ser inmunosupresivas para los pollos.

En la inmunidad humoral específica hay una baja en los títulos de anticuerpos y se retarda el tiempo de formación de los mismos (Campbell 1988; Hamilton 1990; Mohiuddin 1986; Morilla 1986; Pier 1973; Pier 1985); disminuyen las concentraciones de IgG e IgA (Campbell 1988).

La reducción en la síntesis de IgA puede aumentar la susceptibilidad de los pollos a padecer infecciones locales. Además baja la respuesta de las hemagglutininas (Hofstad 1984; Rosiles 1987; Thaxton 1974).

Toda esta serie de cambios inmunológicos se ven reflejados en un aumento en la susceptibilidad de los pollos hacia cualquier agente infeccioso (Cavalheiro 1983; (Hamilton, 1990). Pero sobretodo a padecer infecciones como pasterelosis, salmonelosis, coccidiosis, enfermedad de Marek, cólera, infección por *Cándida albicans* e infección de la bolsa de Fabricio . Cabe señalar que no se ha demostrado reducción en la resistencia contra la enfermedad de Newcastle o infecciones por *Aspergillus fumigatus* (Morilla, 1986).

Al parecer el daño inmunológico que sufren los pollos por la aflatoxicosis es solo temporal, ya que este solo ocurre durante el periodo en que estos están consumiendo aflatoxinas (Pier, 1981).

3.1.8 SIGNOLOGIA

Los signos de la aflatoxicosis aviar son muy variables, dependiendo de los niveles tóxicos en el alimento y del tiempo de ingestión .En los casos de aflatoxicosis hiperagudas con dosis masivas, se puede observar muerte súbita (por falla hepática) sin signos clínicos evidentes (Morilla 1996).

Los signos de la aflatoxicosis aguda, cuando se observan, incluyen anorexia, epistaxis, melena y ocasionalmente se presentan signos nerviosos como ataxia y opistótonos, muriendo los animales con las patas rígidas y extendidas hacia atrás, entre 10 y 14 días después de la ingestión de la toxina (Rosiles, 1987)

En el caso de la intoxicación crónica los signos que se pueden presentar son pérdida gradual del apetito, deficiente ganancia de peso, baja en el ritmo de crecimiento y aumento en el rango de conversión alimenticia (de 2.0 - 2.1 a 2.3 -

2.4). Esta conversión alimenticia es uno de los signos mas relevantes porque es común en todas las especies y tiene gran impacto económico, éste parámetro representa la suma de muchas influencias, pero en sentido práctico representa una falla en la utilización de nutrientes. También se ha observado un aumento en la tasa de mortalidad (Chen et al. 1985; Ubosi et al. 1985; Richardson et al.1986).

La observación individual de los animales revela que el buche no se llena completamente y se escuchan sonidos suigeneris algunos animales presentan las alas caídas, las plumas revueltas y rotas con tendencia a la automutilación. Se puede llegar a observar decoloración purpúrea de patas y piernas, coprofagia y esteatorrea, con partículas de alimento sin digerir en heces (Chen et al., 1985).

3.1.9 DIAGNÒSTICO

El diagnóstico de la aflatoxicosis es difícil, ya que los signos y lesiones son pocos específicos. Aunque al igual que para cualquier otra enfermedad el diagnóstico debe apoyarse en la historia clínica de la parvada, parámetros productivos, signos clínicos, hallazgos a la necropsia e histopatología (Stuart et al., 1987).

Una de las principales limitantes para el diagnostico de las aflatoxinas, es la dificultad para su identificación y cuantificación en pruebas de rutina. El aislamiento e identificación del hongo por si solo es irrelevante, es requerida la identificación y cuantificación de la toxina en el alimento (Hornedo, 1989).

Existe una diversidad de métodos para el análisis cualitativo y cuantitativo de las aflatoxinas. Las primeras determinaciones fueron realizadas en harina de cacahuate, empleándose un método de fluorescencia, logrando caracterizar los cuatro tipos comunes de aflatoxinas (Peña y Duran , 1990).

La determinación de aflatoxinas en los alimentos se basa principalmente en una extracción empleando acetona o metanol, limpieza del extracto , en ocasiones empleando columnas cromatográficas y la posterior cuantificación ya sea por cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), métodos de inmunoafinidad con el uso de columnas de anticuerpos monoclonales(Aflatest) o ELISA. Algunos de estos métodos presentan limitaciones por la baja precisión en la detección o por una inadecuada separación de las aflatoxinas debido a la interferencia que pudiesen tener otros compuestos presentes en la muestra (Gregory y Manley, 1981).

Para las pruebas biológicas se han usado diferentes indicadores como bacterias Salmonella Typhimurium, TA100 AMES (Ensayo de mutagenicidad), embriones de pollo, cultivo de tejidos y patos de un día de edad (Valladares, 1986). Richard et al. (1986) encontraron aflatoxinas M1 y B1 en hígado, riñón, molleja y heces de pavitos alimentados con dietas que contenían de 50 a 150 ppb de aflatoxinas durante 11 ó 13 semanas; sin embargo, Reddy et al. (1984) al analizar tejido hepático y muscular (muslo) de pollos alimentados con aflatoxinas no encontraron restos de estas.

3.1.10 PREVENCIÓN Y CONTROL

No hay un tratamiento eficaz para combatir o eliminar a las aflatoxinas mientras permanecen en el hospedador, por lo que el tratamiento a seguir es retirara las aflatoxinas del alimento.

Las aflatoxinas son resistentes a la inactivación térmica y no son destruidas por la ebullición ni por algún procedimiento que involucre aumentos en la temperatura. En la elaboración del pan solo hay una parcial destrucción de las aflatoxinas a lo largo de las diferentes etapas del proceso (Jemmali y Lafont, 1972; Riess, 1978). Durante los procesos de pasteurización, en la elaboración de leche evaporada se obtiene reducciones de entre 32 y 87% de la aflatoxina M1 y también

en la elaboración de queso cottage con leche contaminada, las aflatoxinas se separan del queso y quedan en el suero únicamente (Purchase et al., 1972).

Durante el proceso de la nixtamalización del maíz para la elaboración de las tortillas se ha visto una aparente reducción en los niveles de aflatoxinas, sin embargo, una parte de ellas son reconstituidas durante la acidificación de los productos (Price y Jorgensen, 1985). Se sugiere que el hidróxido de calcio en agua, que se emplea en este proceso reacciona con la aflatoxina perdiendo esta su fluorescencia original y cambiando la capacidad de extracción con solventes como el metanol, lo cual enmascara la presencia de ellas por lo que no son detectadas por los métodos usuales (Bailey et al., 1991).

Varios solventes son capaces de extraer las aflatoxinas de diferentes productos, con un mínimo efecto en el contenido de proteínas o en su calidad nutritiva (Anderson, 1983).

Entre estos se encuentran: etanol 95%, acetona acuosa 90%, isopropanol 80% y las combinaciones hexano-acetona-agua y hexano-etanol-agua (Rayner et al., 1977; Goldblatt y Dollear, 1979); sin embargo, la tecnología de extracción resulta muy costosa e impráctica (Shanta, 1987).

También se emplean métodos par la separación de maíces contaminados mediante densidad de separación, lavado en seco, lavado en húmedo y fragmentación preferencial, lográndose reducciones efectivas del contenido de aflatoxinas (Brekke et al., 1975) y en el molido húmedo las aflatoxinas se concentran en el macerado y fibras, siendo mucho menor su contenido en el gluten y en el germen.

Un método novedoso para la reducción en la concentración de aflatoxinas en maíz, es el de flotación y segregación por densidad de los granos tóxicos (Huff, 1980; Huff y Hagler, 1985). También se ha visto que materiales adsorbentes como

el carbón activado, la arcilla y los minerales zeolíticos son eficientes en la separación de aflatoxinas en productos como la cerveza y la leche (Decker, 1980).

Existen diversos microorganismos como levaduras, mohos y bacterias que son capaces de degradar a las aflatoxinas sin generar otros compuestos tóxicos como sucede como *Flavobacterium aurantiacum* y otras bacterias. La fermentación de granos contaminados también permite la degradación de las aflatoxinas, pero no así con el ensilado (Dam et al., 1977).

A la fecha, se han probado una gran diversidad de compuestos químicos para la degradación o inactivación de las aflatoxinas obteniéndose resultados promisorios con ácidos y sus sales, bases, aldehídos, bisulfitos, agentes oxidantes y varios gases (Mendez-Albores 2004).

Estos compuestos sin embargo; resultan inseguros por formar residuos tóxicos o alterar el contenido nutricional, sabor, olor, color, textura o propiedades funcionales de los productos.

En tanto, el tratamiento de granos con amonio parece viable, esto implica el tratamiento de alimento en estado molido utilizando hidróxido de amonio o amoniaco bajo condiciones de alta presión y temperatura o a presión atmosférica y temperatura ambiente en granos recién cosechados. Esto, implica la hidrólisis del anillo de lactona y la conversión del compuesto original en numerosos productos con un decreciente grado de toxicidad (Phillips et al., 1994). Este proceso es usado para detoxificar granos de maíz, pasta de cacahuete, semillas de algodón y subproductos en Estados Unidos, Francia y Africa.

Una posible solución económica podría ser el desarrollo de un aditivo no tóxico para la dieta, o, alguna modificación a esta que pudiera hacer a las aves más resistentes a los efectos tóxicos de las aflatoxinas, como por ejemplo una dieta alta en lípidos y proteínas; una dieta que contenga aureomicina y una combinación de antibióticos y vitaminas, se han mostrado como alternativas en la reducción de los

efectos tóxicos de las aflatoxinas. Sin embargo; se sabe muy poco acerca de la prevención de la adsorción intestinal de las aflatoxinas y de acrecentar la mejoría para su destoxificación en el organismo (Phillips et al., 1994).

Algunas sustancias como los ácidos orgánicos, la violeta de genciana y otros productos químicos controlan el crecimiento de los hongos y la subsecuente formación de aflatoxinas (Cavalheiro, 1983).

Por otro lado, el control de estos hongos con sustancias químicas ha estado limitado, sin embargo son ampliamente utilizadas algunas sales de ácidos orgánicos los cuales se encuentran muy difundidos en la naturaleza, con frecuencia en frutas: por ejemplo, el ácido cítrico de los frutos cítricos, el ácido benzoico en arándanos agrios y las ciruelas verdes, el ácido sórbico en la fruta del fresno. Nuestros antepasados descubrieron que los cambios deseables desarrollados sobre el aroma y la textura de estos productos y la acidez provocada por la formación de ácidos orgánicos constituía un medio valioso para retrasar o evitar la alteración proteolítica. Al considerarse la posible utilización como conservadores de otros ácidos orgánicos, cabe recordar que la actividad antimicrobiana de estos compuestos suele ser superior a medida que se alarga la longitud de su cadena molecular (Cavalheiro, 1983).

La actividad antimicrobiana de un ácido orgánico o sus ésteres se debe a las moléculas no disociadas del compuesto. Algunos ácidos orgánicos en su estado no disociado son muy solubles en las membranas celulares. Únicamente los ácidos orgánicos lipófilos muestran actividad antimicrobiana. Según una hipótesis, estos compuestos inhiben el crecimiento de los microorganismos, o los matan, por interferir con la permeabilidad de la membrana celular al producir un desacoplamiento en el transporte de sustratos y en la fosforilación oxidativa del sistema transportador de electrones.

Este fenómeno da lugar a la acidificación del contenido celular, que es probablemente la principal causa de la inhibición y muerte de los microorganismos,

por lo cual se han utilizado en ocasiones en el control de hongos, durante el almacenamiento del maíz húmedo que se destina para la alimentación animal (Sauer et al., 1974).

El presente trabajo, trata de dar una alternativa más, enfocándose en particular en el ácido cítrico, bajándose en los mecanismos de control mencionados anteriormente.

IV. HIPOTESIS

Si el ácido cítrico actúa como destoxicante, entonces bajará las concentraciones de aflatoxinas en el alimento administrado a los animales en la fase experimental.

V. JUSTIFICACIÓN

Ya que la presencia de micotoxinas (aflatoxinas) en granos y alimento terminado es frecuente y que los métodos para su control y/o destoxificación han mostrado resultados variables (Mendez-Albores et al 2004), no así al utilizar ácidos orgánicos como el ácido propiónico que reduce la concentración de aflatoxina hasta un 90%, sin embargo tiene el inconveniente de alterar la calidad cualitativa de granos y alimentos, no sucediendo así al utilizar otras fuentes de ácido orgánicos, como el ácido cítrico, lo que nos brindaría una opción mas para el control de la aflatoxicosis.

VI. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad de destoxificante del ácido cítrico en alimento balanceado con Aflatoxinas.

VII. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la eficacia del ácido cítrico 1.0N, para disminuir la concentración de las aflatoxinas, en los alimentos utilizados para patos domésticos.
- Comprobar la concentración óptima de ácido cítrico, al ser utilizado en el proceso de destoxificación, tomando como base 1.0N para evaluar el funcionamiento del producto, administrado en el alimento.
- Evaluar las posibles lesiones hepáticas, por medio de pruebas de laboratorio (GTO, GTP).
- Evaluar las alteraciones morfológicas en hígados de patos alimentados con aflatoxina, ácido cítrico y alimento destoxificado.

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente experimento, se utilizó 40 patos de la raza Pekín, con 1 día de edad, no sexados, divididos al azar en 4 lotes de 10 patos cada uno y colocados en jaulas. En una caseta experimental, ubicada en la unidad de investigación en granos y semillas (UNIGRAS) de la dependencia de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 3.

Evaluar la efectividad de destoxificante del ácido cítrico en alimento balanceado con Aflatoxinas.

VII. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la eficacia del ácido cítrico 1.0N, para disminuir la concentración de las aflatoxinas, en los alimentos utilizados para patos domésticos.
- Comprobar la concentración óptima de ácido cítrico, al ser utilizado en el proceso de destoxificación, tomando como base 1.0N para evaluar el funcionamiento del producto, administrado en el alimento.
- Evaluar las posibles lesiones hepáticas, por medio de pruebas de laboratorio (GTO, GTP).
- Evaluar las alteraciones morfológicas en hígados de patos alimentados con aflatoxina, ácido cítrico y alimento destoxificado.

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente experimento, se utilizó 40 patos de la raza Pekín, con 1 día de edad, no sexados, divididos al azar en 4 lotes de 10 patos cada uno y colocados en jaulas. En una caseta experimental, ubicada en la unidad de investigación en granos y semillas (UNIGRAS) de la dependencia de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 3.

La dieta que se les proporcionó fue alimento para pollo de engorda, de la etapa de iniciación con 19.0 % proteína, 2.5% grasa, 5.0% fibra, 12.0% humedad, 6.0% cenizas, 55.0% ELN; este se utilizó durante el tiempo que duró el experimento (11 días) y agua a libre acceso. Para descartar que el alimento estuviera contaminado con aflatoxinas, se le realizó la determinación por medio del método Aflatest (diagrama 1), el cual determina la concentración de aflatoxinas en ppm de alimento. Para la determinación de aflatoxinas se utilizó el fluorómetro de la marca SOURCE Scientific Systems inc. (Garden Grove C.A 92641 USA. Serial No. 0460 Model. No. VICAM 4).

8.1.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron 40 patos de la raza pekin, divididos al azar, para aplicar 4 tratamientos se utilizó un diseño totalmente al azar, realizando el siguiente manejo. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de aflatoxinas y químico para lo 4 lotes.

Lote	Aflatoxinas (120ug/Kg.)	Ácido cítrico(45g)
1	(-)	(-)
2	(+)	(-)
3	(-)	(+)
4	(+)	(+)

El alimento que se les proporcionó fue en base materia humedad, utilizando el procedimiento siguiente para agregar la cantidad indicada de Aflatoxinas y ácido cítrico a la dieta.

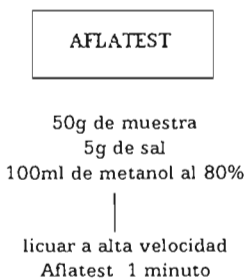
El lote 1 (T + A) recibió 500g de alimento sin aflatoxinas + 750ml de agua, lote testigo.

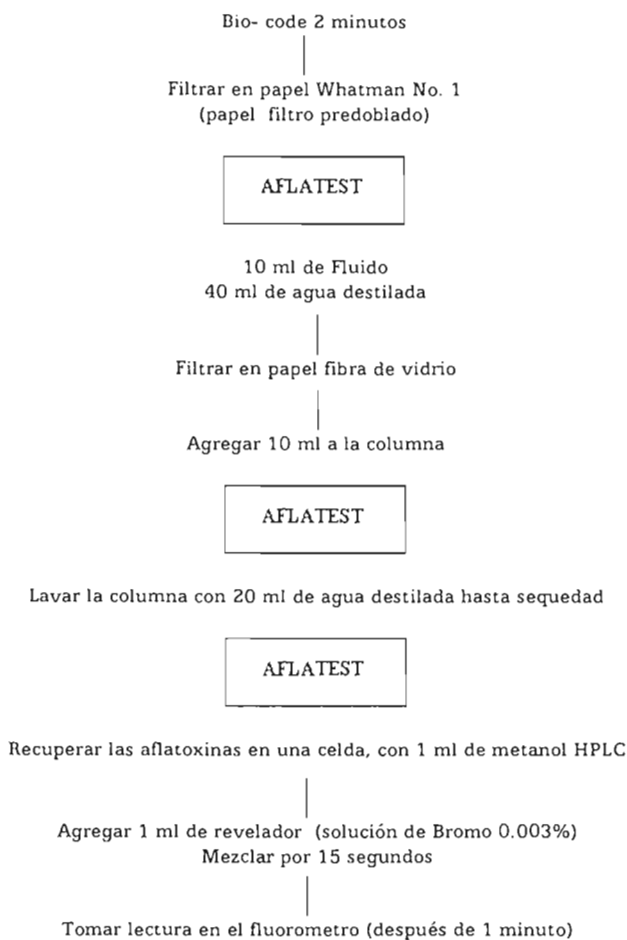
El lote 2 (T + Q) recibió 500g de alimento sin aflatoxinas + (705ml de agua + 45g de ácido cítrico).

El lote 3 (AF + A) recibió 500g de alimento con aflatoxinas (0.120 mg/g) + 750 ml de agua.

El lote 4 (AF + Q) recibió 500g de alimento con aflatoxinas (0.120 mg/g) + 705ml de agua + 45g de ácido cítrico.

DIAGRAMA 1
Determinación de aflatoxina total mediante el método de inmunoafinidad en mini columna.
(AFLATES-VICAM)





PARÁMETROS PRODUCTIVOS.

Los animales fueron pesados por lotes, al inicio y al final del experimento esto fue los días 1 y 11. El consumo del alimento se midió por lote y la conversión alimenticia (alimento /ganancia de peso). La mortalidad que se presento también fue registrada. El consumo promedio de alimento para los patos fue de 10g/Kg. aprox.

ESTUDIO MORFOLÓGICO

Para el estudio patológico, se sacrificaron a 3 animales de cada lote los días 7 y 11, con el objetivo de observar cambios morfológicos, las aves que morían en el transcurso del trabajo de investigación se les realizó la necropsia y la toma de muestras.

Los órganos observados fueron: hígado, riñón, bazo, bolsa de Fabricio, corazón, estos fueron disecados y pesados individualmente para obtener los pesos absolutos y relativos en comparación al peso del animal.

Posteriormente se obtuvieron muestras representativas de cada órgano ya mencionados, se procedió a su fijación con formalina al 10 % por 24 hrs., para ser procesados por las técnicas convencionales de histopatología coloreándose con hematoxilina-eosina para su posterior observación microscópica.

8.1.2 ANALISIS ESTADISTICO

Se utilizó un ANOVA completamente al azar para las variables de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, enzimas hepáticas y las medias fueron comparadas con la prueba de TUKEY. Los datos se analizaron utilizaron el paquete Estadístico Statgraphics Plus 5.0 utilizando un nivel de significancia de $\alpha=0.05$ para distinguir diferencias entre tratamientos.

IX. RESULTADOS

Para el estudio patológico, se sacrificaron a 3 animales de cada lote los días 7 y 11, con el objetivo de observar cambios morfológicos, las aves que morían en el transcurso del trabajo de investigación se les realizó la necropsia y la toma de muestras.

Los órganos observados fueron: hígado, riñón, bazo, bolsa de Fabricio, corazón, estos fueron disecados y pesados individualmente para obtener los pesos absolutos y relativos en comparación al peso del animal.

Posteriormente se obtuvieron muestras representativas de cada órgano ya mencionados, se procedió a su fijación con formalina al 10 % por 24 hrs., para ser procesados por las técnicas convencionales de histopatología coloreándose con hematoxilina-eosina para su posterior observación microscópica.

8.1.2 ANALISIS ESTADISTICO

Se utilizó un ANOVA completamente al azar para las variables de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, enzimas hepáticas y las medias fueron comparadas con la prueba de TUKEY. Los datos se analizaron utilizaron el paquete Estadístico Statgraphics Plus 5.0 utilizando un nivel de significancia de $\alpha=0.05$ para distinguir diferencias entre tratamientos.

IX. RESULTADOS

Cuadro 2. Pesos promedio de las aves en gramos.

Tratamiento	Inicial	Final
T+A	49.8g a	228.0 g a
T+Q	49.3g a	191.0 g a
AF+A	48.8g a	129.0 g b
AF+Q	49.0g a	120.5 g b

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).

CAMBIO EN PESOS.

El peso inicial promedio fue de 49g, no encontrándose diferencias significativas estadísticamente hablando para los 4 lotes ($p > 0.05$) grafica 1. Sin embargo para el peso final se observaron diferencias estadísticas entre los lotes 1(228g) y 2(191g) en relación con los lotes 3(129g) y 4(120.5g) siendo estos los pesos inferiores, (grafica 2).

Cuadro 3. Pesos de diferentes órganos en gramos.

Tratamiento	Higado	Corazón	Bolsa de Fabricio	Riñon	Bazo
T+A	16.2g a	2.2g a	0.315g a	3.24g a	0.464g a
T+Q	12.6g a	1.6g b	0.246g b	2.63g a	0.279g a
AF+A	9.0g b	1.6g b	0.173g b	3.24g a	0.651g a
AF+Q	6.8g b	1.3g b	0.169g b	2.06g a	0.366g a

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).

HÍGADOS

Los promedios de los pesos de hígado, que se muestran en la gráfica 2, dieron los siguientes resultados en gramos: **lote 1**(16.20g) siendo el peso promedio más alto, observándose diferencias estadísticas con los **lotes 3** (9.09g) y **4** (6.87g), al contrario del **lote 2** (12.69g), con el que no hay diferencias estadísticas.

CORAZONES

Al observar los datos en la gráfica 3, correspondientes a los pesos de corazón, el mejor peso promedio lo obtuvo el **lote 1**(2.209g) mostrando diferencias estadísticas significativas con el resto de los lotes.

BOLSA DE FABRICIO

En la gráfica 4 se muestran los promedios de los pesos de la bolsa de Fabricio, donde el **lotes 2** (0.246g), el **lote 3** (0.173g) y el **lote 4**(0.169g) no muestran diferencias estadísticas entre ellos, pero al compararlos con el **lote 1**(0.315g) quienes obtuvo el mejor, mostró diferencias significativa ($p < 0.05$).

RIÑONES

Los datos que se obtuvieron de los pesos de riñón nos muestran, que los promedios de cada lote indica que estadísticamente hablando no tienen diferencias significativas, teniendo para el **lote 1**(3.245g), **lote 2**(2.634g), **lote 3**(3.240g) y el **lote 4** (2.065g).

BAZOS

El pesos promedio del bazo para cada lotes se comportaron estadísticamente sin diferencias entre ellos, ya que se encuentran teniendo como valores para el lote 1(0.464g), lote 2 (0.279g), lote 3 (0.651) y el lote 4 (0.366g).

Cuadro 4. Concentración enzimática en UL.

Tratamiento	TGP	TGO
T+A	44.2 ul a	37.9 ul a
T+Q	150.8 ul a	34.2 ul a
AF+A	247.7 ul b	68.7 ul a
AF+Q	321.1 ul b	44.5 ul a

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).

TGP/ALT (ALANINA AMINOTRANSFERASA)

Los patos que no consumieron aflatoxinas en el alimento mostraron una concentración enzimática de 44.267 UL (lote 1), y el lote 2 obtuvo una concentración de 150.83UL, no mostrando diferencia estadística entre ellos, sin embargo, cuando los patos consumieron aflatoxinas sin químico su concentración enzimática fue 247.77 UL (lote 3) y (lote 4) una concentración de 321.13UL, estos tratamientos sólo mostraron diferencias estadística al compararlo con el lote 1.

TGO/AST (ASPARTATO AMINOTRANSFERASA)

En la grafica 8 , las concentraciones enzimaticas que se observan para los 4 lotes, nos indican que aunque el lote 3 es el que tienen la más alta concentración enzimática, estadísticamente hablando no muestra diferencias significativas con relación a los demás lotes.

9.1.1 EXAMEN MORFOLÓGICO

MICROSCOPICO

- HIGADOS

El lote 1 se observó degeneración albuminosa y vacuolar difusa leve (2/3) del órgano, degeneración vacuolar difusa moderada (1/3).

El lote 2 Degeneración vacuolar difusa leve-moderada (3/3).

El lote 3 Degeneración albuminosa difusa moderada (3/4), hiperplasia de conductos biliares moderada (1/4), hiperplasia de conductos biliares severa (1/4).

El lote 4 degeneración albuminosa difusa severa (1/4), degeneración vacuolar multifocal moderada (3/4), Infiltración de heterófilos periportal moderada (4/4), hiperplasia de conductos biliares severa (3/4).

- BAZOS

El lote 1, sin cambios patológicos aparentes.

El lote 2 Sin cambios patológicos aparentes (SCPA) (2/3) Depleción linfoide leve (1/3).

El lote 3 Depleción linfoide moderada (3/4)

El lote 4 Depleción linfoide moderada (3/3) Múltiples focos de apoptosis de lev-mod. (2/3).

- CORAZONES

Los 4 lotes se observaron, sin cambios patológicos aparentes.

- RIÑONES

Lotes 1, 2,3 sin cambios patológicos aparentes.

El lote 4 sin cambios patológicos aparentes (2/3), Infiltración de heterófilos multifocal mod. (1/3).

MACROSCOPICO

Se observó en los hígados contaminados con aflatoxinas, un aumento en el tamaño del lóbulo derecho y una coloración amarillo-rojiza: y en los hígados que además contenían ácido cítrico, se observó hemorragias subcapsulares y pequeños puntos blancos del tamaño de la cabeza de un alfiler.

En los corazones contaminados se encontró hidropericardio, infiltrado con un líquido color ámbar (trasudado).

X. DISCUSIÓN.

PESO INICIAL

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

MACROSCOPICO

Se observó en los hígados contaminados con aflatoxinas, un aumento en el tamaño del lóbulo derecho y una coloración amarillo-rojiza: y en los hígados que además contenían ácido cítrico, se observó hemorragias subcapsulares y pequeños puntos blancos del tamaño de la cabeza de un alfiler.

En los corazones contaminados se encontró hidropericardio, infiltrado con un líquido color ámbar (trasudado).

X. DISCUSIÓN.

PESO INICIAL

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Clarence (1987) reporta que el peso normal de patos de la raza Pekín 1 día de edad fluctúa entre 45-60g, lo cual coincide con los pesos obtenidos durante la fase experimental, en donde el peso promedio general fue de 49g.

PESO FINAL

Durante la fase experimental se observó que el efecto de las aflatoxinas provocó una disminución en los pesos de casi el 25%; Smith y Hamilton (1970) mencionan que el consumo de 2.5 mg /g de aflatoxinas disminuye la ganancia de peso y el consumo de alimento en pollos, recordando que en este experimento la dosis utilizada fue más alta y los resultados obtenidos en los lotes fueron similares a los reportados por los autores antes citados, cabe destacar que aun con la administración de ácido cítrico esto no se tuvo variantes ,como se esperaba.

HIGADO

Campbell (1988) comenta que cuando el pollo consume alimento contaminado con aflatoxinas, el hígado se daña, llevando a la disminución de la síntesis proteinica, aunado a esto que las aflatoxinas incrementan la fragilidad de los capilares, lo cual ocasiona la fuga de las proteínas del plasma hacia los tejidos y degeneración grasa. Lo anterior provoca la disminución en el peso del hígado (menor densidad), lo que concuerda con este experimento, ya que el hígado contaminados con aflatoxinas, presentó un menor peso, incluso aquellos hígados de los patos que en su alimentación se les administro el ácido cítrico únicamente.

CORAZON

Richard y Hamilton (1987) comentan que el bajo peso del corazón es consecuencia de un síndrome de falta de absorción provocada por una disminución en la actividad específica de enzimas pancreáticas (tripsina, amilasa y lipasa) en

pollos, coincidiendo con lo observado en este experimento, donde los corazones contaminados con aflatoxinas, sufrían una reducción en su peso utilizando una dosis de 120ppb en patos de 1 día de edad, por otro lado el Jowaman et al., (2004) indican que a dosis de 50-100 ppb en patos de 4 semanas de edad, al aparecer la toxina no produce cambios en el peso del corazón, aun que hay que comentar que para este experimento existieron dos variantes la edad y la dosis.

BOLSA DE FABRICIO

Algunos autores como Gardiner (1965), reportan que durante la aflatoxicosis hay una disminución en el tamaño de bolsa de Fabricio en pollos, lo observado en este experimento solo fue una baja en el peso aún que esto implica también una disminución del tamaño y por lo tanto una baja en la inmunidad, Thaxton et al., (1974) explican la habilidad inmunosupresiva que poseen las aflatoxinas, en virtud de que inhiben la acción de la RNA polimerasa y subsecuentemente limitan la síntesis proteica, esta deficiente síntesis, reducirá en forma importante la cantidad de anticuerpos e inmunoglobulinas circulantes predisponiendo a los pollos a padecer complicaciones secundarias por baja inmunidad.

RIÑÓN

Durante la fase experimental no se observaron cambios morfológicos, macroscópicos y microscópicos.

BAZO

El peso del bazo, en los lotes 3 y 4 contaminados con aflatoxinas, donde existió un aumento de un 20 %, teniendo como un promedio normal en este experimento de .46g; algunos autores como Jowaman et al., (2004) reportan que a

dosís de 50 y 100 ppb de aflatoxinas, el bazo incrementa su peso después 2 semana de ser contaminado, lo que se confirmó en este experimento.

TGP

Después de haber realizado pruebas enzimáticas para verificar el efecto tóxico que ocasionaron las aflatoxinas al organismo de los patos, se comprobó que las concentraciones enzimáticas de ALT/GTP y AST/GTO aumentaron casi en un 50%, en los animales contaminados con aflatoxinas, a sí como los que solo tenían el químico, observándose concentraciones de 247.77 UL/L siendo los valores normales reportados en patos de 10.1- 55.3 UL/L según Williams and Trainer (1971) citados por Smith y Stuart (1987) quienes mencionan que aún a bajas dosis de aflatoxinas se ha encontrado un aumento en las concentraciones de ALT/GTP y AST/GTO en pollos.

Las mortalidades fueron mayores en los lotes que consumieron aflatoxinas observándose esto en los primeros días del experimento. Hamilton y Smith (1970) mencionan que a dosis de 2.5mg/g afecta la mortalidad en pollos, mientras que Jowaman et al., (2004) mencionan que a dosis de 50-100ppb no tiene ningún efecto en la tasa de mortalidad en patos. Sin embargo en éste trabajo aunque la dosis fue ligeramente mayor (120ppb) sí se observó mortalidad.

XI. CONCLUSIONES

- Lo observado en la fase experimental, con relación a la administración de ácido cítrico en el alimento contaminado, dio como resultado la disminución en la concentración de aflatoxina, esto evaluado con la técnica de aflatest.

dosís de 50 y 100 ppb de aflatoxinas, el bazo incrementa su peso después 2 semana de ser contaminado, lo que se confirmó en este experimento.

TGP

Después de haber realizado pruebas enzimáticas para verificar el efecto tóxico que ocasionaron las aflatoxinas al organismo de los patos, se comprobó que las concentraciones enzimáticas de ALT/GTP y AST/GTO aumentaron casi en un 50%, en los animales contaminados con aflatoxinas, a sí como los que solo tenían el químico, observándose concentraciones de 247.77 UL/L siendo los valores normales reportados en patos de 10.1- 55.3 UL/L según Williams and Trainer (1971) citados por Smith y Stuart (1987) quienes mencionan que aún a bajas dosis de aflatoxinas se ha encontrado un aumento en las concentraciones de ALT/GTP y AST/GTO en pollos.

Las mortalidades fueron mayores en los lotes que consumieron aflatoxinas observándose esto en los primeros días del experimento. Hamilton y Smith (1970) mencionan que a dosis de 2.5mg/g afecta la mortalidad en pollos, mientras que Jowaman et al., (2004) mencionan que a dosis de 50-100ppb no tiene ningún efecto en la tasa de mortalidad en patos. Sin embargo en éste trabajo aunque la dosis fue ligeramente mayor (120ppb) sí se observó mortalidad.

XI. CONCLUSIONES

- Lo observado en la fase experimental, con relación a la administración de ácido cítrico en el alimento contaminado, dio como resultado la disminución en la concentración de aflatoxina, esto evaluado con la técnica de aflatest.

- En las aves la administración previa de ácido cítrico en el alimento contaminado, no evita las lesiones morfofisiológicas hepáticas durante el desarrollo de la aflatoxicosis, esto se fundamenta con características histopatológicas, además de la realización de pruebas de laboratorio en enzimas ALT/GTP, AST/TGO.
- Al ser administrado el ácido cítrico en el alimento, se observó la disminución de el consumo de el alimento, atribuido a la baja palatabilidad.
- Existen reportes de que se han utilizado otros ácidos orgánicos como ácido láctico, propiónico y ascórbico, obteniendo resultados satisfactorios, pero ninguno acerca del ácido cítrico, lo que da origen a la búsqueda de nuevas opciones para el control de la enfermedad en las explotaciones pecuarias.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abarca, M.L., M.R. Bragulat., G. Castella y F.J. Cabanes. 1994. Mycoflora and aflatoxin- producing strains in animal mixed feeds. J. Food Prot. 57, 256-258.
2. Álvarez, R., J. A Marroqui y M. M. Tequida, 1989. Análisis de microflora y micotoxinas en trigo y maíz almacenados y destinados al consumo animal

- En las aves la administración previa de ácido cítrico en el alimento contaminado, no evita las lesiones morfofisiológicas hepáticas durante el desarrollo de la aflatoxicosis, esto se fundamenta con características histopatológicas, además de la realización de pruebas de laboratorio en enzimas ALT/GTP, AST/TGO.
- Al ser administrado el ácido cítrico en el alimento, se observó la disminución de el consumo de el alimento, atribuido a la baja palatabilidad.
- Existen reportes de que se han utilizado otros ácidos orgánicos como ácido láctico, propiónico y ascórbico, obteniendo resultados satisfactorios, pero ninguno acerca del ácido cítrico, lo que da origen a la búsqueda de nuevas opciones para el control de la enfermedad en las explotaciones pecuarias.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abarca, M.L., M.R. Bragulat., G. Castella y F.J. Cabanes. 1994. Mycoflora and aflatoxin- producing strains in animal mixed feeds. J. Food Prot. 57, 256-258.
2. Álvarez, R., J. A Marroqui y M. M. Tequida, 1989. Análisis de microflora y micotoxinas en trigo y maíz almacenados y destinados al consumo animal

en el estado de Sonora. Tesis de Lic. Universidad de Sonora, Hermosillo, México.

3. Anderson, R. A. 1983. Detoxification of aflatoxin-contaminated corn. In: Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn. Diener, U. L., Asquith, R. L. and Dickens, J. W. (Eds.). Craftmaster Printers, Inc. Opelika, Alabama. 87-90pp.
4. Bailey, R. H., B. A. Clement, T. A. Chase and T. D. Phillips, 1991. The distribution of aflatoxinas in the production of corn tortillas. *Toxicologist*.11: 280.
5. Brekke, O. L., A. J. Peplinski and E. L. Jr Griffin, 1975. Cleaning trials for corn containing aflatoxin. *Cereal Chem.*, 52: 198-204.
6. Bullerman, L. B. 1987. Methods of detecting micotoxins in foods and beverages. In: *Food and Beverage Micology*. 2nd ed., Beuchat, L. R., Ed., AVI. New York, 571.pp.
7. Busby, W.F. and G.W. Wogan. 1984. Aflatoxins. in *Chemical Carcinogens Vol. 2*. ACS Monogr. 182. C. E. Searle, ed. Am. Chem. SOC .Washinton, D.C ,945pp
8. Campell, J.R., J.D. May, W.E. Huff and J.A. Doerr, 1988. Evaluation of immunity on young broiler chicken during simultaneous aflatoxicosis and ochratoxicosis. *Poultry. Sci.*62:2138-2144.
9. Carvajal, M. and G. Arroyo, 1997. Management of aflatoxin contaminated maize in Tamaulipas, Mexico. *Food Chem.* 45(4).
10. Cavaleiro, A.C.L. 1983. Aflatoxinas y aflatoxicosis: revisión. *Rev. Avicultura*.27:77-81.
11. Chang, C.F. and P.B. Hamilton, 1979. Refractory phagocytosis by chicken thrombocytes during aflatoxicosis. *Poultry. Sci.* 58: 559-561.
12. Chang, C.F. and P.B. Hamilton , 1979. Impairment of phagocytosis in chicken monocytes during aflatoxicosis. *Poultry. Sci.* 58: 562-566.
13. Chen, C., A.M. Pearson, T.H. Coleman 1985. Broiler aflatoxicosis with recovery after replacement of contaminated diet. *Poultry sci* 26:65-71
14. Christensen, C. M., and H. Kaufmann. 1969. The role of storage fungi in the loss of quality. In: *Grain Storage*. University of Minnesota Press, Minneapolis, Minn.153 pp.

15. Ciegler, A., E. B. Lillehoj, R. E. Peterson and H. H. Hall, 1966. Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl. Microbiol.* 14: 934-939.
16. Cleveland, T. E. and D. Bhatnagar, 1991. Molecular regulation of aflatoxin biosynthesis. In: *Mycotoxin, Cancer and Health*. Bray G. and Ryan, D. (Eds.) Louisiana State University Press. Baton Rouge, Louisiana. 270-287.
17. Clifford, J. I. And K. R. Rees, 1966. Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell. *Nature*, 209: 312-315.
18. Cole, R. J. and P. J. Cotty, 1990. Biocontrol of aflatoxin production by using biocompetitive agents. In: *Perspectives on aflatoxin in field crops and animal food products in the United States*. (ARS-83). National Technical Information Services. Springfield, Virginia. 62-66.
19. Coulombe, R. A. R. P. Sharma, and D. K Salunkhe, 1991. *Mycotoxins and Phytoalexins*. Ed CRC Press, Boca Raton, FL, 113pp.
20. Council for Agricultural Science and Technology. 1989. *Mycotoxins: economic and health risks*. Task force Rep. No. 116. Counc. Agric. Sci. Techol., Ames, I.A, 21-43pp.
21. Dalvi R.R and C. Mc Gowan 1984. Experimental induction of chronic aflatoxicosis in chickens by purified aflatoxina B1 and its reversal by activated charcoal Phenobarbital and reduced glutathione. *Poult.Sci* 63: 485-491.
22. Dam, R., S. W.Tam, and L. D. Satterlee, 1977. Destruction of aflatoxins during fermentation and by product isolation from artificially contaminated corn. *Cereal Chem.*, 54: 705-714.
23. Dowd, P. F. 1991. Insect interactions with mycotoxin producing fungi and their host. In: *Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn*. Bhatnagar, D., Lillehoj, B. and Arora, D. K.(Eds.) Craftmaster Printers, Inc. Opelika, Alabama. 81-86.
24. Drew, S. W. and A. L.Demian, 1987. Effect of primary metabolites on secondary metabolism. *Ann. Rev. Microbiol.*, 31: 343-356.
25. Eaton, D. L., R. G. Rammsdell, and G. E. Neal, 1994. Biotransformation of aflatoxins. In: *The toxicology of aflatoxins*. Human Health, Veterinary and

- Agricultural Significance. Eaton, D. L. and Groopman, J. D. (Eds.) Academic Press. N. Y. U. S. A. 45-71.
26. Esqueda, V. M. y O. R. M. Villegas, 1991. Efecto de la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en maíz, sus métodos de degradación y su posible control con lectinas. Rev. Vinculación. 3(20): 44-47
27. Giambrone, J.J., U.L. Diener, N.D. Davis, V.S. Pangala and F.J. Hoerr, 1985. Effects of purified aflatoxin on broiler chicken. Poultry. Sci. 64: 852-858.
28. Goldblatt, L. A. and F. G. Doller, 1979. Modifying mycotoxin contamination in feeds use of molds inhibitors, ammoniation and roasting. In: Interactions of Mycotoxins in Animal Production. National Academy of Sciences, Washington, D. C. 167-184.
29. Gregory, F. J. and D. Manley, 1981. HPLC determination of aflatoxins in animal tissues and products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64(1): 144-151.
30. Hamilton, P.B. 1990 Efectos y control de las micotoxinas. U.S. Feed Grains Council. USA.
31. Hofstad, MS. 1984. Diseases of Poultry 7 th. Ed. Iowa State University Iowa, U.S.A.
32. Hornedo, A. S. 1989b. Interacción de micotoxinas en cerdos. Síntesis Porcina. 8(8):12.
33. Huff, W. E. and W. M. Jr. Hagler, 1985. Density segregation of corn and wheat naturally contaminated with aflatoxin, desoxyrivalenol and zearalenone. J. Food Prot. 48: 416-420.
34. Jelinek, C. F., A. E. Pohland, and G. E. Wood, 1989. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds: An update. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 72: 223-230.
35. Jemmali, M. and P. Lafont, 1972. Evolution de l aflatoxine B1 au cours de lapanification. Cah. Nut. Diet. 7: 319-322.
36. Jindal N., S.K. Mahipal., N.K. Mahajan. 1994. Toxicity of aflatoxin B1 in broiler chickens and its reduction by activated charcoal. Res. Vet. Sci. 56, 37-40pp.
37. Keyl, A.C. and A.N. Booth. 1971. Aflatoxin effects in livestock. Journal of American Oil Chemistry Society 48: 599-604.

38. Klein, J.P., R. Buckner, J. Kelly and R.A Coulombe 2000. Biochemical Basis for the extreme sensitivity of Turkeys to aflatoxin B₁. *Toxicology and Pharmacology* 165, 45-52.
39. Lillehoj, E. B. 1983. Effect of environmental and cultural factors on aflatoxin contamination of developing corn kernels. In *Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn*, Southern Cooperative Series Bulletin 279 for Southern Regional Project S-132; Diener, U. L., Asquith, R. L., Dickens, J. W., Eds, Auburn University: Opelika AL.
40. McEvoy J.D.G. 2002. Contamination of animal feedingstuffs as a cause of residues in food: a review of regulatory aspects, incidence and control. Development of Northern Ireland, Stoney Road, Stormont, Belfast BT4 3SD, Northern Ireland, UK.
41. Mendez-Albores, JA., G. Arambula-Villab, M.G. Loarca-Pinaa Gonzalez-Hernandez, E. Castano-Tostadoa, E. Moreno-Martinez. 2004. Aflatoxins' fate during the nixtamalization of contaminated maize by two tortilla-making processes. Queretaro. *Journal of Stored Products Research* 40, 87-94.
42. Mirocha, C.I. 1982. Aflatoxinas: química, metabolismo y sus efectos en la salud animal. VI Ciclo Internacional de conferencias sobre avicultura I.N.I.P.
43. Mishra H.M and Chitrangada Das 2003. A Review on biological control and metabolism of Aflatoxin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43(3); 245-264 pp.
44. Mohiuddin, S.M., R.M. Vikram, R.M. Maghava, and K. Ramakrishna, 1986. Studies of phagocytic activity and haematological changes in aflatoxicosis in poultry. *Indian. Vet. J.* 63: 442-445.
45. Moreno, M. E. 1996. El maíz y las aflatoxinas en: La industria de la masa y la tortilla: desarrollo y tecnología. Torres, F., Chong, I y Quintanilla J. PUAL-UNAM. 139-145 pp.
46. Morilla, G.A. 1986. Efectos de las micotoxinas sobre los mecanismos de inmunidad de los animales. *AVIRAMA* 2 ; 19-27.
47. Newberne, P.M. 1973. Chronic aflatoxicosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 163: 1262-1267.

48. Ochoa, M. A., P. Torres, G. S. Yépiz, R. Alvarez, J. A. Marroquí, M. M Tequida y G. M. Silveira 1989. Incidencia de aflatoxinas B₁ y Zearalenona en trigo y maíz almacenados en el estado de Sonora. *Rev. Ciencia Alimentaria* 1(1): 16-20.
49. Organización Panamericana de la Salud. 1983. Criterios de salud ambiental. Micotoxinas. Publicación científica No. 453: 69-82.
50. Peña, D. S. y M. C. Durán, 1990. Efecto tóxico de las aflatoxinas en la dieta. *Ciencia y Desarrollo*, 16(94):61-72.
51. Pier A.C. 1973. An overview of micotixicoses of domestic animls. *J. Am. Med. Assoc.* 163: 1268-1269.
52. Pier A.C. 1980. Effects of aflatoxin on inmunity. *J.Am. Vet. Med. Assoc.* 163:1268-1269.
53. Pier A.C. 1981. Mycotoxins and animal heath. *Ad. Vet. Sci. Comp. Med.* 25:186-240.
54. Phillips, T. D., B. A. Clement, and D. L. Park, 1994. Approaches to reduction of aflatoxins in foods and feeds. In: *The toxicology of aflatoxin formation. Human Health, Veterinary and Agricultural Significance.* Eaton, D. L. and Groopman, J. D. (Eds.). Academic Press. 383-398pp.
55. Price, R.L. and K.V. Jorgensen, 1985. Effects of processing on aflatoxin levels and on mutagenic potential of tortillas made from naturally contaminated corn. *J. Food. Sci.* 50: 347-349, 357.
56. Purchase, I. F. H., M. Steyn, R. Rinsma, and R. C. Tustin, 1972. Reduction in the aflatoxin M content of milk by processing. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 10: 383-387.
57. Quezada T.H., B.F., Cuellar., A.G. Jaramillo-Juarez., J.L. Valdivia and C. Reyes.1999. Effects of aflatoxin B₁ on the liver and Kidney of broiler chichens during development. Blount W.P. 1961. Turkey "X" disease. *Turkey* 9(2): 52,55-58,61,77.
58. Rayner, E. T., S. P. Koltun, And F. G. Dollear, 1977. Solvent extraction of aflatoxins from contaminated agricultural products. *J. Am. Oil Chem. Soc.,* 54: 242-244.

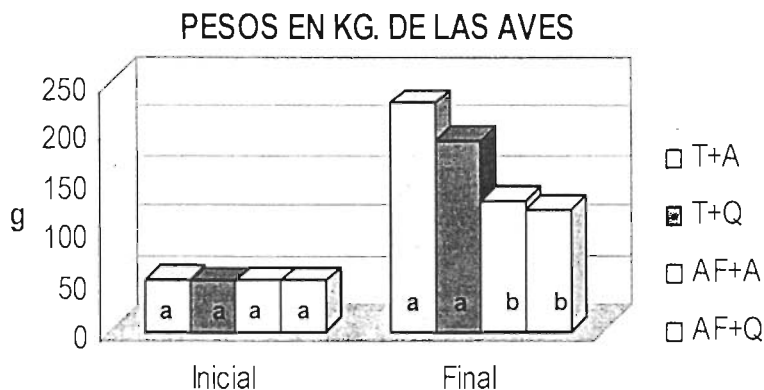
- 59.Reddy, D.N., P.V. Rao, V.R. Reddy and B. Yadgiri, 1984. Effect of selected levels of dietary aflatoxin on the performance of broiler chicken. *Indian. J. Anim. Sci.* 54:68-73.
- 60.Richardson, K.E. and P.B. Hamilton, 1987. Enhanced production of pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis in egg-type chickens. *Poultry. Sci.* 66: 640-644.
- 61.Roebuck, B. D. and Y. Y. Maxuitenko, 1994. Biochemical mechanisms and biological implications of the toxicity of aflatoxins as related to aflatoxin carcinogenesis. Chap 2, en: *The toxicology of aflatoxins*, D. L. Eaton y J. D.Groopman (Eds). Academic Press, San Diego. 27-43 pp.
- 62.Rosiles, R.M. 1987. Consideraciones sobre algunas micotoxinas. *Memorias del 1er. Curso de toxicología Veterinaria*, Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM.
- 63.Sargent, K., A. Sheidan, J.O. Kelly, and R.B.A. Carnaghan. 1961. Toxicity Associated with certain samples of ground nuts. *Nature* 192:1096-1097.
- 64.Sauer, D.B. and R. Burroughs. 1974. Efficacy of various chemicals as grain mould inhibitors. *Transaction American Society of Agriculture Eng.* 17: 557-559.
- 65.Shantha, T. 1987. Detoxification of groundnut seed and products in India. In: *Summary and Recommendations of the International Workshop on Aflatoxin Contamination of Groundnut*. ICRISAT Center, India. 16.
- 66.Sharby, F. 1977. Hongos y micotoxinas. *Progresos en Nutrición, Suplemento Dawe's* 297:1160-1164.
- 67.Smith, J.W. and P.B. Hamilton 1969. Aflatoxicosis in the broiler chicken. *Poultry. Sci.* 40: 207-215.
- 68.Stuart, K. And B.S. Nibbolink, 1987. Aflatoxicosis in food animals: a clinical review. *Iowa State University Vet.* 48:28-31.
- 69.Thaxton, J.P., H.T. Tung, and P.B. Hamilton, 1974. Inmunosupresión in chickens by aflatoxin. *Poultry. Sci.* 53: 721-725.
- 70.Torres, Ch. P., G. S. Yépis, I. G. Moreno, Y S. Bedolla, 1987. Nixtamalización como método de detoxificación para aflatoxinas. *Tecnol. Aliment.* 22(6): 13.

71. Torres, E. E., A. K. Askar, T. L. Naccha, O. R. Montoya, and S. P. Castrellon, 1995. Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey, Mexico. Food Addit. and Contam. 12(3): 383-386.
72. Townsend, C. A., S. B. Christensen, and K. Trauwein, 1984. Hexanoate as a starter unit in polyketide synthesis. J. Amer. Chem. Soc., 106: 3868-3869.
73. Tung, H.T., F. W. Cook, R.D. Wyatt, and P.B. Hamilton. 1975. The anemia caused by aflatoxin. Poultry Science 54:1962-1969.
74. Ubosi, C.O., W.B. Gross, P.B. Hamilton, M. Ehrich, And P.B. Siegel. 1985. Aflatoxin effects in White Lerhorn chickens selected for response to sheep erythrocyte antigen. 2 serological and organ characteristics. Poultry. Sci. 64: 1071-1076.
75. Valladares, J. C. 1996. Micotoxycosis, su impacto en la industria pecuaria. Nuestro Acontecer Avícola. 4(20): 14-18.
76. Valladares, J.C. 1986. Establecimiento de la técnica de inmunoperoxidasa para el estudio de la distribución pulmonar de esporas de *Aspergillus fumigatus*. Tesis de licenciatura. FES-Cuautitlán. UNAM. México.
77. Wicklow, D. T., B. W. Horn, O. L. Shotwell, C. W. Hesseltine, and R. W. Caldwell, 1988. Fungal interference with *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of maize grow in a controlled environment. Phytopathol., 78:68.
78. Wood, E. G. 1993. Micotoxinas. Porcicultura Mexicana. 26-29 pp.
79. [http:// MEDIC. MED. UTH. TMC.EDU](http://MEDIC.MED.UTH.TMC.EDU). University of Texas. Houston Medical School. 1995.

XIII. APENDICE

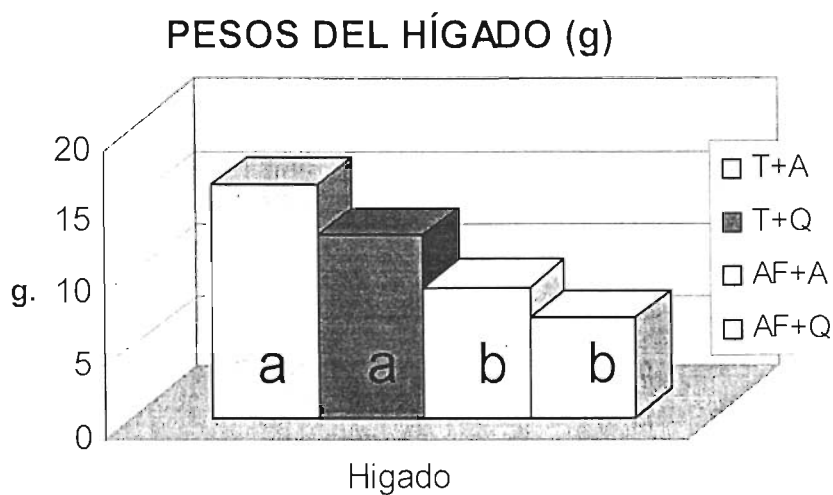
71. Torres, E. E., A. K. Askar, T. L. Naccha, O. R. Montoya, and S. P. Castrellon, 1995. Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey, Mexico. Food Addit. and Contam. 12(3): 383-386.
72. Townsend, C. A., S. B. Christensen, and K. Trauwein, 1984. Hexanoate as a starter unit in polyketide synthesis. J. Amer. Chem. Soc., 106: 3868-3869.
73. Tung, H.T., F. W. Cook, R.D. Wyatt, and P.B. Hamilton. 1975. The anemia caused by aflatoxin. Poultry Science 54:1962-1969.
74. Ubosi, C.O., W.B. Gross, P.B. Hamilton, M. Ehrich, And P.B. Siegel. 1985. Aflatoxin effects in White Lerhorn chickens selected for response to sheep erythrocyte antigen. 2 serological and organ characteristics. Poultry. Sci. 64: 1071-1076.
75. Valladares, J. C. 1996. Micotoxycosis, su impacto en la industria pecuaria. Nuestro Acontecer Avícola. 4(20): 14-18.
76. Valladares, J.C. 1986. Establecimiento de la técnica de inmunoperoxidasa para el estudio de la distribución pulmonar de esporas de *Aspergillus fumigatus*. Tesis de licenciatura. FES-Cuautitlán. UNAM. México.
77. Wicklow, D. T., B. W. Horn, O. L. Shotwell, C. W. Hesseltine, and R. W. Caldwell, 1988. Fungal interference with *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of maize grow in a controlled environment. Phytopathol., 78:68.
78. Wood, E. G. 1993. Micotoxinas. Porcicultura Mexicana. 26-29 pp.
79. [http:// MEDIC. MED. UTH. TMC.EDU](http://MEDIC.MED.UTH.TMC.EDU). University of Texas. Houston Medical School. 1995.

XIII. APENDICE



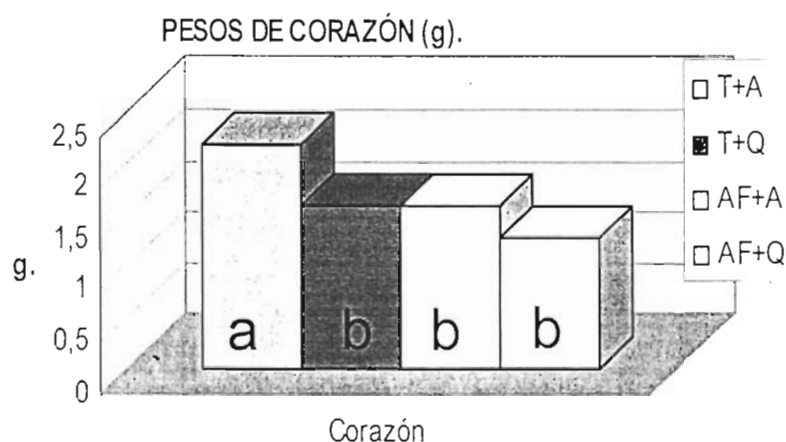
GRAFICA 1. PESO INICIAL Y FINAL

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).
 Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con ácido cítrico (T+Q), Alimento c/aflatoxina con agua (AF+A), Alimento c/aflatoxina con ácido cítrico (AF+Q).



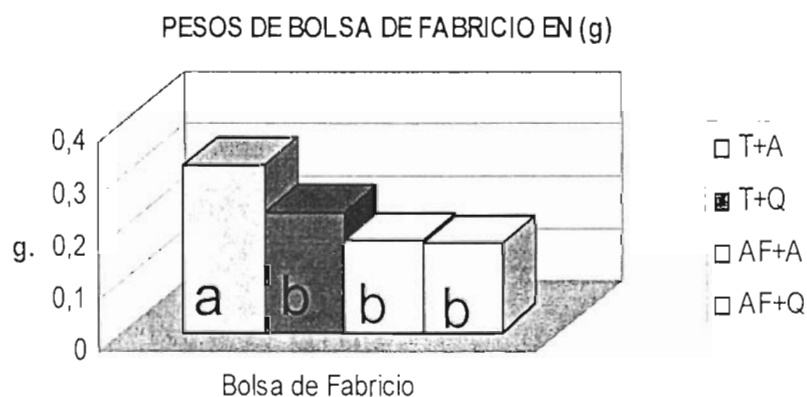
GRAFICA 2. PESOS DE LOS HIGADOS

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).
 Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con ácido cítrico (T+Q), Alimento c/aflatoxina con agua (AF+A), Alimento c/aflatoxina con ácido cítrico (AF+Q).



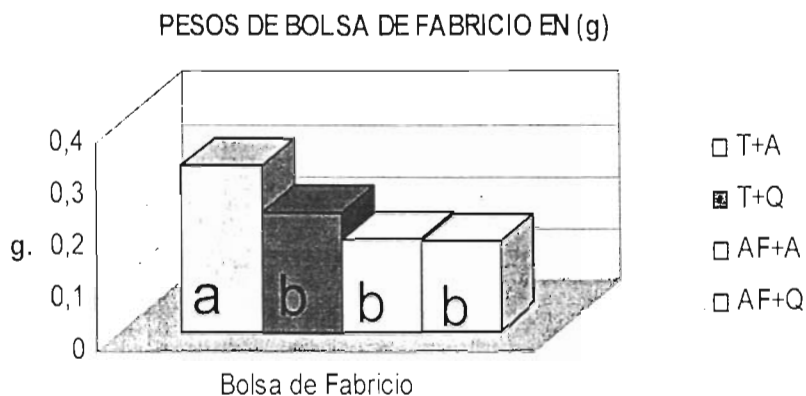
GRAFICA 3. PESOS DE LOS CORAZONES.

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).
 Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con ácido cítrico (T+Q),
 Alimento c/aflatoxina con agua (AF+A), Alimento c/aflatoxina con ácido cítrico (AF+Q).



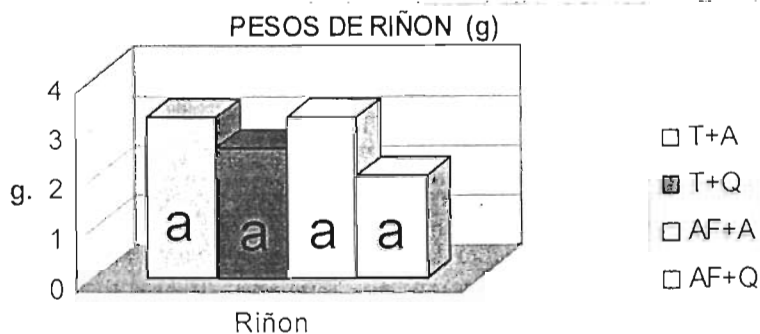
GRAFICA 4. PESOS DE LAS BOLSAS DE FABRICIO

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).
 Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con ácido cítrico (T+Q),
 Alimento c/aflatoxina con agua (AF+A), Alimento c/aflatoxina con ácido cítrico (AF+Q).



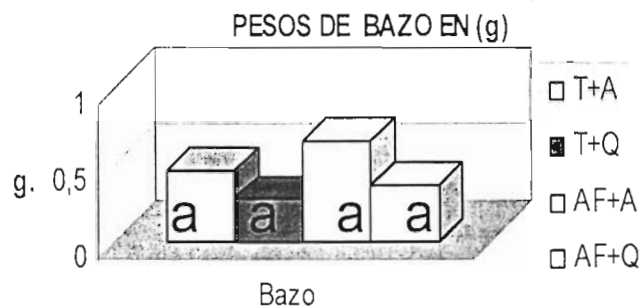
GRAFICA 2. PESOS DE LOS HIGADOS

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).
 Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con acido cítrico (T+Q),
 Alimento c/aflatoxina con agua (AF+A), Alimento c/aflatoxina con acido cítrico (AF+Q).



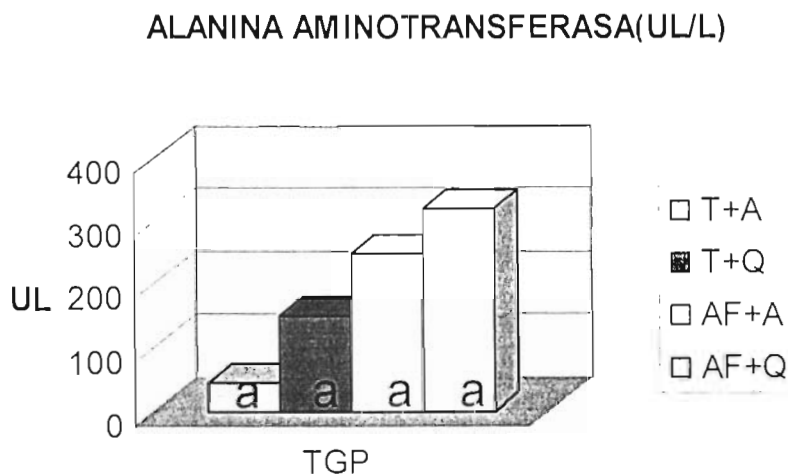
GRAFICA 5. PESOS DE LOS RIÑONES

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).
 Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con acido cítrico (T+Q),
 alimento c/aflatoxina con agua (F+A), Alimento c/aflatoxina con acido cítrico (AF+Q).



GRAFICA 6. PESOS DE LOS BAZOS

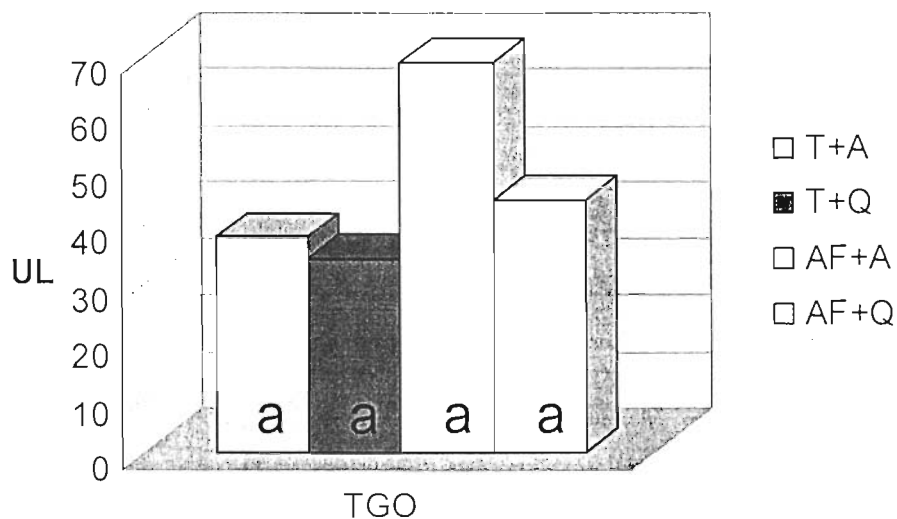
Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).
 Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con ácido cítrico (T+Q),
 Alimento c/aflatoxina con agua (AF+A), Alimento c/aflatoxina con ácido cítrico (AF+Q).



GRAFICA 7. CONCENTRACIONES ENZIMATICAS (TGP) EN UL.

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).
 Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con ácido cítrico (T+Q),
 Alimento c/aflatoxina con agua (AF+A), Alimento c/aflatoxina con ácido cítrico (AF+Q).

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (UL/L)



GRAFICA 8. CONCENTRACIONES ENZIMATICAS (TGO) EN UL.

Literales diferentes en cada columna indica diferencia estadísticas significativa ($p < 0.05$).

Alimento s/aflatoxina con agua (T+A), Alimento s/aflatoxina con ácido cítrico (T+Q),

Alimento c/aflatoxina con agua (AF+A), Alimento c/aflatoxina con ácido cítrico (AF+Q).