



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

USO DE UN HEPATOPROTECTOR Y *Echinacea angustifolia*
EN POLLOS SUPLEMENTADOS CON ALIMENTO CONTAMINADO
CON AFLATOXINA DE *Aspergillus flavus* LINK

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JUAN OMAR HERNANDEZ RAMIREZ

ASESOR: M.C. JUAN CARLOS DEL RIO GARCIA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2005

m346295



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

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:

Uso de un Hepatoprotector y Echinacea angustifolia en pollos suplementados
con alimento contaminado con aflatoxinas de Aspergillus flavus Link'

que presenta el pasante: Juan Omar Hernández Ramírez
con número de cuenta: 9229311-1 para obtener el título de :
Medico Veterinario Zootecnista

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 16 de Mayo de 2005

PRESIDENTE	<u>Dr. Ariel Ortiz Muniz</u>	
VOCAL	<u>M.C. Juan Carlos del Río García</u>	
SECRETARIO	<u>M.C. Juan Sebastian Barrientos Padilla</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>MVZ. Sergio Waldo Tello</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MVZ. Ma. de Lourdes Jara Ramírez</u>	

AGRADECIMIENTOS

Gracias por permitir que me desarrollara dentro de ti y de atesorar lo más preciado que se puede dar en esta vida además del amor.

Gracias por apoyarme en todo lo que he deseado y darme la oportunidad de continuar a pesar de mis errores.

Y Gracias por impulsarme a salir siempre adelante.

Gracias por darme el apoyo como hombre que es el que necesita cada hijo.

Gracias a ti he aprendido mucho, desde como colocar un clavo hasta como compórtame ante la vida, algunos podrán decir que me sobreproteges pero hoy después de mucho tiempo conozco el porque....

Siempre desde que tengo conciencia escolar has dicho “échale ganas”, hoy espero que con estas líneas sepas que como antes, hoy y siempre ten por seguro que lo haré.

A lo largo de mi vida junto a ti te he dado felicidad y esta no es la última tenlo por seguro.

A pesar de nuestra diferencia de edad creo que en algún punto de la forma en que vemos la vida somos algo parecidos.

Compartimos algunos gustos como lo es nuestro deporte, el cine (bueno el no tan raro), y muchos más, pero compartimos algo mejor unos padres que muchos desearían, una familia unida y algo único que es solo nuestro... la genética y por supuesto la hermandad.

Por soportar mis desvelos, problemas y de ser así tan Letras Gracias.

Dicen que detrás de un gran hombre existe una mujer más grande aun y creo que es cierto porque yo tengo una que me ha acompañado desde 0 hasta mas de 100 que se ha preocupado y me ha procurado, ella me ha acompañado en mi vida académica universitaria, es una mujer que es fácil de distinguir por como se desenvuelve profesionalmente. Por ser mí apoyo moral, logístico, y más que espiritual HEOCRA y Gracias.

Me hubiera gustado que el estuviera aquí y me viera convertido en un profesionista pero quizás tengo la esperanza que si existe esa vida allá pueda hacerlo y se sienta feliz.

Te doy gracias por estar conmigo y mimarme desde que era un niño hasta el día de hoy, por consentirme y tratarme como un hijo más. Por eso y miles de cosas mas Gracias.

Amigo es una palabra que es difícil de decir de verdad y encontrarlo no es fácil.

Hay quien dice que los verdaderos amigos, en las buenas y en las malas, que los cuentas con los dedos de las manos, y yo agregaría que es como tu.

Yo se que tengo a un amigo contemporáneo de mí, con una forma de pesar parecida, gustos parecidos y aunque es un poco terco lo entiendo.

Por ser mi compañero durante toda mi carrera universitaria, por prestarme tu ayuda incondicional y ser mí amigo, Gracias.

Es un hecho que como profesor le diste el último empujón a lo que quería ser a futuro, te conocí mas a fondo, como profesionista, como persona y te convertiste en un icono de mi vida.

Hasta el día de hoy has sido muy tolerante y extremadamente paciente, alguien me dijo que tenía un poco de ti y no mintió.

Por ser una gran persona y mi amigo. Gracias

Gracias a todas las personas que han convivido conmigo durante el tiempo que nos conocimos y que de alguna forma contribuyeron a mi formación.

Gracias a mi familia amigos y compañeros.

ÍNDICE

		Pagina
1	Resumen	1
2	Introducción	2
2.1	Características generales que deben conservar los granos	4
2.2	Hongos	4
2.3	Características para que los hongos con capacidad toxigénica se desarrollen y produzcan micotoxinas	6
2.3.1	Factores físicos	6
2.3.2	Factores químicos	10
2.3.3	Factores biológicos	11
2.3.4	Clasificación taxonomica de <i>Aspergillus</i>	11
2.4	Características morfológicas generales del genero <i>aspergillus</i>	12
2.5	Características del crecimiento de <i>Aspegillus in vitro.</i>	13
2.6	Aspergilosis	14
2.7	Micotoxinas	15
2.7.1	Historia de las micotoxinas	15
2.7.2	Que son las micotoxinas?	16
2.8	Principales toxinas y consecuencias	17
2.8.1	Aflatoxinas	17
2.8.1.1	Biosintes de aflatoxina	17
2.9	Ocratoxina	21
2.10	Deoxinivarenol	21
2.11	Toxina t2	22
2.12	Zeralenona	22
2.13	Fumonisina	23
2.14	Interacciones micotoxinas-nutrientes en la digestión	25
2.14.1	Interacciones micotoxinas-lípidos	25
2.14.2	Interacciones micotoxinas-proteínas	25
2.14.3	Interacciones micotoxinas-carbohidratos	26
2.14.4	Interacciones micotoxinas-minerales	26
2.15.	Aflatoxicosis aviar	26
2.16	Efectos biológicos de las aflatoxinas	27
2.17	Dosis para presentación de enfermedad	28
2.18	Signos clinicos	29
2.19	Morfopatología	29
2.20	Hematología y química sanguínea	30
2.21	Diagnostico de aflatoxinas	31
2.22	Prevención	31
2.23	Hepatoprotectores	32
2.24	<i>Echinacea angustifolia</i>	34
2.24.1	Historia de <i>Echiancea</i>	34
2.24.2	Principales componentes de <i>Echinacea sp.</i>	35

	2.24.3	Propiedades medicinales de <i>Equinacea sp.</i>	35
	2.24.4	Dosis recomendada	36
	2.24.5	Mecanismo de acción	36
3		Justificación	38
4		Hipótesis	38
5		Objetivo	38
6		Material y métodos	39
7		Diseño experimental	39
8		Resultados y discusión	41
	8.1	Evaluación de peso	41
	8.1.1	Inicio del experimento	41
	8.1.2	Primera semana	41
	8.1.3	Segunda semana	41
	8.1.4	Tercera semana	42
	8.1.5.	Cuarta semana	42
	8.1.6	Quinta semana	43
	8.2	Evaluación del consumo de alimento	43
	8.2.1	Primera semana del experimento	43
	8.2.2	Segunda semana	44
	8.2.3	Tercera semana	45
	8.2.4	Cuarta semana	45
	8.2.5	Quinta semana	46
	8.3	Hematocrito	46
	8.4	Inhibición de la Hemoaglutinación	47
	8.5	Diagnostico de lesiones histopatológicas (morfopatología)	47
9		Conclusiones	48
10		Imágenes, graficas, tablas.	49
	10.1	Imágenes	49
	10.2	Graficas	54
	10.3	Tablas	60
11		Referencia Bibliografica	67

**USO DE UN HEPATOPROTECTOR Y *Echinacea angustifolia* EN POLLOS
SUPLEMENTADOS CON ALIMENTO CONTAMINADO CON AFLATOXINA
DE *Aspergillus flavus* LINK**

1.- RESUMEN

Se evaluó el impacto de la aflatoxina, un hepatoprotector y *Echinacea angustifolia* sobre los parámetros productivos en aves estirpe Plymouth Rock y Rhod Island (aves de doble propósito) alimentadas con Aflatoxina B₁/B₂ de *Aspergillus flavus* Link. Las aves se mantuvieron durante un ciclo de 36 días, suplementados con alimento concentrado para iniciación contaminado con Aflatoxina B₁/B₂, desafiado con vacuna Virus Newcastle VM cepa La Sota. Se asignaron al azar 5 grupos experimentales siendo estos: **I:** Aflatoxina 300 µg/Kg, **II:** Aflatoxina 300 µg/Kg – Hepatoprotector, **III:** Hepatoprotector, **IV:** *Echinacea angustifolia*- Aflatoxina 300 µg/Kg, **V:** Control. Se realizaron pruebas de laboratorio como son necropsias, hematocrito, determinación de títulos de anticuerpos con la técnica de inhibición de la hemoaglutinación. La ganancia diaria de peso de los grupos V y III son los que alcanzaron el mejor peso final (130.38 g. y 121.83 g. resp.) los que mostraron pesos medios son los grupos I, IV (96 g., y 96.17g.) y el menor pesos para el grupo II (88.42 g.) y se encontró diferencia significativa entre los grupos que contienen aflatoxina junto con los grupos que carecen de esta (P<0.05). Sin embargo entre los grupos I, IV y II no hubo diferencia estadística (P>0.05). Respecto al hematocrito el menor porcentaje lo presentó el tratamiento IV y los que mostraron un mejor porcentaje promedio (26% y 28%) fueron en V, todos los grupos bajo modelos estadísticos no mostraron diferencia significativa. Los títulos de anticuerpos contra Newcastle resultaron ser más altos en el grupo V. Las alteraciones morfológicas más evidentes las presentaron las aves del tratamiento de I, II y IV observándose hepatosis grasa, depresión linfoide, pero sin relevancia a lesiones de AFB. El estrés metabólico producido en presencia de aflatoxina provoca baja del consumo de alimento. A dosis de 300 µg/Kg no disminuye el hematocrito promedio. La respuesta a la inmunización fue favorable por uso de *Echinacea angustifolia* pero este fue de los mayores pesos. A pesar de presentar lesiones hepáticas sin relevancia estadística si hubo diferencias morfológicas con los grupos AFB. La conversión alimenticia no es la adecuada para grupos AFB.

2.- INTRODUCCIÓN

Las actividades pecuarias mantienen una gran importancia en el contexto socioeconómico del país, al igual que el resto del sector primario, han servido de base al desarrollo de la industria nacional ya que proporcionan alimentos y materias primas, divisas, empleo, distribuyen ingresos en el sector rural y utilizan recursos naturales que no tienen cualidades adecuadas para la agricultura u otra actividad productiva. La ganadería, y en específico la producción de carne, es la actividad productiva más diseminada en el medio rural, pues se realiza sin excepción en todas las regiones ecológicas del país y aún en condiciones adversas de clima que no permiten la práctica de otras actividades productivas. La producción de carne en México se sustenta en diferentes ramas de la ganadería, dentro de las cuales sobresalen la bovina, la porcina y la avícola, que en conjunto aportan el 98% de la producción doméstica de productos cárnicos, el resto de las actividades destinadas a la producción de carne como son la producción ovina, caprina, la de conejos y la de pavos entre otros, mantienen una posición restringida e influenciada por los hábitos de consumo de la población, establecidas por regiones en el territorio nacional y aunada a los precios fluctuantes de éstas, en el esquema I-1 se puede apreciar la distribución nacional de especies animales más representativas para el consumo humano.¹

En 1990 la carne de bovino era la más consumida del país, representando el 41% del consumo total, la carne de porcino y ave ocuparon el segundo lugar con el 28% cada una y la carne de ovino, caprino y pavo con el 2%. Para 1999 la carne de pollo ocupó el 41% del consumo, el bovino en segundo sitio con 33%, la carne de porcino en un tercer lugar con 28%, la carne de caprino, ovino y pavo con 2%, grafica G-1, G-2 en éstas 3 últimas se ven afectadas debido a la zona geográfica comercial en la que se ven involucradas, un ejemplo de ellos es el consumo de cabra en el norte del país donde este se ve favorecido por hábitos gastronómicos tradicionales y turísticos mientras que la misma en el sur, no se consume por características similares.¹

En la última década se ha visto un incremento en el consumo de carnes en el país y este se debe principalmente a dos elementos, el primero es sin duda uno de los más aparentes el aumento acelerado de la población en nuestro país, por lo tanto este demanda proteína de origen animal siendo el pollo el más beneficiado por su bajo costo, la siguiente grafica (G-3) muestra la producción de pollo en la última década.

En segundo término en el ámbito mexicano, se observaron cambios favorables para el país como fue un crecimiento del Producto Interno Bruto (PIB) del 4.6%, que rebasó por mucho las expectativas tanto gubernamentales como de grupos de consultores que la ubicaban en 3%; asimismo, la inflación fue menor a la estimada a principios del año 1999, siendo ésta de 12.3%.

Al igual que en otras ramas de la producción ganadera, el aumento de los volúmenes de producción avícola lleva al crecimiento de consumo de alimentos balanceados y por tanto, de granos forrajeros, pastas y/o granos oleaginosas, los que conforman parte fundamental de las dietas aplicadas para obtener los mayores niveles de productividad, aprovechando para ello el potencial productivo que la mejora genética confiere a las aves de engorda.

Se estima que durante 1999 la engorda de pollo, así como el mantenimiento del pie de cría requirió de 3.5 millones de toneladas de granos forrajeros lo que implicó un crecimiento del 5.8% en esta demanda. Al comparar esta expansión con respecto a la del volumen de la producción, se determina que es menor, lo cual es el resultado directo de un incremento en la productividad de las aves, el cual se traduce en una menor cantidad de granos y en términos generales de alimento balanceado, para obtener un kilogramo de carne.¹

Los granos en el alimento como se mencionó anteriormente son imprescindibles para la elaboración de concentrados proteicos balanceados, debido a que son productos perecederos es importante tener en cuenta las condiciones que mantienen estos durante su cosecha, transporte y almacenamiento ya que deben conservar características organolépticas y nutritivas para así tener un mejor rendimiento de los alimentos.^{2,3}

2.1.- Características generales que deben conservar los granos:

Bajo las mismas condiciones de almacenamiento, los granos pueden tener calidades diferentes dependiendo del tipo de grano que se coseche. La calidad inicial de los granos depende de los siguientes factores como son:

- Condiciones climáticas durante el período de maduración de la semilla
- Grado de maduración en el momento de la cosecha
- Daños mecánicos
- Impurezas
- Humedad
- Temperatura
- Insectos
- Roedores
- Microorganismos

2.2.- Hongos

El estudio de los hongos le corresponde a la micología ya que es la rama de la medicina encargada del estudio de hongos (mohos y levaduras)⁴, los hongos son cosmopolitas y pueden encontrarse en todo tipo de alimentos, ingredientes alimenticios, casas, almacenes, pisos, silos, graneros entre muchos otros; se han clasificado muchos géneros benéficos para el hombre pues se emplean en procesos industriales como la producción de ácido cítrico, la fabricación de quesos entre otros, en el área de la salud se han utilizado para la producción de antibióticos como la penicilina, el cloranfenicol, la estreptomicina y la anfotericina B⁵.

Hongos de campo (T-1). Así son llamadas las especies que contaminan los granos antes de la cosecha, durante su desarrollo en la planta. Estos hongos necesitan para su desarrollo un alto contenido de humedad; las esporas de estos hongos pueden sobrevivir durante mucho tiempo en los granos húmedos; sin embargo, no germinan cuando el contenido de humedad está en equilibrio con humedades relativas inferiores al 75 por ciento.

Hongos del almacenamiento (T-1). Estos hongos se desarrollan después de la cosecha, los hongos que proliferan con mayor frecuencia en los granos almacenados son algunas especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Alternaria*. Las principales pérdidas ocasionadas por hongos en granos y cereales se deben a la disminución del poder germinativo, a los cambios bioquímicos, a la pérdida de materia seca, en los silos y bodegas.

Los daños causados por los hongos del almacenamiento son mayores que los producidos por los hongos de campo⁶, además de que pueden contaminar a las semillas con metabolitos secundarios. Es importante resaltar que en la mayoría de los ataques masivos hacia los granos prevalecen en gran porcentaje los hongos es por ello que se tratará de abarcar más acerca de los mismos además que son de los microorganismos más difundidos mundialmente⁷.

A la fecha es posible hacer una buena división de los diferentes reinos y las subdivisiones de estos, en el caso particular de los hongos estructuras fúngicas macroscópicas y microscópicas, la estructura microscópica se caracterizan por tener núcleo verdadero, carecer de pigmentos fotosintéticos como lo es la clorofila, motivo por el cual no se les considera dentro del reino vegetal, sin esta son incapaces de producir materia orgánica utilizando la luz solar por lo que necesitan para su desarrollo de un sustrato, esto en gran parte condiciona los lugares de crecimiento de los mismos.⁶

En pocas ocasiones la pared está constituida enteramente de quitina. Esta pared celular semeja un extenso sistema tubular por el que avanza protegido el citoplasma para su dispersión y búsqueda de nutrientes.

Los elementos somáticos tubulares que constituyen el micelio reciben el nombre de hifas. Las hifas pueden estar separadas en secciones, generalmente multinucleadas, por medio de septos o bien carecer de ellos, los hongos asexuales (anamorfos) generan varias clases de conidias por mitosis del núcleo celular (mitosporas).

Se les clasifica en base al micelio pero existen muchas similitudes entre ellas por lo que el micelio somático no es suficientemente para utilizarlo en la clasificación. El color de muchos mohos que viven en la materia orgánica en descomposición se debe al color de sus conidias. Estas presentan varias tonalidades de color blanco, amarillo, azul, verde, rojo, pardo o negro.

Los mohos generan varias clases de conidioas, mono o pluricelulares. Las conidias se desarrollan en los esporóforos, estructuras especializadas que se diseminan en el aire

a partir del micelio vegetativo, y las conidias se acumulan en el extremo superior de los mismos. Si las conidias están encerradas en algo conocido como orangio se les llama esporangiosporas. Los conidios son externas o sea no están encerradas. Algo característico de estas es que al madurar, estas esporas son esparcidas por el viento.

Muchos mohos pueden reproducirse también a través de esporas sexuales, generadas por meiosis, o división reductora, de un núcleo diploide (meiosporas). Los mohos a los que no se les conoce ciclo sexual, se consideran hongos mitosporicos.

Los mohos con estructuras reproductoras sexuales (teleomorfos) corresponden a tres grupos: ascomicetos, basidiomicetos y zigomicetos. Los ascomicetos producen sus esporas en ascas, que generalmente se forman dentro de un complejo cuerpo fructífero, el ascoma es de forma similar, los basidiomicetos desarrollan sus esporas sexuales externamente, en los basidios que se hallan en un combasidioma. Dentro de este grupo están comprendidos a los carbones y las royas, organismos de interés agronómico por ser parásitos vegetales. Los zigomicetos producen zigosporas a veces visibles al ojo. En condiciones naturales, los mohos se reproducen en la mayoría de los casos asexualmente, las estructuras reproductoras sexuales sólo aparecen ocasionalmente en circunstancias favorables.⁷

Los hongos y sus diferentes especies en base a la evolución, adaptación y a sus características propias se han logrado adaptar ya sea a los animales, a los vegetales y al hombre, dentro de las principales hongos que afecta a estos tenemos a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, y *Penicilium*.⁸

2.3.- Características para que los hongos con capacidad toxigénica se desarrollen y produzcan micotoxinas

2.3.1.- Factores Físicos

a) Humedad y Agua disponible (aw).

La cantidad de agua existente en el ambiente y en los sustratos es uno de los factores importantes para el desarrollo de los hongos y para la producción de micotoxinas. Sin embargo no sólo influye la cantidad de agua sino también la forma de presentación de la misma, así pues, el agua se encuentra en forma libre y en forma combinada.

El agua libre existe dentro y alrededor de los tejidos vegetales o de las células y puede ser eliminada sin interferir seriamente con los procesos vitales.

La forma combinada está presente en los tejidos vegetales y animales, formando parte integrante de las células que los componen y en unión con las proteínas y glucidos. Para la germinación de las esporas de hongos, es necesario que el agua se encuentre en forma libre.⁹

Existen dos grandes unidades relacionadas con la cantidad de agua:

- **Humedad relativa de equilibrio (HRE):** es la cantidad de humedad de la que disponen los microorganismos una vez alcanzado el equilibrio entre la humedad libre del producto y el vapor de agua existente en el medio ambiente que lo rodea. La HRE se expresa en porcentaje y varía de unos alimentos a otros conformes a su riqueza en glucidos o en materia grasa.
- **Agua disponible (aw):** Es el grado de interacción del agua con los demás constituyentes.¹⁰ La aw nos indica cual es la cantidad de agua disponible para el desarrollo de los microorganismos una vez se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema alimento/medio ambiente.

El aw se expresa como la relación existente entre la tensión del vapor de agua en el sustrato (P) y la del agua pura (P0) a la misma temperatura, ($aw = P/P0$). Si la humedad del alimento está en equilibrio con la humedad relativa de equilibrio (HRE) de la atmósfera que lo rodea, la aw en el alimento es numéricamente equivalente a esta, ($aw = HRE/100$).

Tengamos en cuenta que la HRE se refiere a la atmósfera en equilibrio con el producto y el aw se refiere al propio producto. El agua pura tiene una aw de 1 y está en equilibrio con una atmósfera de 100% de HRE. La aw de un alimento es siempre menor que 1.

Los valores de aw que los diversos grupos de hongos necesitan varían de acuerdo con el sustrato y la temperatura. Veamos ahora algunos valores de aw necesarios para el desarrollo de algunos hongos y para la producción de micotoxinas, la mayoría de los hongos que contaminan cereales necesita valores por encima de los 0.7 aw.

La influencia del factor aw en el metabolismo de las micotoxinas solo está suficientemente estudiado para las aflatoxinas, ocratoxinas, ácido penicílico y patulina.

Sin embargo la producción de micotoxinas es nula o muy baja con aw inferior a 0,85 y no obstante el crecimiento de mohos toxicogénicos ya se puede producir en un intervalo de aw de 0,70-0,85.

Aunque el valor porcentual de humedad libre de un alimento solo nos da una orientación para juzgar las posibilidades de crecimiento y multiplicación de los hongos. Diremos que valores de humedad inferiores al 13% suelen presentar un crecimiento y proliferación fúngica bajos y a medida que la humedad aumenta, el crecimiento y proliferación fúngicas se aceleran, pudiendo ser de forma exagerada para valores de humedad del 16%.⁹

b) Temperatura

La temperatura óptima para el desarrollo de los hongos se encuentra entre 25 y 30°C y el límite máximo entre 40 y 45°C. Destacamos que la mayor parte de los hongos no crecen por debajo de 5°C y que sin embargo hay hongos como el *Aspergillus flavus*, *Aspergillus candidus* y *Aspergillus fumigatus* que pueden crecer sin problemas hasta los 55°C y otros como el *Penicillium expansum* y el *Penicillium cyclopium* que son capaces de crecer a 0° C, en la tabla T-4, T-5, T-6, muestra ejemplos de Temperatura y humedad para algunos hongos.

Vemos pues que, en cierto modo, existe en algunos casos una proximidad entre la temperatura mínima necesaria para el crecimiento del moho y la que se precisa para la producción de la micotoxina y en general también sucede con la temperatura óptima. Sin embargo hay algunas excepciones, así pues, *Aspergillus flavus* crece en el arroz entre 6-45°C con un óptimo a 37°C y la producción de aflatoxina se efectúa entre 11 y 36°C con un máximo de producción de 30°C.

Así pues y tal como anteriormente ya indicamos, la HRE varía de semilla a semilla, conforme ésta sea amilácea o bien oleaginosa. Veamos con esto cual es la relación entre la humedad de varios cereales y semillas y las diferentes HR (humedad relativa) dentro de un mismo intervalo de temperatura.

Dentro de este intervalo de temperatura, los granos de cereales (maíz, trigo y sorgo) mantenidos en estado de equilibrio a un nivel de humedad de 13% o menos (lo que correspondería a una humedad relativa de equilibrio del 65%), se pueden almacenar con seguridad durante un tiempo indefinido. Lo mismo no se puede decir para la soja integral en estas mismas condiciones y mucho menos para el girasol integral (semilla de

girasol), donde un 13% de humedad en estado de equilibrio correspondería a una HRE de casi 85%.

Cualquier semilla almacenada en estado de equilibrio con una HR por debajo de 65%, ésta muy segura de no ser invadida por hongos propios.

Cereales como el trigo, maíz y sorgo con niveles de humedad de 13,5-14% serán invadidos por hongos tales como *Aspergillus restrictus* y *Aspergillus halophilicus*. Si la humedad fuera de 15% o más, la invasión fungica más común sería por *Aspergillus glaucus*.

Los valores de humedad necesarios para la metabolización de la micotoxina aflatoxina B1 por el *Aspergillus flavus* cambian según el tipo de alimento. El trigo, maíz y sorgo necesitan un 18% de humedad. La soja necesita un 17-18% y el cacahuate necesita solo un 9-10% de humedad. En base a lo anterior se tendrá que tomar en cuenta que el almacenamiento de un cereal o de una semilla oleaginosa no puede ser efectuado con el mismo valor de humedad, para preservar el desarrollo fúngico y una posible producción de micotoxinas.⁹

c) Zonas de Microflora

En un silo pueden existir pequeñas zonas con alto contenido en humedad, susceptibles de desencadenar un desarrollo fúngico, lo cual puede después provocar un aumento general de humedad en el sustrato y consecuentemente una mayor contaminación fúngica y predisposición para la producción de micotoxinas.⁹

d) Integridad física de los granos

Los tegumentos intactos del grano dificultan el acceso del hongo al almidón endospermico. Los granos partidos son más susceptibles de invasión y desarrollo fúngico, que los granos enteros. Esencialmente esto es debido a un aumento de la superficie de cultivo y una mayor predisposición para que el hongo contacte con la parte interna del grano, la cual es más vulnerable que la cutícula o parte externa.⁹

2.3.2.- Factores Químicos

a) pH.

Los hongos toleran un gran intervalo de pH (2,5 - 7,5), de un modo general soportan mejor el medio ácido que el alcalino. Debemos destacar que ellos mismos son capaces de alterar el pH, utilizando como fuente de energía los ácidos orgánicos del alimento o los excretados por bacterias acidificantes que pueden aparecer durante el periodo de deterioro del alimento.

b) Composición del sustrato.

Los hongos no son exigentes desde el punto de vista nutricional y ellos se nutren de los macro y micro elementos existentes en el sustrato donde se desarrollan. Sin embargo la composición del sustrato está muy ligada a la producción de la micotoxina.

Están descritos estudios en cereales y semillas de oleaginosas previamente esterilizadas en autoclave e inoculadas con estirpes toxicogénicas de *Aspergillus parasiticus*, el crecimiento de este en la soja fue excelente y la baja producción de aflatoxina fue solo debida a la composición del sustrato.⁹

c) Nutrientes minerales

Están relacionados con la composición del sustrato y a pesar de que el hierro y el zinc son los elementos más importantes para un desarrollo fúngico, tanto estos como otros pueden ser necesarios para la producción de micotoxinas.

En un estudio se encontró que las concentraciones óptimas de ciertos minerales para la producción de ocratoxina A por el *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 fueron de: 0,055-2,2 mg/l de zinc., 0,004-0,04 mg/l de cobre., 1,2-2,4 mg/l de hierro (los valores de las concentraciones se refieren por litro de caldo de cultivo utilizado).

Cuando disminuyeron las concentraciones de zinc y cobre la producción de ocratoxina A fue casi nula. La falta de algunos de esos elementos da como resultado un pobre crecimiento fúngico y la no producción de ocratoxina A.

En el caso de aflatoxina, son necesarios sustratos ricos en zinc y ciertos aminoácidos para que el *Aspergillus flavus* metabolice la aflatoxina.⁹

d) Potencial de oxi-reducción (O₂/CO₂).

La mayor parte de los hongos son aerobios y por lo tanto necesitan oxígeno para el desarrollo de sus reacciones metabólicas. Una carencia de oxígeno condiciona el crecimiento de los hongos y la ausencia total puede llegar a producir la muerte de éstos.

El anhídrido carbónico puede inhibir la formación de algunas micotoxinas, como las aflatoxinas. Una atmósfera con 20 a 40% de CO₂ en combinación con una temperatura reducida (17° C) o bien una humedad relativa reducida o ambos factores, previenen la producción de aflatoxina en cacahuates.⁹

2.3.3.- Factores Biológicos

a) Presencia de invertebrados

La presencia de insectos actúa como agente de diseminación de la microflora y por lo tanto contribuye al crecimiento y multiplicación de los hongos. El propio metabolismo del insecto eleva el contenido de humedad del sustrato y además la ruptura del pericarpio permite la infección del interior del grano.⁹

b) Estirpes específicas

En una misma especie fúngica, no todas las estirpes se comportan de la misma forma. En un estudio se encontró la estirpe NRRL 1957 de *Aspergillus flavus* Link no produce aflatoxina, sin embargo ella es producida por otras estirpes como: NRRL 3251, NRRL 3357, NRRL 3517 y NRRL 3353.^{11 12 13 14}

Dentro del principal contaminante fungal para los cereales se encuentra en un alto porcentaje el género *Aspergillus*:

2.3.4.- Clasificación taxonómica de *Aspergillus*^{15,16}

Reino: *Fungi*

Filo: *Ascomicota*

Orden: *Eutoriales*

Familia: *Trichocomaceae*

Genero: *Aspergillus*

Especie: *flavus*

Se conocen unas 900 especies de *Aspergillus*, que Rapper y Fennell clasifican en 18 grupos dentro de estos las más comunes son:

- Aspergillus fumigatus* (85%),
 - A. flavus* (5-10%),
 - A. niger* (2-3%),
 - A. terreus* (2-3%),
 - A. Orizae*,
 - A. versicolor*,
 - A. nidulans*,
 - A. glaucus*,
 - A. clavatus*,
 - A. cervinus*,
 - A. candidus*,
 - A. flavipes*
 - A. ustus*.
- (4-6%)

Los mohos del género *Aspergillus* causan el deterioro de muchos productos alimenticios. Los productos metabólicos de la invasión fúngica suelen ser muy tóxicos, tanto para el hombre como para otros animales. También producen la inhibición de la germinación del grano junto con cambios de color, calentamiento, apelmazado y finalmente podredumbre de las semillas. Algunas especies, por ejemplo *A. niger* o *A. oryzae*, son de interés industrial o se emplean en la fermentación de alimentos en ciertas regiones.^{15, 16}

2.4.- Características morfológicas generales de *Aspergillus* (I-2).

El color es una de las principales característica macroscópica para la identificación de los grupos de *Aspergillus*. Poseen distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Las cabezas conidiales es un punto importante para su identificación (I-3) presentan bajo el microscopio cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme y a simple vista las más grandes suelen parecer

diminutos alfileres sobre el sustrato. En los *Aspergillus*, las conidias constituyen cadenas que se originan en la célula llamada fiálide. En algunos *Aspergillus* hay células adyacentes a las fiálides denominadas métulas o células de soporte. Los *Aspergillus* poseen una o dos series de células sobre la vesícula, o bien presentan simultáneamente cabezas de ambos tipos.

Las características macroscópicas y microscópicas, tales como el color de los conidios, la forma de la cabeza, la superficie y dimensiones del conidióforo, la forma y textura de las esporas, han permitido agrupar los *Aspergillus* en secciones o grupos cuadro (T-2).¹⁵

2.5.- Características del crecimiento de *Aspergillus in vitro*.

La mayoría de las especies crecen sobre Czapek-Levadura salvo algunos además se adiciona 20% Sacarosa. La temperatura de incubación es de 25° y 37 C °, aunque la mayoría de los *Aspergillus* se equilibra en 27° C. La ornamentación de los conidios cambia con la edad y en unas dos semanas las esporas están totalmente maduras.

Para el aislamiento se usan medios selectivos con inhibidores del crecimiento bacteriano, así mismo para inhibir la implantación de algunos mohos dando oportunidad a todas las esporas de originar una colonia aunque restringida, si solamente interesa determinar la presencia de *A. flavus* y *A. parasiticus* se suele sembrar sobre el medio malta sal agar que es selectivo para dichas especies.

Con el fin de comprobar que los medios utilizados son adecuados para observar la velocidad de crecimiento y las características macro y microscópicas, es conveniente sembrar cepas obtenidas de una colección de referencia. La degeneración de las cepas pleomorfas es un problema de muchos hongos, los cuales sufren cambios morfológicos a colonias algodonosas, reducción de la esporación y modificaciones de los conidióforos, asociado a la pérdida de la capacidad de producir toxinas.¹⁶

2.6.- Aspergilosis

La aspergilosis, provocada esencialmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus nidulans*, es esencialmente una micosis respiratoria en especies domesticas, principalmente en aves la cual se caracteriza por una infección de la parte superior del tracto respiratorio y con complicaciones en parénquima pulmonar donde el hongo se adapta e invade el órgano.

Existe también la aspergilosis conjuntival de manera ocasional afecta los órganos viscerales y el sistema nervioso central.

La una de las vías de infección es respiratoria, esta tiene su fuente principal de contaminación del suelo, esencialmente en granjas donde el piso o cama es de tierra.

La infección por vía digestiva es de gran importancia ya que se puede originar por la ingestión de alimentos contaminados, donde los granos son los un importante sitio de implantación de hongos contaminantes, además de que puede ser continuación de la vía respiratoria dada por la inhalación de esporas procedentes de los piensos contaminados o esporas levantadas por el viento.¹⁷

Además es importante resaltar que la mayoría de los *Aspergillus* son oportunistas, varias especies de estos son capaces de producir metabolitos secundarios con carácter tóxico llamados **Micotoxinas** ^{6, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49}

2.7.- Micotoxinas

2.7.1.- Historia de las micotoxinas

El conocimiento de la existencia de las enfermedades en el hombre y en los animales, asociadas al crecimiento de hongos en los alimentos, data de siglos atrás. Tal es el caso del ergotismo enfermedad asociada al consumo de alimentos contaminados con el cornezuelo del centeno, llamado por los Asirios “pústula nociva en la espiga del centeno” provocaba que la embarazada abortara y muriera en el lecho del parto.

En la Edad Media aparecieron por primera vez descripciones de envenenamiento por el cornezuelo; se registraron epidemias cuyo síntoma característico era gangrena de pies, piernas, manos y brazos, se decía que las personas eran consumidos por el fuego sagrado y se ennegrecían como el carbón, por lo que la enfermedad se denominó Fuego Sagrado o Fuego de San Antonio, en honor al beato en cuyo santuario se buscaba la curación. Es probable que el alivio encontrado al viajar al santuario fuera real, pues los peregrinos no consumían centeno contaminado durante el viaje. En 1815 fue posible determinar la naturaleza fúngica del parásito del cornezuelo del centeno y en 1875 se identificaron los componentes tóxicos del hongo *Claviceps purpurea*, como responsables del ergotismo.

En 1934 en Illinois, Estados Unidos, murieron 5.000 caballos al consumir maíz mohoso. Para 1939 se aislaron dos toxinas del *Aspergillus fumigatus*, una hemolítica y otra pirógena.

En 1940 el distrito de Orenburg (URSS) se vio afectado por una epidemia de aleukia (leucopenia) tóxica alimentaria (ATA), enfermedad que disminuye los glóbulos blancos y disminuye la resistencia a las enfermedades se debió al consumo de mijo contaminado con tricotecenos, produjo numerosas muertes, llegando hasta el 10% de la población en algunas comarcas y se identificó como responsable a la toxina.

Fue hasta 1962 cuando una serie de circunstancias hizo cambiar la actitud adoptada frente a los mohos en los alimentos humanos y animales: la aparición de una enfermedad en los pavos en Inglaterra, que llevó a la muerte a 100.000 pavitos denominada la enfermedad X (Turkey X disease).^{6, 17, 22, 50, 51, 52, 53, 54}. La investigación permitió concluir que la causa de la muerte de las aves era una sustancia producida por el hongo *Aspergillus flavus*. Al poco tiempo hubo brotes similares que afectaron a otras aves de corral. El origen de la enfermedad se encontró en tortas de prensado de

cacahuete mezclado en el alimento, con rapidez sorprendente se detectó el hongo responsable, el *Aspergillus flavus* y también fueron aislados sus metabolitos tóxicos, las aflatoxinas (acrónimo de *Aspergillus flavus toxin*). A partir de 1961, con el aislamiento de las aflatoxinas producidas por el *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, se evidenció la importancia de los hongos saprofitos en el desarrollo de procesos patológicos en animales y la posible conexión con enfermedades humanas.

A raíz de las observaciones anteriores, tanto la medicina humana como la medicina veterinaria han dado cada vez más importancia a las micotoxinas, sobre todo después de saber que, incluso concentraciones muy pequeñas de éstas pueden comprometer no sólo la salud humana, sino también la salud de los animales, causando grandes pérdidas económicas. Por lo anterior se ha fomentado la búsqueda sistemática de las micotoxinas; como resultado de estos estudios llevados a cabo durante 30 años, hoy se conocen más de 500, sus preferencias por los diversos sustratos, su composición, su estructura química y las diferentes especies de hongos que las producen.⁶⁹

2.7.2.- ¿Que son las micotoxinas?

Micotoxina proviene de los raíz griega *Mico*=Hongo y *Toxina* = Veneno, siendo considerado como tal y tan conocido veneno de hongo, las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por ciertos hongos, y en pequeñísimas concentraciones pueden ser tóxicos a los animales que las ingieren.⁵⁵

Evidencias actuales que se tienen sobre la importancia de los diferentes hongos toxígenos que invaden a granos indican que los géneros más importantes son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* se ha encontrado que estos tres géneros comprendían el 58% de 943 cepas de hongos, a los que les probaron su toxicidad.²¹

La presencia de micotoxinas en los productos alimenticios, depende de cepas específicas de hongos y estas cepas están sujetas a la influencia de factores ambientales como la humedad y la temperatura. Por lo tanto, la contaminación micotóxica de los productos alimenticios puede variar según las condiciones geográficas, climáticas, métodos de producción, tipos de almacenamiento y también según el tipo de alimento. Algunos productos alimenticios son sustratos más aptos que otros para el crecimiento de los hongos y producción de toxinas. Dentro de las micotoxinas más importantes tenemos la aflatoxina, ocratoxina, desoxinivalenol, fumonisinas, patulina y zeralenona por mencionar algunas.⁵⁶

2.8.- Principales Toxinas Y Consecuencias

2.8.1.- Aflatoxinas (AFB)

Las aflatoxinas son las más tóxicas y las más estudiadas, son producidas por algunas cepas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Se han descrito hasta hoy 18 tipos distintos de aflatoxinas, las más comunes son las aflatoxinas B1, B2, G1, G2, y M1, M2. Se pueden encontrar en productos tales como la soja, el maíz, cacahuate y otros granos, frutos secos y semillas oleaginosas.

Pero las aflatoxinas también pueden llegar al consumo humano a través de productos animales; las vacas, al ingerir productos contaminados con aflatoxinas, algunos organismos metabolizan las aflatoxinas B1 y B2 a aflatoxinas M1 y M2 que se excretan en la leche.

En animales de granja, las aflatoxinas producen una disminución del crecimiento, disminuyen la eficiencia alimentaria, deprimen la respuesta inmunológica y eventualmente pueden llegar a causar la muerte. En definitiva, un descenso en la productividad.⁵⁷

2.8.2.- Biosíntesis de aflatoxina

Existen 2 series o tipos de Aflatoxina la B y la G difieren químicamente ya que esta última presenta un anillo 3-lactona, en cambio la serie B presenta un anillo ciclopentano, además las series G1 y B1 presentan una doble ligadura en el carbono 8-9 en lugar de una unión vinil-éter que es importante debido a su bajo un espectro de luz favoreciendo la fluorescencia, dado este efecto se hace factible su diagnóstico (I-4).

En el caso específico de *Aspergillus flavus* muy rara vez sintetiza G1, G2 (el mecanismo por el cual no lo hace todavía se encuentra bajo estudio).⁵⁸ También existen subproductos como el Q1, P1 y Aflatoxicol (Ro) estos pueden estar presentes ya sea en hígado y orina de muchos mamíferos incluyendo al hombre.⁵⁹

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 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 y se empiezan a producir las aflatoxinas, además de que 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.

Para que las aflatoxinas puedan causar daño es necesario que se dé el encuentro entre hospedero y huésped además de que se den los factores medio ambientales para que así que no se Interrumpa la triada de la salud y el fenómeno enfermedad se presente. Es necesario que el hospedero (ave) ingiera alimento contaminado con aflatoxinas las cuales tendrán ciertas concentraciones y el factor tiempo de en la presentación del agente es de suma importancia ya que a mayor tiempo mas concentración celular alcanza; posteriormente se tiene que llevar acabo dos puntos importantes para el organismo una vez que algún fármaco o toxina se encuentra dentro de mismo:

1.- Farmacocinética: la cual abarca desde la absorción, distribución y eliminación de un agente y que este a su vez tendrá que biotransformarse y excretarse.

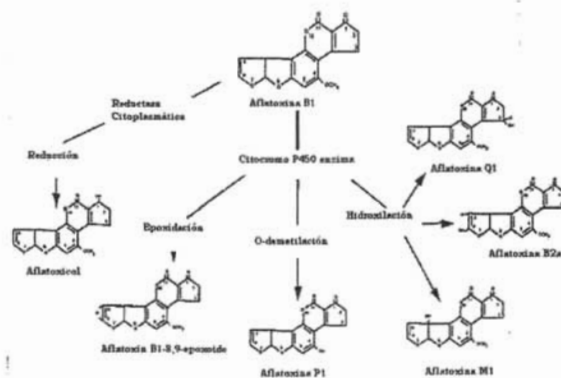
2.- Farmacodinamia: el agente en su paso por el organismo genera mecanismos de acción de un fármaco o toxina, incluyendo la acción y cambios bioquímicos a nivel celular así como el efecto y sus consecuencias marcados en los órganos blanco.⁶⁰

Existen tres vías de entrada al organismo en un segundo lugar de importancia esta el pulmón seguido por la piel, dado que las aflatoxinas son compuestos liposolubles y por esta característica es más fácil su absorción. Hay que tomar en cuenta dado que *Aspergillus* es un de los principales mohos contaminantes de las granos y estos son el principal sustento del sector pecuario es por hecho que la vía de entrada primaria al organismo sea vía digestiva, la absorción que sufre la aflatoxina en el lumen puede ser total o parcial y esto depende de la especie animal que se este involucrada aunque se sabe que a nivel intestinal la absorción se da por difusión pasiva y además dependiente de la composición lipídica que exista sobre el epitelio intestinal, posteriormente llega al torrente sanguíneo y de allí parte hacia los diferentes órganos blanco además de llegar a los depósitos de grasa, pero el mayor acumulo ocurre en los órganos involucrados con la biotransformación y eliminación de los desechos alimenticios como son por excelencia el hígado y el riñón.⁵⁷

Una vez que la aflatoxina se encuentra en torrente circulatorio se aloja principalmente en hígado y por medio de la enzima mitocondrial citocromo P450 así como la citocromo P488 la biotransforman en compuestos de índole hidrosoluble, por medio de una hidroxilación en M1, Q1, RO, y por medio de una O-demetilación en P1 todos estos submetabolitos tienen la característica menos tóxicos que AFB1.

Otra de las vías de transformación de la aflatoxina es por medio de una epoxidación de la toxina, el submetabolito resultante es un epóxido conocido como aflatoxina 8,9 epóxido, el cual tiene una alta afinidad al DNA celular y promueve la formación de un compuesto denominado aducto (complejo entre la molécula de DNA y un compuesto químico ajeno a la estructura polinucleotídica de la doble hélice, a través de un enlace covalente, causando distorsiones genéticas)⁶¹ que en las aflatoxinas será 8-9 dihidro-8-(N⁷-guanina)-9 hidroxí-AFB (AFB1-N⁷-Gua) el cual va a modificar la secuencia del DNA celular y dando origen a mutaciones y problemas carcinogénicos.

Un submetabolito más es el aflatoxicol este compuesto es 18 veces menos inofensivo que AFB1, no se origina a partir de enzimas microsomales ya que depende de enzimas del citoplasma celular, si este compuesto sufre una oxidación por medio de deshidrogenasas revirtiendo su estructura a AFB1, dado este proceso se considera como un reservorio de AFB1.⁶²



1-6 Síntesis de AFB

La presencia de aductos AFB1-albúmina en sangre, es indicativo de que la toxina fue metabolizada hasta epóxido, ya sea en el lumen del intestino, en la pared de este o en sangre y su presencia es usada como biomarcador de exposición a AFB1⁶³.

Desde el punto de vista bioquímico las aflatoxinas son consideradas como inhibidores biosintéticos y en el caso de la AFB1 se ha encontrado que su actividad biológica tiene varias fases en el huésped ⁶⁴:

- 1) interacción con el ADN e inhibición de las polimerasas responsables de la síntesis tanto de ADN como ARN;
- 2) Supresión de la síntesis del ADN;
- 3) Reducción de la síntesis del ARN e inhibición del ARN mensajero;
- 4) alteraciones en la morfología del nucleolo
- 5) reducción de la síntesis de proteínas

Bioquímicamente las aflatoxinas pueden alterar el metabolismo de carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, así como el metabolismo energético. Las aflatoxinas pueden ser consideradas como inhibidores biosintéticos tanto *in vitro* como *in vivo*. Altas dosis pueden provocar una inhibición total de los sistemas bioquímicos y dosis bajas pueden afectar diferentes sistemas metabólicos⁶⁵. El metabolismo de los carbohidratos también se ve afectado, inhibe la síntesis de glicógeno a través de la acción sobre las enzimas glicógeno sintetasa y transglicosilasa. Otro de los problemas que ocasionan las aflatoxinas es el de incrementar el nivel citosólico del NADPH necesario para la síntesis de ácidos grasos, por lo que se produce una acumulación de lípidos en el hígado⁶⁶.

Existe una unión de la aflatoxina al ADN dando origen a la formación de aductos de la siguiente manera:

- Intercalamiento de la toxina en la estructura helicoidal del ADN.⁶⁷
- Oxidación de los carbonos no saturados (C₈ y C₉) de la parte terminal furano de la molécula de AFB1 por el sistema microsomal de oxidasas de función mixta (organización compleja de enzimas de las células hepáticas NADPH dependientes, unidas al citocromo P-450) para formar un intermediario.²⁷
- El ataque del C₈ de AFB₁ sobre el N₇ de la guanina y la formación de una ligadura covalente en la interacción AFB₁- N₇- Guanina. El daño en la molécula de ADN por esta interacción se manifiesta de varias maneras; el aducto es

cortado de la molécula de ADN y se inducen errores en el mensaje o bien, el aducto no es cortado pero es convertido en AFB₁-formamidopirimidina que también es causante de errores en la transcripción. Como consecuencia en el daño del ADN se origina la mutagénesis y carcinogénesis y si se trata de un feto se presenta la teratogénesis⁶⁸. Para ser eliminadas las aflatoxinas de manera general una vez que se hidroxilan, epoxidan o se O-demetilán se conjugan con ácido glutatión para posteriormente ser eliminadas por bilis y desecharse por vía digestiva o poder llegar a sangre y posteriormente a riñón para así excretarse en orina. Respecto al efecto residual se tienen evidencias de que la AFM1 se elimine a través del huevo o leche.²⁷

2.9.- Ocratoxinas

Producidas por al menos 7 especies de *Aspergillus* y 6 especies de *Penicillium*, especialmente *A. Ochraceus* y *P. Viridicatum*. Los principales animales afectados son el cerdo y las aves. En cambio, no afecta a los rumiantes. Las ocratoxinas A y B, entre las 9 que se han descrito, son las más comunes y poseen una potente actividad nefrotóxica y carcinogénica. En experimentos realizados con ratas se ha mostrado que la ocratoxina A inhibe la cadena respiratoria. La ocratoxina A es frecuente encontrarla en productos derivados de animales que han consumido piensos afectados. Las más elevadas concentraciones de esta molécula se han encontrado en el riñón de cerdo y en carnes ahumadas. En algunos países se han propuesto límites de 1 a 50 ppb como máximos tolerables para la ocratoxina A, la tabla 3 muestra diferentes toxinas y su hongo productor.

2.10.- Deoxinivalenol

Se le conoce como (DON) o Vomitoxina, esta micotoxina es el representante más característico y común del grupo de los tricotecenos, son producidos por diversas especies de *Fusarium*, en especial *F. roseum* y *F. graminearum*. Normalmente se producen en el campo, durante la infección de diversos cereales como son el trigo, cebada, maíz, arroz, etc. Se ha demostrado que el DON tiene propiedades antibióticas, citotóxicas e inmunodepresoras: ocasiona unos intensos efectos tóxicos en animales de

granja que se traducen en inflamaciones epidérmicas, desórdenes digestivos, hemorragias, afecciones de la médula ósea y neuropatías. En el hombre y principalmente a raíz del consumo de trigo afectado o de cerveza elaborada con productos contaminados, el DON es el causante de la denominada Aleucia Tóxica Alimentaria, que se caracteriza por una marcada leucopenia. No hay que olvidar que, además, se han detectado moléculas de este tipo en la leche y los tejidos de animales que han consumido piensos contaminados. Un problema aún mayor es su posible presencia en preparados a base de cereales para el consumo infantil.

2.11.- Tóxina T-2

Es otro tricoteceno producido por especies de *Fusarium*, especialmente *F. tricinctum*. Esta micotoxina se puede hallar presente en instalaciones agrícolas tales como almacenes y silos contaminando granos, cereales, piensos, etc. La toxina T-2 y sus derivados hidroxilados y acetilados tienen efectos citotóxicos e inmunodepresores, por lo cual constituyen un riesgo para la salud humana. De todas formas, aunque en algunos piensos pueden encontrarse niveles de T-2 superiores a 500 ppb, con consecuencias muy graves sobre los animales y se ha demostrado que en la leche se acumula una concentración inferior al 1%, con lo cual esta micotoxina constituye básicamente un problema de salud animal.

2.12.- Zearalenona

Es excretada al medio por varios *Fusarium* (*F. roseum*, *F. tricinctum*, *F. moniliforme* y *F. solani*). Aunque esta molécula, denominada a veces fitohormona ya que posee efectos estrogénicos en mamíferos y representa un peligro. La mayor atención se ha centrado en los derivados que se producen a partir de su metabolización en animales de granja: éstos transforman la zearalenona en α y β -zearalenol. El α -zearalenol posee unos efectos estrogénicos 10 veces superiores a la zearalenona. Por lo que estos productos como otros derivados (zearalanol o zeranol) se han utilizado como promotores del crecimiento en animales de carne debido precisamente a sus efectos estrogénicos y anabolizantes. Se ha demostrado que, además, estos derivados tienen

efectos carcinogénicos, su uso está prohibido en todos los países de la Comunidad Europea.

2.13.- Fumonisina

Bajo este nombre se denominan una serie de micotoxinas descubiertas recientemente. En efecto, se han descrito hasta 3 tipos de fumonisinas FB1, FB2 y FB3, producidas por *Fusarium moniliforme* y *F. proliferatum*, responsables de diversas afecciones graves en animales domésticos entre las que cabe mencionar la leucoencefalomalacia pulmonar ovina. En cerdos, las fumonisinas pueden producir cirrosis hepática y edema pulmonar. Por el contrario, parece que el ganado vacuno es insensible a este tipo de micotoxinas. Diversos estudios indican una elevada frecuencia de fumonisina en cereales y granos, especialmente en el maíz y sus derivados. Parece ser que los efectos tóxicos son partir de una concertación de fumonisinas de 5 a 10 ppb. En productos contaminados ha llegado a detectar niveles de más de 1000 ppm. No existen estudios sobre la peligrosidad de esta molécula en la salud humana, sin en cambio se ha demostrado que son unos potentes cancerígenos.^{21,69,70}

Cabe resaltar que la presencia visible de hongos no implica presencia de micotoxinas, porque puede una cepa no toxigénica o en caso de serlo, no disponer de las condiciones para producir la toxina, así pues la ausencia del hongo no implica la ausencia de micotoxinas, ya que los hongos pueden haber sido eliminados pero no la toxina.

Los hongos que producen micotoxinas se encuentran en todo el mundo, aunque no exista presencia visible del hongo, ni cambios de aspecto, olor o sabor en el producto, estos pueden estar contaminados. Una nota importante es que no todos los hongos producen micotoxinas, ni todos los granos contaminados con hongos son tóxicos. Un problema adicional causado por las micotoxinas, es la reducción de la productividad en animales que han consumido grano contaminado, esto causa pérdidas económicas considerables que pueden permanecer ignorados.

A menudo los animales son alimentados con granos que han sido seleccionados y separados de la cosecha debido a que su uso no es apropiado para consumo humano, si este grano es mezclado con grano sano en las debidas proporciones su efecto en los

animales será mínimo, sin embargo, si se consume sin mezclarlo, la concentración de micotoxina será alta, causando enfermedad y hasta la muerte de los animales. Pollos alimentados con maíz contaminado con *Aspergillus flavus* y aflatoxinas, no crecen debidamente y la aflatoxina que está acumulada en el hígado de los pollos pasará al ser humano, cuando sea consumida.

La contaminación de los granos con micotoxinas representa un gran inconveniente cuando se requiere optimizar la producción de animales de granja. Los alimentos contaminados afectan la economía de las operaciones de la industria animal bajo las siguientes características:

- Rechazo del alimento
- Disminución de la tasa de crecimiento
- Efectos negativos sobre la reproducción
- Reducción de la función inmunológica
- Contaminación de alimentos y otros productos de origen animal.

En uno de los primeros reportes sobre la contaminación por micotoxinas publicado en 1984, la Organización de Agricultura y Alimentos de las Naciones Unidas encontraron que por lo menos el 25% de las reservas mundiales de granos están contaminadas por micotoxinas. Evaluaciones posteriores revelaron que en algunas regiones, el 80-100% de los granos se encontraba contaminado. Esas altas incidencias ocurrían en regiones donde los cultivos fueron afectados por la sequía, infestados por insectos, o porque fueron utilizados equipos de cosecha o depósitos inadecuados. El aspecto más aterrador es que algunos de los altos niveles de contaminación ocurrieron en países con los más avanzados sistemas agrícolas.⁷¹

2.14.- Interacciones micotoxinas nutrientes en la digestión ⁷²

En primer término, los efectos de las interacciones aflatoxinas-nutrientes han mostrado un deterioro de la digestión, acompañado de disminución de la actividad de las enzimas digestivas, lo cual ha constituido el eje de convergencia para tratar de explicar las interacciones micotoxinas-nutrientes que se producen en el proceso de digestión de los alimentos. En este sentido, las interacciones micotoxinas-lípidos de la dieta son las responsables de ocasionar las principales manifestaciones de desorden digestivo que resultan como una consecuencia del efecto inhibitorio que tienen muchas micotoxinas sobre las enzimas digestivas a consecuencia de sus efectos adversos sobre la síntesis de proteína. Estas manifestaciones son producto de la alteración del proceso de digestión de las grasas, lo cual se expresa en un síndrome de mala absorción, donde la presencia de lípidos en heces es la principal evidencia del mismo.

2.14.1.- Interacciones micotoxinas-lípidos

Las interacciones aflatoxina-lípidos, se corresponde con la instauración de un proceso de degeneración grasa a nivel hepático. En aves se sabe que la aflatoxina produce una reducción significativa de los lípidos en sangre, lo que aunado de acumulación de lípidos en el hígado, permiten inferir un efecto de inhibición general del transporte de lípidos a consecuencia de esta toxina. A esta condición se le suma una reducción marcada de la actividad de los sistemas microsomal y citosol en el hígado viéndose comprometida la síntesis de ácidos grasos. Esta evidencia sugiere que la aflatoxina afecta la síntesis de lípidos interfiriendo la síntesis de enzimas involucradas en el metabolismo lipídico.

2.14.2.- Interacciones micotoxinas-proteínas

Los resultados sobre este aspecto muestran que la acción adversa de las aflatoxinas sobre el crecimiento de las aves y letalidad en otras especies puede ser minimizada por un incremento en el contenido de proteína en la dieta lo que hace pensar que algún tipo de Interacción micotoxina-proteína se sucede reduciendo la disponibilidad de las mismas. Muy poco se conoce de las posibles Interacciones micotoxinas-aminoácidos, no obstante se sabe que el efecto adverso se produce sobre la

digestión de las proteínas y no así sobre la absorción de los aminoácidos; destacándose un aumento significativo en la velocidad de absorción de metionina en aves afectadas por aflatoxina. Se conoce que la aflatoxina incrementa los requerimientos de metionina y siendo ésta el principal aminoácido limitante en las aves, es posible que al verse comprometida la digestión de proteínas se produzca un efecto aditivo con la aflatoxina deprimiéndose significativamente la tasa de crecimiento.

2.14.3.- Interacciones micotoxinas-carbohidratos

Este tipo de interacción ha sido muy poco estudiada. En pollos las evidencias que se tienen hasta el presente son de índole inhibitorio enzimático regulador del catabolismo del glicógeno y el proceso de neogénesis interfiriéndose la utilización del almidón.

2.14.4.- Interacciones micotoxinas-minerales

Sobre este en particular se sabe por estudios realizados, que pueden causar anemia; no habiéndose establecido claramente los procesos metabólicos que conllevan a la misma. Se sabe que la anemia por aflatoxicosis es de tipo hemolítica siendo los pollos jóvenes los más afectados ya que el metabolismo del hierro se afecta significativamente sin poder responder a las altas demandas del ave a consecuencia de su rápido crecimiento.

Existen evidencias que indican que la aflatoxina ocasiona Interacción aflatoxina-zinc y aflatoxina-cobre cuyos efectos se manifiestan en una disminución del Zinc a nivel hepático y en un incremento del cobre en plasma, requiriéndose estudios profundos sobre la significancia clínica de estas interacciones.⁷²

2.15. Aflatoxicosis Aviar

Desde los acontecimientos sucedidos en Inglaterra en 1960 se ha desarrollado numerosas investigaciones acerca del efecto de las aflatoxinas tanto en el hombre como en los animales y en estos últimos es muy importante debido a que se ha detectado baja ganancia de peso y de conversión alimenticia por lo tanto se observa desarrollo lento, desordenes respiratorios, intestinales, inmunológicos, sanguíneos, y tisulares así mismo

como infección por agentes oportunistas secundarios incluso muchos de estos pudiendo causar muerte en el individuo o los individuos que tengan contacto con estas toxinas.

Las aflatoxinas se consideran los contaminantes biológicos de los alimentos más extendidos a nivel mundial y esta clasificada como uno de los más importantes tóxicos cuya dosis letal es de (DL₅₀ 1-50 mg/kg) para muchas especies animales. Dentro de las especies más susceptibles por dicho tóxico se encuentran los patos, los leporinos, los felinos, mientras que los ratones, hámsters, ratas.

La toxicidad de dicho agente depende en un porcentaje alto del tipo de toxina involucrado así como la dosis y el tiempo de exposición de la misma, además de ser peligrosa ya que se conoce que poseen propiedades cancerígenas, mutágenas y teratógenas.⁷³

2.16.- Efectos biológicos de las aflatoxinas

Uno de sus principales efectos de las aflatoxinas es la toxicidad hacia diferentes órganos uno de los principalmente involucrados es el hígado, dependiendo de la duración de la exposición y de la concentración, puede presentarse una toxicidad aguda o crónica.

La exposición crónica a niveles bajos de aflatoxinas es muy probable que ocurra con mayor facilidad que una exposición aguda. En la literatura, existen evidencias de que una exposición crónica a AFB₁ en animales de experimentación, produce cáncer e hipertrofia del hígado.^{74, 75, 76.}

Un efecto importante es la citotoxicidad, *in vitro* se ha probado la citotoxicidad causada por las aflatoxinas. En general, los efectos se han estudiado en líneas celulares como células embrionarias de pato, células hepáticas de mono, de riñón, células hepáticas de embrión humano, células epiteliales de mono, etc. También está demostrado que la AFB₁ puede afectar el ciclo celular y la mitosis de algunas células, especialmente de los hepatocitos⁷⁷

Existen diversos efectos siendo uno de los más importantes la inmunosupresión dado por aflatoxinas pueden afectar al sistema inmune celular y humoral, provocando un aumento en la susceptibilidad de los animales hacia enfermedades causadas por bacterias, hongos y parásitos. Además, pueden existir efectos considerados como inmunotóxicos sin observarse patologías clínicas aparentes⁷⁸.

Existe un efecto mutagenico, dentro de los bioensayos empleados para medir mutagenicidad de las aflatoxinas se pueden citar: detección de aberraciones cromosómicas en linfocitos humanos, en cultivos pulmonares embrionarios humanos, en células de riñón de rata y hámster, en células HeLa, mutaciones en microorganismos como *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Neurospora crassa*, *Salmonella typhimurium*, *Drosophyla melanogaster*, en células T de riñón humano, en cultivo de leucocitos humanos y en la inducción de fagos en bacterias lisógenas.⁷⁹

La carcinogenicidad es otro efecto de las aflatoxinas, el desarrollo de un tumor canceroso se puede dividir en las siguientes etapas: iniciación, promoción y progresión. Además, las lesiones preneoplásicas y malignas en humanos están caracterizadas por la expresión de cambios enzimáticos, análogos a los observados en modelos animales con tumores en el colon, estómago, intestino delgado, esófago, cavidad oral, hígado, tejidos pulmonares y mamas. La capacidad de las distintas aflatoxinas para inducir tumores en especies animales difiere considerablemente, siendo uno de los principales motivos la variabilidad en cuanto a su metabolismo, distribución y excreción, por lo que las cantidades mínimas necesarias para la inducción de cáncer son también dependientes de estas propiedades, sin perder de vista, además, la susceptibilidad relativa de cada especie animal.

Los efectos teratogenicos de la AFB1 afectan mas a algunas especies mas que a otras. Puesto que es un potente inhibidor de la síntesis de proteínas en células eucarióticas, altera la diferenciación celular. La susceptibilidad a teratógenos varía grandemente durante el curso de la gestación, aunque el embrión es más susceptible durante los estadios tempranos de diferenciación morfológica.^{22,80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89,}

2.17.- Dosis para presentación de enfermedad

Pollitos de 1 día a 7 semanas de edad a dosis de 0,075 a 0,675 ppm de aflatoxina B1 se observa inhibición del desarrollo con las concentraciones más bajas y muerte con las concentraciones más altas; de 1 a 7 días de vida a dosis de 0,2 a 0,8 ppm inhibición del desarrollo con las concentraciones más bajas, lesiones hepáticas graves y muertes en concentraciones altas. Pollitos de 1 día a 3 semanas a dosis de 0,5 ppm son causantes de atraso en crecimiento además de presentar hígado graso y e hiperplasia del mismo. Pollitos de 1 día a a dosis de 0,25 a 0,5 ppm provocan reducción de la ganancia

de peso vivo, cambios macroscópicos en hígado y resistencia a la inmunización contra *Pasteurella multocida*. Pollitos de 1 día a 29 días y más 0,2 ppm causan susceptibilidad a la coccidiosis (*Eimeria tenella*) tendientes a muerte por dicha etiología.⁹⁰

Gallinas ponedoras y reproductoras a 6 semanas 0,100 ppm de aflatoxina B1 ocasiona cambios en el contenido de calcio y cenizas de la cáscara del huevo. Y hasta 33 semanas 0,610 ppm lesiones hepáticas, bajas de puesta y muertes.⁹⁰

2.18.- Signos clínicos

Cuando se trata de intoxicación aguda generalmente la presentación de la enfermedad se da de forma repentina incluso pudiendo llegar a la muerte; al contrario de una intoxicación crónica en donde se pueden observar aves pálidas con pobre pigmentación, pérdida de peso, retraso en el crecimiento, elevación de la mortalidad, disminución en la conversión alimenticia, e inmunosupresión, ocasionando infecciones bacterianas y parasitarias secundarias, en el caso de los aves de postura hay disminución de huevos por ciclo, fragilidad del cascarón por cambios en el contenido de calcio.²²

2.19.- Morfopatología

Existen diversas lesiones morfológicas que presentan aves que consumen alimento contaminado con aflatoxicosis, uno de los órganos que sufre deterioro es el hígado este macroscópicamente se observa con tonalidades blanco-grisáceo a amarillo-verdoso, al pasar el tiempo desarrolla focos blanquecinos delimitados, existen petequias o equimosis incluso llegan a ser hematomas, atrofia o hipertrofia dependiendo el tiempo de exposición y dosis en algunos casos con focos necróticos. Bajo microscopio se puede observar degeneración grasa, hiperplasia de conductos biliares, fibrosis perilobulillar, focos de necrosis, perihepatitis, hemorragia y congestión multifocal.

En riñón macroscópicamente: se observan tonalidades blanco amarillentas difusas y microscópicamente muestran necrosis tubular, degeneración grasa, infiltración linfocítica la cual puede verse acompañada de calcificación distrófica.

Los órganos linfoides como el bazo, bolsa de Fabricio y timo macroscópicamente son de menor tamaño y tonalidades blanquecinas.

Microscópicamente presentan atrofia de bolsa de Fabricio, timo y bazo con depleción linfoide.⁹¹

Se han descrito otras lesiones como cardiomegalia, discondroplasia tibial, atrofia de médula ósea observándose de color blanquecino y hemorragias en masas musculares (petequias y equimosis). La actividad de los leucocitos y la respuesta inmune también se ven afectadas por la presencia de aflatoxinas, el mecanismo exacto es desconocido, sin embargo el efecto negativo sobre el complemento, el interferón, las proteínas séricas y actividad leucocitaria son presumiblemente resultado de la lesión hepática y de la inhibición de la síntesis de proteínas.⁹¹

2.20.- Hematología y química sanguínea⁶⁰

A nivel sanguíneo la AFB1 presenta un anillo dicumárico similar al que presenta la vitamina K por lo que actúa como antagonista ocasionando hemorragias y descenso del hematocrito, se han encontrado porcentajes de hematocrito del 25% en animales suplementados con esta toxina. Se menciona que la concentración de proteína sérica así como colesterol disminuye notablemente.

Los niveles de colesterol, calcio, fósforo, así como la actividad enzimática del Aspartato-aminotransferasa (AST), Alanino-aminotransferasa (ALT) se ven notablemente afectados (T-14).

T-14 Valores normales de analitos sanguíneos en aves^{92, 93, 94, 95.}

Analitos	Rango
Hematocrito	27 – 32 %
Colesterol	100-200 mg/100ml
Ácidos grasos	360 mg/100ml
Calcio	15 a 30 mg/100ml
Fósforo	85-95 mg/100ml
ALT	1.74-3.75 UI/L
AST	184.50-150.13 UI/L
Proteína sérica	3.5-6 g/100ml

Resultados variables en base a edad

2.21.- Diagnóstico de aflatoxinas ^{96, 97, 98, 99, 100,101, 102, 103.}

Se puede llegar a el por medio de una historia clínica bien realizada, en base a la signología presente además de apoyarse en pruebas de laboratorio así como necropsias, pruebas de toxicidad en el alimento por medio de la utilización de algunas de las técnicas a continuación citadas.

1. Cromatografía de líquidos (LC)
2. Cromatografía en capa fina (TLC),
3. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC),
4. Cromatografía de gases (GC)
5. Columnas de inmunoafinidad (análisis inmunoenzimáticos como Elisa)
6. Cromatografía supercrítica de fluidos (SFC)
7. Electroforesis por zona capilar (CZE)
8. Cromatografía de capa a alta presión (OPLC)

2.22.- Prevención

Es claro que la presencia de hongos productores de micotoxinas en los granos y alimentos representa un peligro considerable. Las pérdidas económicas causadas por el rechazo de granos contaminados por las aves son considerables. Pero son más importantes las pérdidas no detectadas, debido a la reducción de la productividad en la explotación de los animales. El mejor método para disminuir la contaminación de granos con micotoxinas, es la adopción de métodos preventivos para el control de hongos, como son *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium graminearum* dentro de muchos otros.

Es muy difícil controlar al agente contaminante, el control debe de realizarse desde un punto de vista integral tratando o minimizando el efecto negativo de las aflatoxinas sobre la salud animal. Dentro de estas medidas encontramos la utilización de sustancias ácidas denominados “hepatoprotectores” y sustancias naturales como coadyuvante a las lesiones de las toxinas ejemplo de ello es la *Echinacea angustifolia*.

2.23.- Hepatoprotectores

En lo que a producción de pollo de engorda se trata, se han logrado importantes mejoras, todo ello debido a las intensas formas de control y estudios obviamente para hacer un mejor rendimiento y a mejorar los parámetros productivos de estos animales, en base a todos estos estudios las aves son cada vez más susceptibles a los factores como lo son la tensión que dentro del medio ganadero se conoce como estrés la cual trae como consecuencia la presentación de enfermedades clínicas.

Si tomamos en cuenta que las enfermedades merman en gran escala la producción no solo de las aves sino de cualquier especie y si todo esto los transformamos en cifras económicas sabremos que son de consideración, en el menor de los casos los animales enfermos bajan sus promedios de producción y con buenos tratamientos se recuperan, pero si nos vamos a los extremos los animales muchas veces no soportan los trastornos de enfermedad y mueren con ello por lo que son más críticas las pérdidas económicas.

La suma de los efectos de varios tipos de tensiones y su grado de severidad provocan aumento del nivel de corticosterona en el plasma (principal secreción glucocorticoide del pollo).

Durante la reacción de alarma, en las aves se liberan adrenalina, noradrenalina y corticosterona y se secreta un factor de liberación de ACTH los estímulos que conducen a estrés crónico pueden facilitar la hipertrofia o la atrofia la reactividad adrenocortical, parte de la función de los glucocorticoides circulantes puede ser el mantenimiento de la reacción vascular a las catecolaminas.

La medición sistemática de los niveles de estrés es importante para su determinación objetiva y consecuentes efectos en la productividad de las aves. En estos animales se emplean técnicas directas e indirectas entre estas últimas se cuentan las hematológicas y la interpretación de los resultados en los parámetros de la producción.

Las adecuadas normas de manejo y el suministro de una serie de productos sustancias auxiliares, suplementos vitamínicos y minerales, aminoácidos esenciales, promotores del crecimiento, enzimas que se utilizan tendiendo a minimizar los efectos que las distintas situaciones adversas provocan en el rendimiento de las aves; y, a medida que las exigencias aumentan, son cada vez más las sustancias que se investigan y desarrollan con esta finalidad.

Durante las situaciones de estrés se produce una sobrecarga metabólica significativa en la cual la capacidad funcional del hígado resulta trascendente en los animales sometidos a elevadas exigencias de producción. El papel de este órgano durante el crecimiento es fundamental ya que cede en forma constante proteínas, fosfolípidos y colesterol hacia los tejidos en desarrollo.

A pesar de la importancia que puede llegar a tener el empleo de sustancias hepatoprotectoras, su uso en avicultura es muy limitado, restringiéndose al suministro de algunos factores lipotrópicos. El aporte continuo de dichos factores junto con otras sustancias que favorezcan la función hepática como colagogos, coleréticos no es en la actualidad una práctica corriente, de manera que los potenciales efectos benéficos sobre la producción y las modificaciones metabólicas producidas por la suplementación con estas sustancias restan aún por investigarse.

En el estrés, con mucha frecuencia se establece una situación de alteración de la homeostasis que constituye *per se* una patología definida con desarmonía biológica y consecuencias negativas importantes en la normalidad vital y la expresión del genotipo.

En el presente trabajo se emplea un suplemento comercial que actúa como coadyuvante de la función hepática, administrado en el alimento balanceado a lotes de pollos de engorde, describiéndose las observaciones hechas sobre el impacto en el peso vivo como principal índice técnico de la producción y sobre variables bioquímicas relacionadas.

Algunos hepatoprotectores como el usado en el trabajo experimental de esta tesis posee una combinación de efectos: lipotrópico (cloruro de colina) colerético-colagogo, hipocolesteremiante e hipotrigliceremiante y un conjunto de sustancias (aminoácidos, núcleo-derivados, coenzimas y vitaminas del grupo B como tiamina, riboflavina y cianocobalamina) que favorecen la regeneración del tejido hepático el cual es susceptible de diferentes etiologías como lo son las aflatoxinas^{104, 105}

Si tenemos elevadas concentraciones de corticosteroides circulantes en sangre los niveles de anticuerpos son suprimidos y estos niveles se encuentran en la escala baja, al bajar montaran una pobre respuesta inmunitaria, es por eso que en algunos casos se recomienda la utilización de tratamientos alternativos en los animales y el humano como lo es la utilización de inmuno-estimulantes naturales como lo es la *Echinacea angustifolia*.

2.24.- *Echinacea angustifolia*

2.24.1.- Historia

La *Echinacea* era usada por los indios de Norteamérica para curar heridas, mordeduras de serpientes e insectos, la utilizaban para tratar los fríos o dolores, además de enfermedades como la viruela, el sarampión y las paperas. En 1870, los americanos nativos en la ciudad del Pawnee, Nebraska, enseñaron a Dr. Meyer sobre el uso del *Echinacea* y Meyer pronto inventó el purificador de la sangre y lo promovió como una curación absoluta para la mordedura de la serpiente de cascabel. En 1902, los médicos homeopáticos usaban la *Echinacea* para tratamiento de enfermedades y antes de 1907, *Echinacea* se convirtió en la hierba más popular de los Estados Unidos, entre médicos eclécticos y doctores convencionales. En 1910 la investigación encontró características que estimulan la inmunidad, tales como que aumenta el conteo de células blancas en la sangre, entonces alrededor de 1930 solicitó para Alemania cerca de 50,000 libras de *Echinacea* la cual fue exportada de los E.E.U.U.

Con el descubrimiento y la producción de antibióticos en el período 1940-1950, el renombre y el fervor en *Echinacea* disminuyeron notable.

El nombre *Echinacea* corresponde a un género de plantas nativas de Norteamérica:

- **Familia a la que pertenece:** compuestas
- **Lugares donde se cría:** llanuras, praderas, bancos de arena, colinas secas y calcáreas de EE.UU sobre todo en los estados más occidentales, entre Illinois y Nebraska aunque también se extiende hacia el sur hasta Missouri, Louisiana, Oklahoma, Kansas, Florida, Texas y México
- **Parte medicinal utilizada:** las raíces, el rizoma y puede emplearse la planta completa.
- **Altura de la planta:** hasta 1 metro
- **Sus hojas:** enteras, estrechamente lineares-lanceoladas, pubescentes, con tres nerviaciones
- **Flores:** las flores del disco son tubulares y de color amarillo pálido, el disco floral es rígido y hasta espinoso
- **El fruto:** tetraquenio espinoso

- **Floración:** entre junio y agosto

Existen nueve especies, pero solamente tres de ellas (*E. purpurea*, *E. pallida* *E. angustifolia*), son utilizadas como medicinales y en el caso de la última su raíz es la más utilizada.¹⁰⁶

2.24.2.- Principales Componentes de *Echinacea* sp.

En las raíces los componentes que a continuación detallamos, es posible que se encuentren en otras partes de la planta además de las raíces, ya que los análisis realizados no aclaran si se referían solo a las raíces.

- Glucósidos (1%)
- Aceite esencial (1,25%)
- Ácidos grasos
- Fitosteroles
- Alcaloides (0,0065%)
- Betaína (1%)
- Resinas (2%)
- Flavonoides
- Taninos
- Inulina
- Pentosanos
- Azúcares reductores
- Vitamina C
- Flores: contienen un 0,28% de un aceite esencial de composición similar al de las raíces

2.24.3.- Propiedades Medicinales de *Equinacea*

Es un estimulante inmunitario, fungicida, bactericida, sialagogo (estimulante de la secreción salivar), antidiarreico, antigriposo, antiinflamatorio, desintoxicante, antiviral, cicatrizante, purificadora de la sangre, antialérgico, sudorífico y antiséptico.

2.24.4.- Dosis Recomendada

- En tintura madre: hasta 30 gotas 3 veces al día
- En Extracto fluido: hasta 1 g por dosis
- En extracto blando: hasta 0,1 g por dosis

2.24.5.- Mecanismo de acción

La acción de *Echinacea* se relaciona con el funcionamiento del sistema inmunológico, contribuyendo a combatir las infecciones y estimulando las respuestas inmunes, aumenta los mecanismos de defensa del organismo actuando como inmunoestimulante no específico. Activa los macrófagos que destruyen tanto microorganismos patógenos como células neoplásicas¹⁰⁶; aumenta los niveles de fagocitosis elevando las linfocinas¹⁰⁷, interleucinas 6,¹⁰⁸ y los leucocitos, neutrófilos¹⁰⁹, eosinófilos, los monocitos¹¹⁰, linfocitos B¹¹¹. También actúa sobre el sistema de las properdininas, elevando sus niveles, activan el sistema del complemento, insita a los macrofagos a formar el TNF α .¹¹²

Aparentemente previene infecciones y contribuye a reparar los tejidos afectados por la infección parcialmente, a través de inhibición de la actividad de la enzima hialuronidasa. Esta enzima constituye parte del mecanismo primario de defensa, que incluye sustancias del tejido conectivo como el ácido hialurónico, actuando como una barrera contra organismos patógenos¹¹³.

Algunos microbios activan la hialuronidasa, que comienza a destruir la integridad del ácido hialurónico, lo que debilita las barreras permitiendo la penetración de los microorganismos, quienes invaden y se adhieren a las células expuestas, penetran las membranas y matan las células afectadas.

La *Echinacea* inhibe la acción de la hialuronidasa uniéndose de alguna manera a esta enzima, lo que resulta en una mejoría temporal de las barreras, de manera que un menor número de patógenos puede estimular la destrucción de las barreras.

Este proceso es mediado por diversos principios de la *Echinacea*, especialmente la Echinacina B. Esta acción anti-hialuronidasa está asociada a la regeneración del

tejido conectivo que se destruye durante una infección y en la eliminación de los organismos patógenos que causan esa infección.

Los polisacáridos de *Echinacea* poseen una gran fuerza activadora sobre los sistemas de defensa mediados por macrófagos, que inician la destrucción de los patógenos y células cancerosas. La *Echinacea* activa intrínsecamente los macrófagos, independientemente de cualquier efecto con las células T.

Esto explica las propiedades inmuno-estimulantes y anti-virales de la planta. Se ha encontrado un principio inhibidor de tumores, un hidrocarburo liposoluble oncolítico en los aceites esenciales de *Echinacea* ¹²³

Los echinacosidos aparentar ser los antibióticos primarios, pero están presentes muchos otros principios activos que probablemente actúen sinérgicamente. Las otras sustancias activas han demostrado poseer buenas actividades anti-tumorales, bacteriostáticas y anestésicas.

Su efecto más importante es el incremento en la fagocitosis, estimula la quimiotaxis, aumenta la actividad de las células NK, tiene un efecto leve sobre linfocitos B y la producción de anticuerpos, tiene efecto antiinflamatorio similar a los corticosteroides, estimula el crecimiento de fibroblastos, aumenta la estabilidad de la colágena, además tiene acción bactericida, viricida y fungicida ^{114 115}.

3.- JUSTIFICACIÓN

- Debido a que el principal componente de las dietas balanceadas son los granos y que estos comúnmente se encuentran contaminados con aflatoxina es necesario evaluar el funcionamiento de diferentes productos como son los hepatoprotectores y/o estimulantes naturales de la inmunidad como lo es la *E. angustifolia*.
- La aflatoxicosis es un problema que deteriora la calidad del grano o de los alimentos balanceados e incide directamente en los animales, ocasionando mermas el desempeño productivo del pollo de engorda, aumentando los costos de producción, por lo que es necesario implementar medidas de control y/o prevención.
- Dado que la aflatoxicosis genera problemas inmunológicos que favorecen la presentación de enfermedades por una mala respuesta inmune a la vacunación o agentes infecciosos. Es importante la utilización de productos que estimulen o ayuden a mantener una adecuada respuesta inmunológica.

4.- HIPOTESIS

El uso de hepatoprotector comercial y *Echinacea angustifolia* mantendrá el desempeño productivo óptimo de las aves, así como el incremento en los títulos de anticuerpos que se dan como respuesta a la vacunación.

5.- OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo es la evaluación de la eficiencia de un hepatoprotector y el efecto inmunoestimulante de *Echinacea angustifolia* en aves de doble propósito (carne y huevo) alimentadas con alimento comercial contaminado con aflatoxina producida por *Aspergillus flavus* Link.

6.- MATERIAL Y MÉTODOS

1. Se empleo alimento comercial balanceado el cual se sometió a un proceso de esterilización en autoclave con la finalidad de erradicar contaminación bacteriana y fungal, posteriormente se evaluó la presencia de aflatoxinas por medio de columnas de inmunoafinidad VICAM-AFLATEST.
2. La producción de aflatoxina se realizó inoculando maíz con una cepa de *Aspergillus flavus*^{116,117} obtenida de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
3. El tiempo de incubación es de 21 días ajustado a una temperatura promedio de 27 °C y humedad del 18 %.
4. Terminado el tiempo de incubación se tomaron 50 g de muestra de alimento y se le evaluó la concentración de aflatoxinas anticuerpos monoclonales (VICAM-AFLATEST). Para ajustar el alimento y utilizarlo a una concentración de 300 µg AFB /kg de alimento.
5. Una vez alcanzada la concentración deseada se esterilizó el alimento para inactivar al hongo y preservar solamente la toxina.
6. Se alimentaron 125 pollos de las líneas Plymouth Rock y Rhod Island sin sexar, durante un periodo de 36 días.
7. Se utilizo extracto de *Echinacea angustifolia* a una dilución 3x la cual se adquirió en farmacia homeopática.
8. Desde que inicio el experimento y hasta su termino se suplemento el producto comercial nutritox el cual tiene características hepatoprotectoras por su contenido de minerales además de ser multivitaminico.

7.- DISEÑO EXPERIMENTAL

1. Se emplearon 125 aves Rhod island y Phymouth Rock de un día de edad sin sexar, se distribuyeron en 5 tratamientos de 25 animales cada uno, el experimento tuvo una duración de 36 días y las aves se lotificaron de la siguiente manera:

I. Aflatoxina. (AFB)

II. Aflatoxina - Hepatoprotector. (AFB+HEP)

- III. Hepatoprotector. (HEP)
- IV. Aflatoxina - *Echinacea angustifolia* 3X. (AFB+ECH)
- V. Control. (CONTROL)

2. Se realizó un control de peso y consumo de alimento semanal por tratamiento desde el primer día hasta los 36 días de tratamiento.
3. Se realizó la inmunización contra la enfermedad de Newcastle con la cepa La Sota (virus vivo modificado) a los 7 días de edad vía ocular.
4. Se tomaron muestras de sangre los días 15, 22, 29 y 36, con la finalidad de hacer la evaluación del hematocrito. El suero fue utilizado para la determinación de títulos de anticuerpos a través de las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación^{118,119}.
5. Se realizó la necropsia de 5 animales de cada grupo al final del ciclo experimental para observar alteraciones morfológicas y realizar la toma de muestras hígado, riñón, bolsa de fabricio, bazo¹²⁰, así mismo se examinaron a los animales que murieron a lo largo del experimento.
6. Todos los resultados numéricos fueron analizados por medio de un software estadístico (SAS), utilizando un análisis completamente al azar con comparación de medias a través de la prueba de TUKEY. Y la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis también llamada de H¹²¹. para la valoración histológica.
7. Se suministró hepatoprotector a lo largo del experimento dosificado con relación 1/2000 (1.900 ml c.b.p. 4 lt).
8. Se utilizó solamente en la primera semana para AFB+ECH extracto fluido de *Echinacea angustifolia* 3X dosificando 20 gotas por litro de agua.

8.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1.- Evaluación de peso

8.1.1.- Inicio del experimento

En base al trabajo planteado, este inició con un peso promedio por ave de 20.9 g. (Gráfica 5 y Tabla 7), así mismo el lote de aves del tratamiento de AFB pesó 530 g., AFB+HEP con 510 g., el HEP con 530 g., AFB+ECH con 520 g. y el grupo CONTROL con 530 g., no observándose diferencia estadística entre los tratamientos ($P>0.05$). Anexo I-5.

8.1.2.- Primera semana

En la Gráfica 5 y Tabla 6 se observan pesos de las aves a los 8 días del experimento. En orden descendente el mejor peso fue para el tratamiento AFB+HEP 52 g, HEP con 45 g, AFB con 43 g, CONTROL con 41g, y finalmente AFB+ECH con 35g. Los tratamientos de AFB+HEP, AFB+ECH, son los que obtuvieron el mejor peso promedio en comparación con los otros tratamientos ($p<0.05$).

Es importante destacar que los tratamientos que contienen hepatoprotector son en esta semana los que obtienen los mejores pesos esto era de esperarse ya que el producto contiene vitaminas y minerales y las cuales contribuyen a la mejor formación de tejidos y epitelios en un organismo ¹²². Anexo I-6.

8.1.3.- Segunda semana

Después de 15 días de tratamiento los animales comienzan a tener un efecto de crecimiento en base al tipo de tratamiento que se aplicó como lo muestra la Tabla 9 y Gráfica 7, donde inicialmente el peso promedio por ave por tratamientos lo encabeza CONTROL con 58.36 g, HEP con 51.67 g AFB+HEP con 46.07 g, AFB con 45.29 g, AFB+ECH con 44.00 g encontrado diferencia estadística significativa entre el grupo CONTROL y todos los demás tratamientos ($P<0.05$). Los grupos de HEP, HEP+AFB, AFB y AFB+ECH no mostraron diferencia estadística ($P>0.05$).

Las aves que consumieron AFB y AFB+HEP muestran pesos bajos. Esto se debe al efecto que tiene la toxina sobre el hígado, que es su principal órgano blanco, alterando la síntesis de proteínas que intervienen en el desarrollo de las aves, así como una alteración en la síntesis de lípidos, lo que ocasiona pobre desarrollo²⁷. Se han reportado los efectos de la toxicidad en pollos de 15 días de nacidos suministrados con dosis de 0.25 y hasta 5 µg.¹²³. También podemos decir que el hepatoprotector coadyuva a que las aves con la lesión hepática tengan disponibilidad de vitaminas y/o minerales disminuyendo los efectos negativos de las micotoxinas. Esto ha sido reportado por diversos investigadores, los que mencionan que al aumentar la cantidad de vitaminas, estas aumentan su concentración y pueden ser utilizadas por las aves, así también mencionan que vitaminas como la “E” actúan como antioxidantes disminuyendo la acumulación de lípidos en las células hepáticas.^{25,132,148}

8.1.4.- Tercera semana

En la Gráfica 8 y Tabla 10 se muestran los siguientes datos: Tratamiento CONTROL 76.86 g, HEP 71.08 g, AFB 58.64 g, AFB+ECH 54.38., AFB+HEP 54.31 g, en todos los tratamientos existe un efecto sobre el peso, para los grupos sin aflatoxina. Los más afectados son los tratamientos con Aflatoxina ($P < 0.05$).

No podemos explicar por que las aves del tratamiento con aflatoxina sola sin la adición de *Echinacea angustifolia* y hepatoprotector tienen mejor peso. Algunos autores mencionan que en sus ensayos experimentales las aves que consumen alimento contaminado con micotoxinas muestran un mejor peso las 3 primeras semanas de vida, aumentando también su consumo, para posteriormente sufrir una alteración severa sobre el peso y consumo de alimento.^{7,40}

8.1.5.- Cuarta semana

En esta semana (Tabla 11) se sigue observando el efecto negativo de la AFB sobre las aves que la consumen mostrando que el tratamiento de AFB+HEP (72 g), AFB+ECH 75.25 g, AFB 79.92 g. Los grupos carentes de AFB como son HEP con 98.25 g, y CONTROL con 105.69 g (Gráfica 9), no existe diferencia estadística significativa. Muchos autores como ya se ha descrito que bajo dosis de AFB existe baja conversión alimenticia^{124, 25-50}. Ya no se observa un beneficio al utilizar una

suplementación de vitaminas y minerales (hepatoprotector), esto lo podemos explicar, ya que se ha descrito por varios autores que el efecto acumulativo de las aflatoxinas se observa después de 21 días de consumo de alimento contaminado, disminuyendo la capacidad destoxificante del hígado, así como alterando la capacidad metabólica del mismo aún en presencia de vitaminas y minerales en dosis mayores a las recomendadas por el NRC.

8.1.6.- Quinta semana

En la última semana del experimento los grupos sin tratamiento de AFB obtienen lo mejores pesos (Tabla 12, Gráfica 10), no así los grupos con AFB que obtienen pesos menores pero dentro de estos el grupo AFB+ECH con un peso promedio mejor que los grupos con AFB y AFB+HEP.

La tendencia del efecto de la AFB se puede ver en las Gráficas 10 y C6, así como en la Tabla C 6 la ganancia diaria de peso de los grupos CONTROL y hepatoprotector alcanzaron el mejor peso final (130.38 g, 121 .83 g respectivamente), así pues mostraron pesos inferiores los grupos AFB y AFB+ECH (96 g y 96 .17 g) y el menor peso para el grupo AFB+HEP (88.42 g) Con estas características se encontró que existe diferencia significativa entre los grupos que contienen aflatoxina y los grupos que carecen de esta ($p < 0.05$). Sin embargo entre los grupos AFB, AFB+ECH y AFB+HEP no hubo diferencia estadística ($p > 0.05$). Se puede hacer notar el efecto que algunos autores refieren que tiene *Echinacea* en relación al aparato digestivo en donde mejora la absorción de nutrientes por su efecto compensador de pH ¹²⁵. Así también se describe como un inmunoestimulante, por lo que podemos explicar que al tener una inmunidad adecuadas las aves pueden hacer frente a agentes oportunistas que inciden negativamente en animales inmunodeprimidos como pueden ser aquellos que ingieren aflatoxina. Anexo I-7.

8.2.- Evaluación del Consumo de Alimento

8.2.1 Primera semana del experimento

El consumo promedio por tratamiento en esta semana fue: AFB+HEP con 650 g, CONTROL 640 g, AFB+ECH con 610 g, AFB con 600 g, HEP con 500 g (Tabla C-1,

Grafica C-1), algunos autores como Sandoval ⁽¹²⁶⁾ refiere que con el uso de hepatoprotectores aumentan los parámetros productivos y se mejora la ganancia diaria de peso y la conversión alimenticia además de los efectos protectores contra las diversas micotoxinas dentro de las cuales incluye la aflatoxina B1. ¹²⁴

A los 8 días de tratamiento con *Echinacea* se suspendió, esto en base a la farmacología de la infusión ya que se hace referencia en la literatura que es la dosis necesaria para hacerlo funcional dado que dentro de sus compuestos pudiese existir un metabolito toxico a largo plazo. ¹²⁷

Un evento que contribuyo de manera significativa a un menor consumo de alimento fue la vacunación que se aplico en esta semana, existiendo un sobre manejo de parvada por ende estrés.

Si se compara la Grafica 6 con la Grafica C-1 se observa que AFB+HEP fue el tratamiento que menos consumo de alimento tuvo, además su conversión alimenticia se vio favorecida con 0.83; en un segundo lugar HEP con una conversión de 0.88 y con un consumo de alimento de 500 g, algunos autores ¹¹⁰⁻¹⁴⁰, ¹²⁴ mencionan el hecho de utilizar vitaminas y minerales para tener un mejor parámetros productivos y esto se puede observar en ambos casos. Por otra parte AFB consumió 600 g con un índice de conversión de 0.93 que esta por encima de los dos anteriores, el grupo CONTROL no obtuvo buenos datos 640 g y índice de conversión de 0.97, AFB+ECH 610 g de consumo y un índice de conversión de muy bajo de 1.16. Se realizan modificaciones a este tratamiento y suspender la dosis de *Echinacea*, ya que se recomienda el tratamiento con esta solo por 8 días, ¹²⁸ en la literatura se hace referencia que además de ser un inductor de inmunidad también aporta ciertos metabolitos activos de vitaminas como al A, E, D que hasta cierto punto favorecen a una mejor respuesta alimenticia.

8.2.2.- Segunda semana

Los datos que muestra la Tabla C 2 y grafica C 2 muestra que los grupos que consumieron más alimento en orden decreciente fueron: Control, AFB+HEP, HEP, AFB+ECH, AFB con las siguientes cifras 3120; 3060; 3620; 1100; 1050; g respectivamente, si se compara con la Grafica 7 se puede ver el índice de conversión de cada uno de los tratamientos donde el Control obtuvo la mejor conversión con 0.734, HEP 0.806, AFB+HEP 0.940, AFB 0.946, AFB+ECH 1.016, con estos datos nos podemos dar cuenta que dentro de los tratamientos con AFB el que tiene un mejor

índice de conversión es AFB+HEP, este efecto se esperaba al suministrar un hepatoprotector.^{129, 130}

8.2.3.- Tercera semana

En esta semana el grupo CONTROL consumió 3220 g su conversión no fue de las mejores ubicándose en 3er lugar con 2.97, el tratamiento AFB+HEP con un consumo de alimento de 3160 g y un índice de conversión de 4.3, el grupo HEP consumió 2720 g con un índice de conversión (IC) de 3.16, AFB+ECH consumió 1200 g y su índice de conversión fue mejor que el grupo control con 1.69, AFB consumió 1150 g con IC de 1.4, es evidente como lo muestra la Grafica 8 el ver quien consumió más dentro de esta semana, pero más importante es saber su IC, donde la Tabla 10 arroja datos de peso muy relacionados con el crecimiento de las aves, la baja conversión de alimento por los tratamientos AFB+HEP, HEP cabe mencionar que en esta semana se detecto que los animales presentaban el área de la cloaca húmeda, además de encontrar heces líquidas (diarrea), se ha demostrado que las aflatoxinas provocan diarreas en las aves desde la primera semana afectando la conversión alimenticia y la ganancia de pesos^{22, 131}.

8.2.4.- Cuarta semana

En la Grafica C 4 se muestra que los tratamientos con AFB consumen menos, es importante saber que consumen menos pero existen ligeras variaciones en IC: CONTROL 3390 g IC de 2.40; HEP 3147 g IC de 2.6, AFB con 2100 g 2.02 AFB+ECH 1550 g IC de 1.71 y por ultimo AFB+HEP con 1540 g IC de 1.60 lo que, este último es indicativo que el efecto de AFB+HEP esta funcionando ya que gana peso con poca cantidad de alimento, aunque en el tratamiento de HEP debería tener el mismo efecto no lo hay, se hace referencia en la literatura que existe una fase que se le considera como meseta donde no existe una aumento de peso progresivo por el consumo de hepatoprotector y se comenta que una semana después existe un periodo de compensación¹²⁴.

8.2.5.- Quinta semana

En esta semana se puede observar que la (Grafica C 6) al final del experimento diferencias importantes: AFB+HEP consumió 3340 g IC de 2.87 el más bajo en relación a los siguientes grupos, AFB+ECH 2740g IC de 2.15, HEP con 2670 g IC de 1.6 existiendo una mejora que la cuarta semana, CONTROL con 2740 g IC de 1.47 el mejor lugar de IC para esta semana, AFB con 2550 g IC de 2.13. Los grupos que en general son bajos en los índices productivos son los tratamientos con AFB seguidos por HEP y CONTROL, se destaca el uso de HEP que en algunos puntos del experimento existió mejor IC que en los grupos con AFB.¹³²

Para la variable consumo de alimento se puede observar que el grupo Control, AFB+HEP y HEP son los que consumieron más alimento, mientras que los grupos que menos consumieron el AFB, AFB+ECH habiendo diferencia significativa entre estos dos bloques ($P < 0.05$).

8.3.- Hematocrito

En la primera semana muestran los siguientes datos: CONTROL, AFB+HEP, AFB+ECH, AFB, HEP 22%, 21%, 20%, 20%, 15% respectivamente, de igual forma en la segunda semana: AFB, AFB+ECH, AFB+HEP, CONTROL, HEP, 33.6%, 21.6%, 31.4%, 20%, 19.8, en la tercera semana AFB, CONTROL, HEP, AFB+HEP, AFB+ECH, con (22.6%, 22.4%, 20.2%, 19.4%, 16.6%) respectivamente y para la cuarta semana CONTROL, HEP, AFB, AFB+HEP, AFB+ECH (28%, 26.4%, 26.25%, 25.8% 21.75%). En ningún caso se observó diferencia estadística ($p > 0.05$), Raju¹³³ y Calnek¹¹⁰ mencionan un aumento en el hematocrito en presencia de AFB en los primeros 5 días, no obstante a lo largo de su investigación todos los niveles de hematocrito disminuyeron súbitamente hasta un 15% o un poco más. En este experimento existieron algunos grupos que tomaron una actitud a la baja, pero su recuperación fue satisfactoria en relación a los parámetros establecidos como normales (tomando en cuenta estirpe, peso y edad). (Tabla 13, Grafica C-7) Anexo I-8.

8.4.- Inhibición de la Hemoaglutinación

La grafica C-8 muestra los tratamientos arrojando los siguientes resultados para el primer muestreo: AFB 880, AFB+HEP 960, HEP 1200 AFB+ECH 1660 CONTROL 960, para el segundo muestreo AFB 220, AFB+HEP 240, HEP1120, AFB+ECH 480 CONTROL 1440. Simón y Tomas^{134, 135, 136}, mencionan que existe una respuesta estimulante de inmunidad en presencia de *Echinacea* pero solo hacen referencia en estudios realizados en humanos, en cuanto a la realización en animales Luis¹³⁷ realizando un trabajo experimental demuestra que evidentemente usando *Echinacea* mejora el porcentaje de monocitos y con ello favorecen los mecanismos inespecíficos de defensa, además de mejorar la respuesta inmunológica reflejada en los títulos de anticuerpos contra el antígeno de NewCastle. Es un hecho que el efecto inmunosupresor de AFB se ve reflejado en los títulos de anticuerpos existiendo diferencia significativa primariamente en los grupos carente de AFB como son grupo CONTROL y grupo HEP con relación a los que si contenían. Además existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el grupo con *Echinacea* y el grupo AFB y AFB+HEP demostrando así eficiencia inmunológica. Anexo I-9.

8.5.- Diagnostico de lesiones Histopatológicas (mofopatología)

A continuación se enlistan las lesiones encontradas en los órganos de los diferentes tratamientos como son hígado, riñón, bolsa de Fabricio, bazo. Se le asigno una clasificación numérica al grado de lesión donde 1= Leve, 2= Moderado 3= Severo, para su posterior análisis estadístico no paramétrica. Sin embargo en ningún caso se observo diferencia estadística ($p > 0.05$).

Dentro de la características morfológicas de hígado se encontró esteatosis grasa de gota delgada difusa leve, hemosiderosis multifocal leve, congestión sinusoidal difusa leve, además de encontrar focos de necrosis coagulativa leve (patrón lítico) este último se considero como lesión asociada a cambio postmortem.

Por otra parte en riñón se diagnóstico degeneración celular de tipo albuminoso e hidrópico difuso leve incluyendo en este un cuadro de congestión tubular multifocal leve. En órganos como bazo, bolsa de Fabricio y sistema nervioso central no se encontraron lesiones (Sin Cambio Patológico Aparente "SCPA"). Anexo I-10.

9.- CONCLUSIONES

La presencia de aflatoxina afecta el rendimiento productivo de los animales como son la ganancia de peso, la conversión alimenticia y un deficiente nivel de títulos de anticuerpos vacúnales, mostrando una ligera efectividad en presencia de *Echinacea angustifolia* y hepatoprotector, a pesar de que estadísticamente no hay diferencia significativa entre los grupos.

Sin embargo la utilización del hepatoprotector en ausencia de aflatoxina sí mejora los parámetros productivos y la respuesta vacunal de manera significativa. Es importante resaltar que las aves que se utilizaron son de doble propósito, por tal motivo los pesos son menores a los que presentarían los pollos de engorda a esa misma edad.

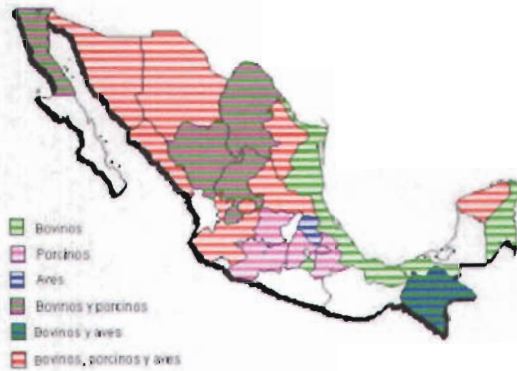
En relación a la *E. angustifolia* se hace notar que aumento ligeramente los títulos de anticuerpos vacúnales en comparación con los otros grupos con AFB.

Con respecto a las alteraciones morfológicas observadas en hígado, riñón y bolsa de Fabricio son menos severos al estar presente el hepatoprotector aunque entre grupos no exista ganancia significativa.

10.- Imágenes, Gráficas, Tablas

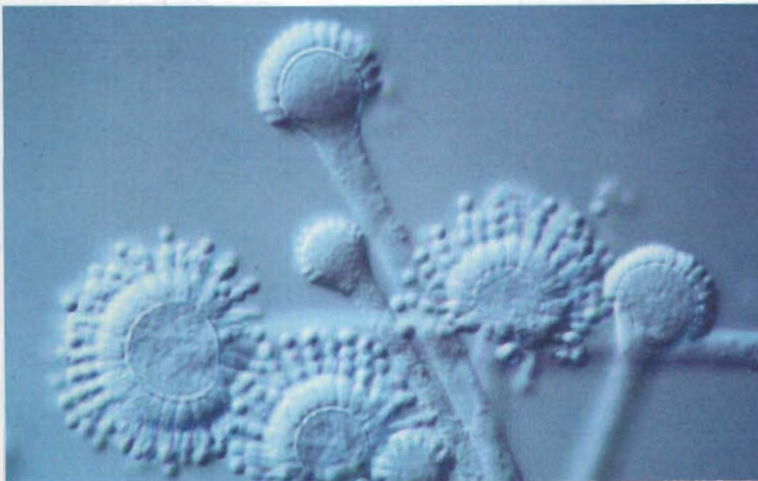
10.1 Imágenes

I-1. Distribución Nacional de Especies Animales para Abasto



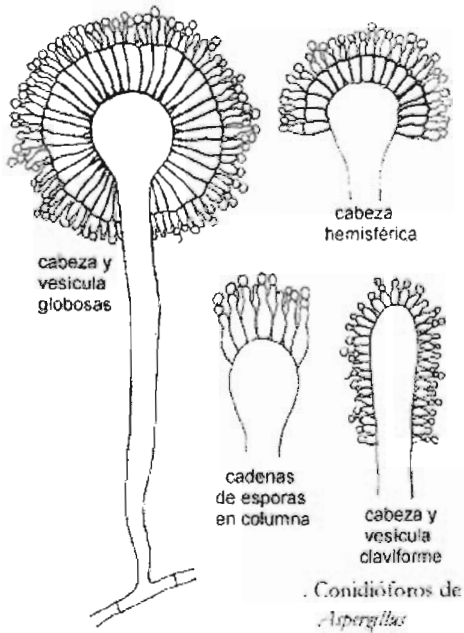
Lastra, M. J. 2000. La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000. Dirección general de ganadería o del centro de estadística agropecuaria: <http://www.sagpa.gob.mx>.

I-2 *Aspergillus flavus* Link



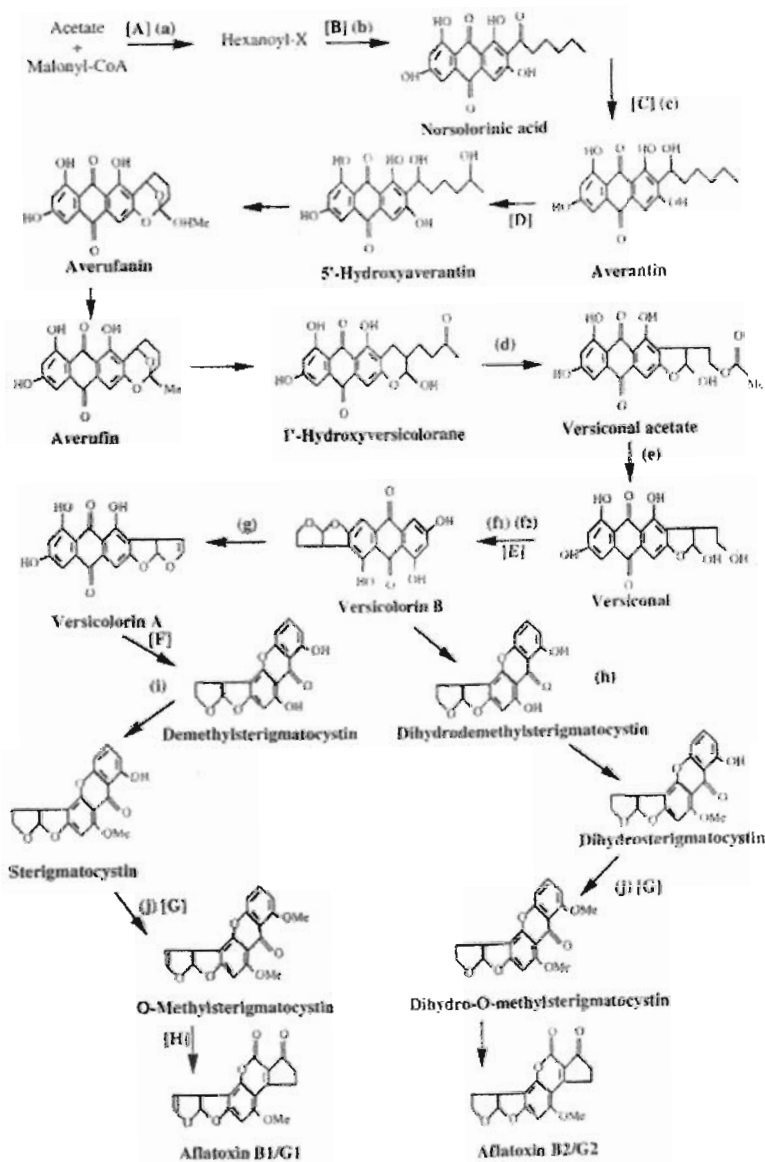
McGinnis 2000 Doctofungus Corporation

I-3 Conidioforos de *Aspergillus*



Aspergillus spp. (described by Micheli ex Link in 1809) <http://www.merck.com>.

I-4 Síntesis de aflatoxina en *Aspergillus*.



Michael et al. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. Vol. 43. pp.141-158.

I-5 Inicio del experimento



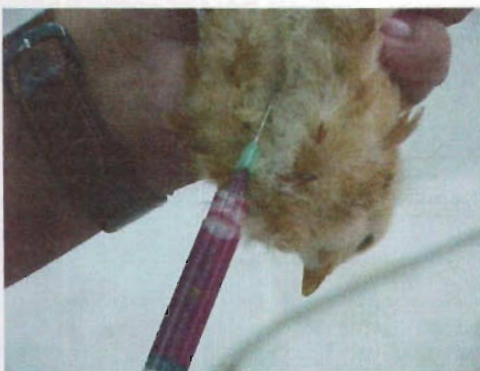
I-6 Primera semana



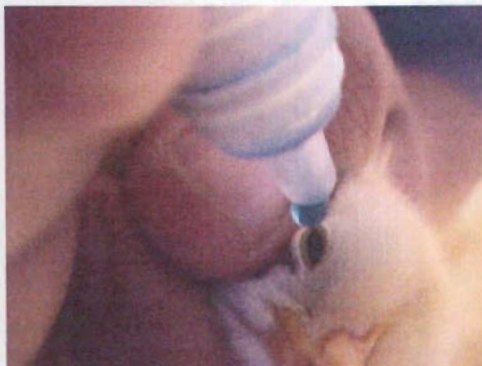
I-7 Quinta semana



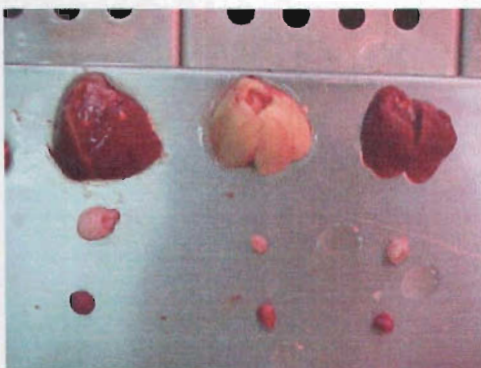
I-8 Toma de muestras sanguíneas



I-9 Vacunación contra NewCastle

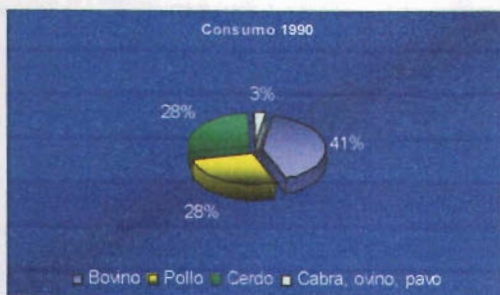


I-10 Macroscòpico



10.2.- Graficas

Grafica 1 - Consumo de Carnes 1990



Lastra, M. J. 2000. La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000. Dirección general de ganadería o del centro de estadística agropecuaria. <http://www.sagarpa.gob.mx>

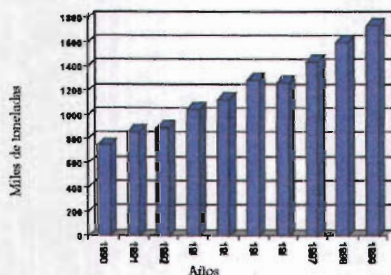


Grafica 2 – Consumo de Carnes 2000



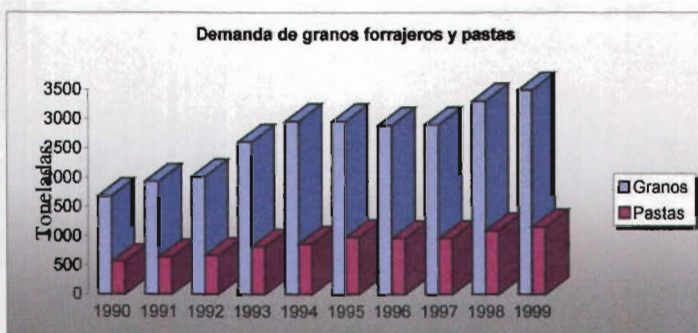
Lastra, M. J. 2000. La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000. Dirección general de ganadería o del centro de estadística agropecuaria. <http://www.sagarpa.gob.mx>

Grafica 3.- Producción de carnes en México



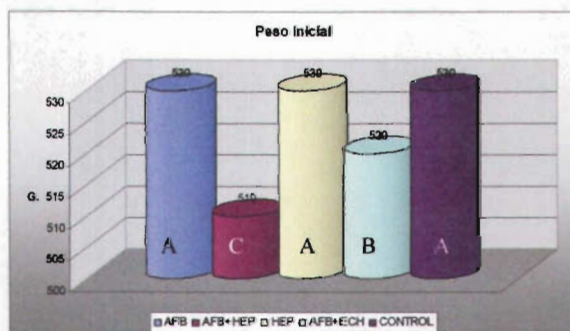
Lastra, M. J. 2000. La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000. Dirección general de ganadería o del centro de estadística agropecuaria. <http://www.sagarpa.gob.mx>

Grafica 4.- Demanda de granos forrajeros y pastas.



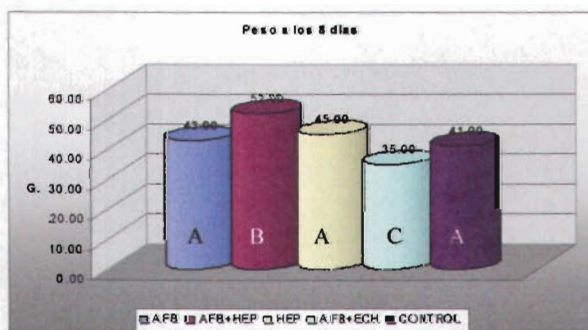
Lastra, M. J. 2000. La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000. Dirección general de ganadería o del centro de estadística agropecuaria: <http://www.sagarpa.gob.mx>

Grafica 5.- Peso promedio de las aves al día 1 del experimento en gramos.



Literales diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

Grafica 6.- Peso promedio de las aves a los 8 días de edad en gramos.



Literales diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

Grafica 7.- Peso promedio de las aves a los 15 días de edad en gramos.



Literales diferentes indican diferencia estadística ($p > 0.05$)

Grafica 8.- Peso promedio de las aves a los 22 días de edad en gramos.



Literales diferentes indican diferencia estadística ($p > 0.05$)

Grafica 9.- Peso promedio de las aves a los 29 días de edad en gramos.

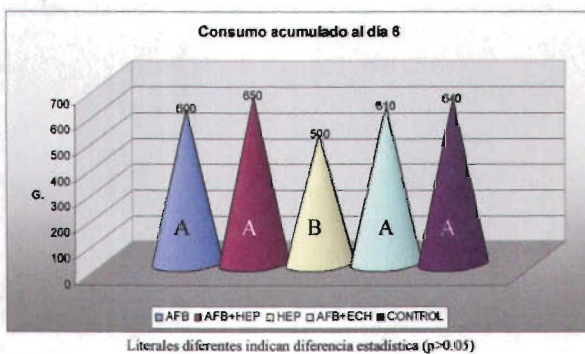


Literales diferentes indican diferencia estadística ($p > 0.05$)

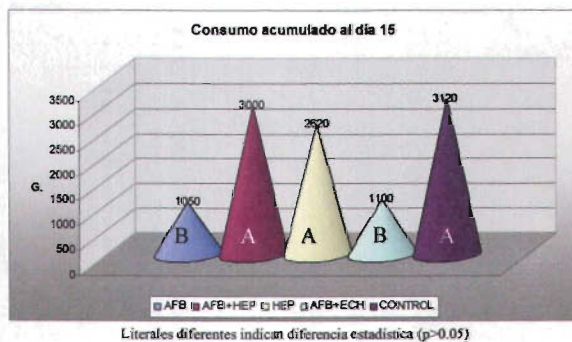
Grafica 10.- Peso promedio de las aves a los 36 días de edad en gramos.



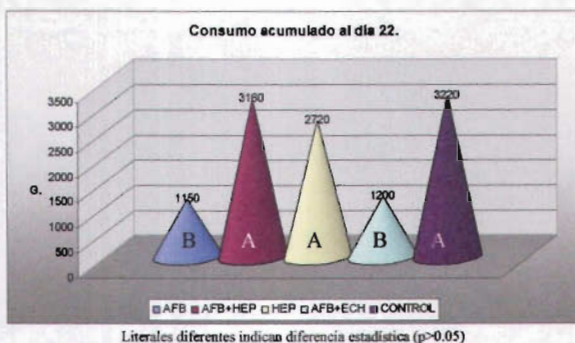
Grafica C-1.- Consumo de alimento acumulado día 8 en gramos.



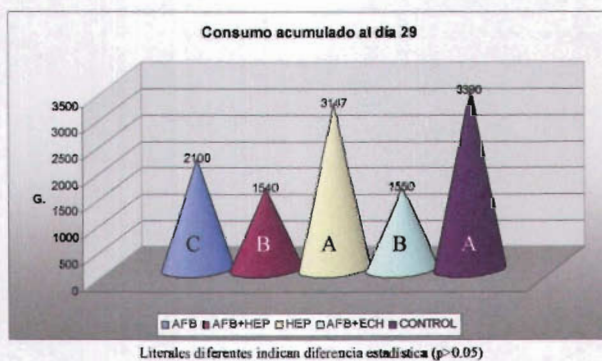
Grafica C-2.- Consumo de alimento acumulado día 15 en gramos.



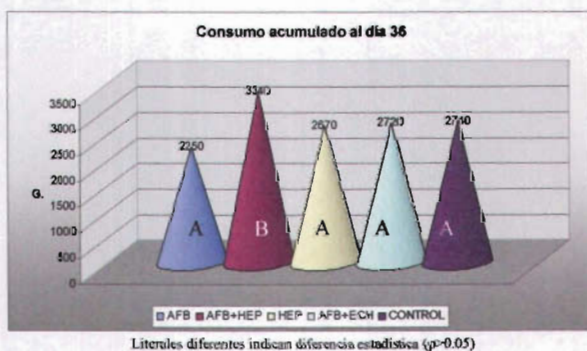
Grafica C-3.- Consumo de alimento acumulado día 22 en gramos.



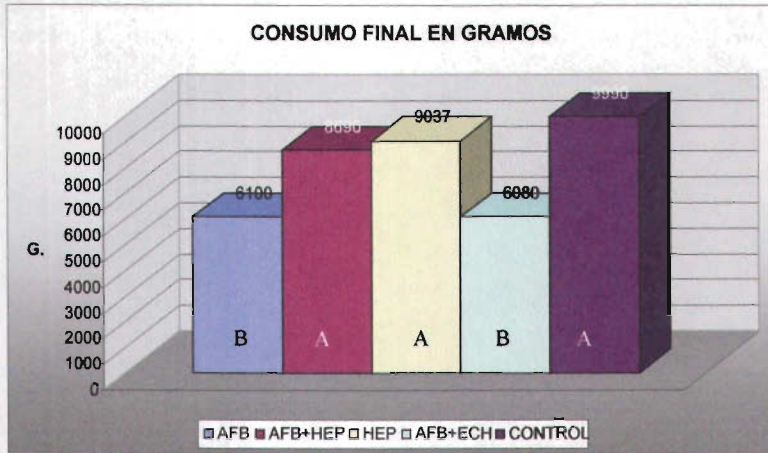
Grafica C-4.- Consumo de alimento acumulado día 29 en gramos.



Grafica C-5.- Consumo de alimento acumulado día 36 en gramos.

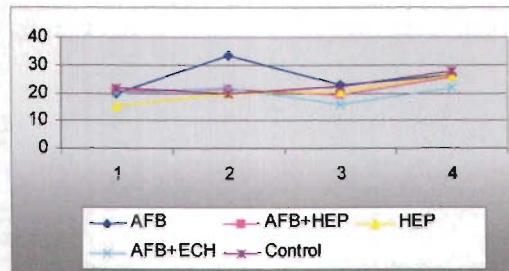


Grafica C-6.- Consumo de alimento total al final del experimento en gramos.



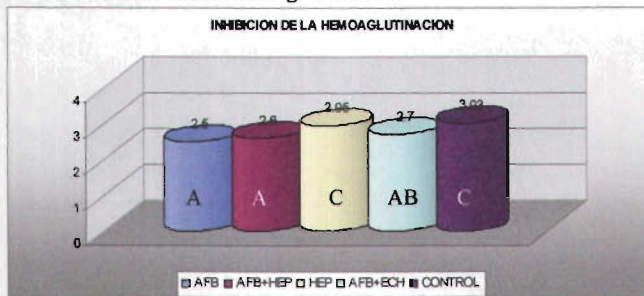
Literales diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

Grafica C-7.- Hematocrito.



* Sin nivel de significancia

Grafica C-8.- Inhibición de la hemoaglutinación.



Literales diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

10.3.- Tablas

Tabla 1.- Tipos Ecológicos de Hongos

CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS EN BASE A SU CRECIMIENTO

Tipo de Hongo	HR	Temperatura de proliferación	O2 / CO2	Sustrato	Hongo
Campo	> 95%	Baja	Aerobia	Fitopatógeno plantas vivas	<i>Fusarium</i> <i>Alternaria</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Cladosporium</i> <i>Helminthosporium</i>
Almacén	< 95 %	20 – 25 °C	Anaerobia facultativa	Material fisiológicamente inactivo	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>

Tabla 2.- Agrupación de los *Aspergillus* más importantes¹³⁸

Sección	Grupo	Metula	Vesícula	Conidioforos	Otros
<i>Flavi</i>	<i>A. flavus</i>	Verde, pardo	Si/no	Rugoso	Esclerocio
<i>Fumigati</i>	<i>A. fumigatus</i>	Verde azulado	No	Espatulada liso	
<i>Fumigati</i>	<i>A. Fumigatus</i>	Verde azul	No	lisos	

Tabla 3.- Toxinas actualmente encontradas y su hongo productor¹³⁹

Micotoxina	Hongo Productor
Ácido ciclopiazónico	<i>Aspergillus caelatus</i> B.W.Horn <i>Aspergillus flavus</i> Link <i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx, <i>Penicillium viridicatum</i> Westling.
Ácido penicílico	<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm

	<i>Aspergillus sclerotiorum</i> Huber <i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx.
Ácido secalónico D	<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka <i>Penicillium oxalicum</i> Currie & Thom
Ácido tenuazónico	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.:Fr.) Keissl. <i>Alternaria solani</i> Sorauer <i>Phoma sorghina</i> (Sacc.) Boerema
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> Link <i>Aspergillus nomius</i> Kurtzman <i>et al.</i> <i>Aspergillus parasiticus</i> Speare
Alcaloides del ergotismo	<i>Claviceps purpurea</i> (Fr.) Tul. <i>Neotyphodium coenophialum</i> (Morgan Jones & Gams) Glenn, <i>Neotyphodium lolii</i> (Latch, Christensen & Samuels) Glenn, Bacon & Hanlin
Altenueno	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.:Fr.) Keissl.
Alternariol	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.:Fr.) Keissl. <i>Alternaria solani</i> Sorauer
Citocalasinas	<i>Aspergillus clavatus</i> Desm. <i>Phoma herbarum</i> Westend.
Cicloclorotina	<i>Penicillium islandicum</i> Sopp
Citrinina	<i>Aspergillus terreus</i> Thom <i>Monascus ruber</i> Tiegh. <i>Penicillium citrinum</i> Thom <i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx
Citroviridina	<i>Aspergillus terreus</i> Thom <i>Eupenicillium ochrosalmoneum</i> DB Scott & Stolk <i>Penicillium citreonigrum</i> Dierckx
Desoxinivalenol	<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe <i>Fusarium poae</i> (Peck) Wollenw. <i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb.
Diacetoxiscirpenol	<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc. <i>Fusarium semitectum</i> Berk. & Ravenel <i>Fusarium sambucinum</i> Fuckel
Eslaframina	<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid.
Esporidesmina	<i>Pithomyces chartarum</i> (Berk. & Curt.) M.B. Ellis
Esterigmatocistina	<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tirab. <i>Drechslera sorokiniana</i> (Sacc.) Subram. & Jain <i>Emericella rugulosa</i> (Thom et Raper) Benajmin <i>Eurotium repens</i> de Bary

Fumitremórgenos	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen. <i>Neosartorya fischeri</i> (Wehmer) Malloch & Cain
Fumonisinás	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler f., sp. <i>lycopersici</i> <i>Fusarium fujikuroi</i> Nirenberg <i>Fusarium verticilloides</i> (Sacc.) Nirenberg
Gliotoxina	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.
Griseofulvina	<i>Penicillium aethiopicum</i> Frisvad <i>Penicillium canescens</i> Sopp <i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx
Luteoskirina	<i>Penicillium islandicum</i> Sopp
Moniliformina	<i>Fusarium acuminatum</i> Ellis & Everh. <i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc. <i>Fusarium fujikuroi</i> Nirenberg
Neosolaniol	<i>Fusarium acuminatum</i> Ellis & Everh. <i>Fusarium chlamidosporum</i> Wollenw. & Reinking
Nivalenol	<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe <i>Fusarium poae</i> (Peck) Wollenw.
Ocratoxina A	<i>Aspergillus alutaceus</i> Berk & M.A. Curtis (= <i>A. ochraceus</i> Wilhelm) <i>Aspergillus alliaceus</i> Thom & Church <i>Aspergillus melleus</i> Yukawa <i>Aspergillus niger</i> Tiegh.
Patulina	<i>Aspergillus clavatus</i> Desm. <i>Byssochlamys fulva</i> Olliver & G Sm. <i>Penicillium roqueforti</i> Thom <i>Penicillium vulpinum</i> (Cooke & Masee) Seifert & Samson
Penitrem A	<i>Penicillium canescens</i> Sopp <i>Penicillium crustosum</i> Thom
Psoralenos	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary
Rizonin A	<i>Rhizopus microsporus</i> Tiegh.
Roridinas	<i>Myrothecium roridum</i> Tode ex Fr.
Rubratoxina B	<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll
Roquefortina C	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx <i>Penicillium griseofulvum</i> Dierckx <i>Penicillium roqueforti</i> Thom
Satratoxinas	<i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb. ex Link) Hughes (= <i>S. atra</i> Corda) <i>Memnoniella echinata</i> (Riv.) Galloway
Territrems	<i>Aspergillus terreus</i> Thom
Toxina PR	<i>Penicillium roqueforti</i> Thom
Toxina T-2	<i>Fusarium acuminatum</i> Ellis & Everh.

Tricotecina	<i>Trichothecium roseum</i> (Pers.) Link
Verrucarinas	<i>Myrothecium verrucaria</i> (Alb. & Schw.) Ditm. ex Fr.
Verruculógeno	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen. <i>Neosartorya fischeri</i> (Wehmer) Malloch & Cain <i>Penicillium paxilli</i> Bainier
Viomelleina	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx <i>Penicillium viridicatum</i> Westling
Xantomegnina	<i>Eupenicillium javanicum</i> (JFH Beyma) Stolk & DB Scott <i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx
Zearalenona	<i>Fusarium culmorum</i> (W.G. Smith) Sacc. <i>Fusarium graminearum</i> Schwabe.

Tabla 4.-Temperatura y aw exigidas para el desarrollo de algunos hongos y para la producción de algunas micotoxinas.¹⁴⁰

Mohos	Crecimiento		Micotoxinas	Producción	
	Temp.°C	Aw		Temp.°C	Aw
<i>Aspergillus flavus</i>	10	0,78	Aflatoxinas	10-25	0,83
<i>Aspergillus clavatus</i>	10	0,85	Patulina	12	0,99
<i>Aspergillus ochraceus</i>	10-12	0,77	Ochratoxinas	12	0,99
<i>Penicillium expansum</i>	0	0,85	Patulina	0-24	0,99
<i>Penicillium cyclopium</i>	0	0,82	Ocratoxinas	4-31	0,90

Lucas V. E., Aspectos generales de las micotoxinas, Evaluación según el codex alimentarius. CX/AL 02/21

Tabla 5.-Relación entre la humedad de varios cereales y semillas y las diferentes HR a 25-30° C.¹³⁸

HR %	Maíz Trigo, Sorgo	Soja Integral	Girasol Integral
65	12,5-13,5	11,5	8,5
70	13,5-14,5	12,5	9,5
75	14,5-15,5	13,5	10,5
80	15,5-16,5	16,0	11,5
85	18,0-18,5	18,0	13,5

Lucas V. E., Aspectos generales de las micotoxinas, Evaluación según el codex alimentarius. CX/AL 02/21

Tabla 6.-Producción de aflatoxina (ppm) por el *Aspergillus sp* en diversas semillas.¹³⁸

Semilla	NRRL 3000	NRRL 2999	NRRL 3145
Cacahuete	107	104,0	8,50
Soja	19	2,8	0,06
Maíz	53	47,0	5,50
Trigo	72	19,0	7,10
Arroz	107	185,0	10,60
Sorgo	72	88,0	57,60

Lucas V. E., Aspectos generales de las micotoxinas, Evaluación según el codex alimentarius. CX/AL 02/21

Tabla 7.- Peso Inicio del experimento.

	DÍA 0				
	AFB	AFB+HEP	HEP	ECH+AFB	CONTROL
Peso de tratamiento	530	510	530	520	530
Peso promedio	35.33	34.00	35.33	34.67	35.33
Literales	A	C	A	B	A

Literales diferentes indican diferencia estadística (p>0.05)

Tabla 8.-Peso a los 8 días.

	DÍA 8				
	AFB	AFB+HEP	HEP	AFB+ECH	CONTROL
Peso promedio por tratamiento	43.00	52.00	45.00	35.00	41.00
Ganancia total de peso	7.67	18.00	9.67	0.33	5.67
Ganancia diaria de peso	1.10	2.57	1.38	0.05	0.81
Literales	A	B	A	C	A

Literales diferentes indican diferencia estadística (p>0.05)

Tabla 9.-Peso a los 15 días.

DIA 15					
	AFB	AFB+HEP	HEP	AFB+ECH	CONTROL
Peso promedio por tratamiento	45.29	46.07	51.67	44.00	58.36
Ganancia total de peso	2.29	-5.93	6.67	9.00	17.36
Ganancia diaria de peso	0.33	-0.85	0.95	1.29	2.48
Literales					
Literales diferentes indican diferencia estadística (p>0.05)					

Tabla 10.- Peso a la 22 días.

DIA 22					
	AFB	AFB+HEP	HEP	AFB+ECH	CONTROL
Peso promedio por tratamiento	58.64	54.31	71.08	54.38	76.86
Ganancia total de peso	13.36	8.24	19.42	10.38	18.50
Ganancia diaria de peso	1.91	1.18	2.77	1.48	2.64
Literales	A	A	B	A	B
Literales diferentes indican diferencia estadística (p>0.05)					

Tabla 11.- Peso a la 29 días.

DIA 29					
	AFB	AFB+HEP	HEP	AFB+ECH	CONTROL
Peso promedio por tratamiento	79.92	72.00	98.25	75.25	105.69
Ganancia total de peso	21.28	17.69	27.17	20.87	28.84
Ganancia diaria de peso	3.04	2.53	3.88	2.98	4.12
Literales	A	A	B	A	B
Literales diferentes indican diferencia estadística (p>0.05)					

Tabla 12.- Peso a los 36 días.

DIA 36					
	AFB	AFB+HEP	HEP	AFB+ECH	CONTROL
Peso promedio por tratamiento	96.00	88.42	121.83	96.17	130.38
Ganancia total de peso	16.08	16.42	23.58	20.92	24.69
Ganancia diaria de peso	2.30	2.35	3.37	2.99	3.53
Literales	A	A	B	A	B

Literales diferentes indican diferencia estadística (p>0.05)

Tabla 13.- Hematocrito

	AFB	AFB+HEP	HEP	AFB+ECH	CONTROL
Hematocrito Día 15					
Porcentaje	20	21	15	20	22
Hematocrito Día 22					
Porcentaje	33.6	21.4	19.8	21.6	20
Hematocrito Día 29					
Porcentaje	22.6	19.4	20.2	15.6	22.4
Hematocrito Día 36					
Porcentaje	26.25	25.8	26.4	21.75	28

Sin diferencia significativa

Consumo de alimento acumulado

Tabla	Día	AFB	AFB+HEP	HEP	AFB+ECH	CONTROL
TC 1	8	600	650	500	610	640
Literales		A	A	B	A	A
TC 2	15	1050	3060	2620	1100	3120
Literales		B	A	A	B	A
TC 3	22	1150	3160	2720	1200	3220
Literales		B	A	A	B	A
TC 4	29	2100	1540	3147	1550	3390
Literales		C	B	A	B	A
TC 5	36	2250	3340	2670	2720	2740
Literales		A	B	A	A	A
TC 6	Consumo acumulado al final del experimento (g)	6100	8690	9037	6080	9990
Literales		B	A	A	B	A

Literales diferentes indican diferencia estadística (p>0.05)

11.- Referencia Bibliográfica

- ¹ Lastra, M. J. 2000. La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000. Dirección general de ganadería o del centro de estadística agropecuaria: <http://www.sagar.gob.mx>.
- ² Caballero, J. et al. 2001. Niveles críticos de aflatoxina en muestras de maíz para consumo animal en lima metropolitana. Rev. Inv. Vet. Vol. 12. No. 1.
- ³ Velásquez, E. 2000. Estudio control y prevención de micotoxinas en alimentos concentrados para aves y cerdos CENIAP-FONAIAP.
- ⁴ Gimeno, A. 2001. Revisión genérica del problema de los hongos y de las micotoxinas en la alimentación animal. <http://www.specialnutrients.com> Portugal.
- ⁵ Arango M. 2002. Micotoxinas y salud humana. Universidad de caldas. Ed. Manizales. Colombia.
- ⁶ Deborah C. 2000. Micotoxicosis. Revista Plan Agropecuario. Enero-Febrero. p 45-50.
- ⁷ Carrillo L. 2002. Orientación Biológica. UNAS. Vol. 16. No. 5. ppp 987.
- ⁸ Rivera, J. Micotoxinas de importancia en producción animal. Laboratorio sedicom vet maracay <http://www.sedicomvet.com.vet>. EU.
- ⁹ Lucas V. E., Aspectos generales de las micotoxinas, Evaluación según el codex alimentarius. CXJAL 02/21.
- ¹⁰ Salvador Badui. 1999. Química de los Alimentos. Editorial Pearson Educación. 3ª edic.
- ¹¹ Peña. 2002. Algunas consideraciones sobre la contaminación por micotoxinas en alimentos agropecuarios en México y en el mundo. Revisión. México.
- ¹² Michael et al. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. Vol. 43. pp.141-158.
- ¹³ Jiujiang et al. 2000. Cloning and characterization of *avfA* and *omtB* genes involved in aflatoxin biosynthesis in three *Aspergillus* species. Gene Vol. 248. pp.157-167.
- ¹⁴ Michael et al. 2000. The use of reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for monitoring aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* 439. International Journal of Food Microbiology. Vol. 56 pp. 97-103.
- ¹⁵ <http://www.merck.com>.
- ¹⁶ *Aspergillus* spp. (described by Micheli ex Link in 1809) <http://www.merck.com>.
- ¹⁷ Gimeno, A. Ligia M. M. 2000. Problemas e micosis y micotoxicosis en pollos. Portugal.
- ¹⁸ Almodena A. et al. 2001. Hongos y micotoxinas. Madrid.
- ¹⁹ Rivera, J. Micotoxinas de importancia en producción animal. Laboratorio sedicom vet maracay <http://www.sedicomvet.com.vet>. EU.
- ²⁰ González, et al. 2001. Análisis de micotoxinas no instituto biológico de 1989-1999, Centro de sanidad animal. pp-15-19 Brasil.
- ²¹ Gaggiotti, M. et al. 2001. Conoce las micotoxinas. Infotambó, No. 145. p 60.
- ²² Kurts, S. 2000. Micotoxinas peligro ocultos en los alimentos. Programa regional post-cosecha, Nicaragua.
- ²³ Calnek, W. 1991. Disease of poultry. Edit Worfe publishing LTD. Canada. p. 884-892.
- ²⁴ Ferber, P. et al. 1997. Detection of aflatoxigenic fungi in figs by a PCR reaction. Federal research centre for nutrition Engesserstr 20 Karlsruhe Germany.
- ²⁵ Mei-chin, Y. et al. 1999. Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* Species International Journal of Food Microbiology Vol. 49. pp. 49-56.
- ²⁶ Shih-ming Tsai Road, Taichung, 1998. Aflatoxin toxic live. received in revised form 5 January 1999; accepted 6 April 1999.
- ²⁷ Kusumoto et. al. 1998. Transcript of a homolog of *aflR*, a regulatory gene for aflatoxin synthesis in *Aspergillus parasiticus*, was not detected in *Aspergillus oryzae* strains. FEMS Microbiology Letters. No. 169. pp. 303-307.

- ²⁸ Quezada, et. al. 2000. Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 125. pp 265-272.
- ²⁹ Tsa, et al. 1999. Detecting *Aspergillus parasiticus* in cereals by an enzyme-linked immunosorbent assay. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 50 pp.181-189.
- ³⁰ Velásquez C. Análisis de micotoxinas aminopolihidratadas. Ed Servei de publicacions universitat de Lleiva España. pp. 1-70.
- ³¹ Ramos a.j. et al. 1997. Prevention of aflatoxicosis in faro animals by means hidrataded sodium calcium aluminosilicated addition to feedstuffs. *Animal feed science and tecnologia* . Vol . 65. pp. 197-206.
- ³² Braser. G. et al. 1998. Amaranth grain as substrate for aflatoxin and zearalenone production at different water activity levels. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 42. pp. 57-61.
- ³³ Mikhail F. et al. 1999. Quantitation and mapping of aflatoxin B1-induced DNA damage in genomic DNA using aflatoxin B1-8,9-epoxide and microsomal activation systems. *Mutation Research*. Vol. 425. pp 205-211
- ³⁴ Woloshuk c.p., Prieto R. 1998. Genetic organization and fuction to the aflatoxin b1 biosynthetic genes. *FEMS microbiology letters*. Vol. 160. pp. 169-176.
- ³⁵ Elizalde-Gonzalez et al.1998. Stability and determination of aflatoxins by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *Journal of Chromatography A*. Vol. 828. pp. 439-444.
- ³⁶ Bata a et al. 1999. Detoxification of micotoxin-contaminated food by microorganisms. *Trends in Food Science & Technology*. Vol.10. pp. 223-228.
- ³⁷ Huwig A. et al. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*. Vol. 122 pp. 179-188.
- ³⁸ Tanaka et al. 2000. Simultaneous determination of trichothecene mycotoxins and zearalenone in cereals by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol. 882. pp.23-28.
- ³⁹ Jaimez et al. 2000. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. *Journal of Chromatography A*. Vol. 882. pp. 1-10.
- ⁴⁰ Turner et al. 1999. umonisin contamination of food: progress in development of biomarkers to better assess human health risks. *Mutation Research*. Vol.443 pp. 81-93.
- ⁴¹ Theumer et al. 2002. Immunobiological effects of AFB1 and AFB1_/FB1 mixture in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. *Toxicology*. Vol. 00. pp. 1_/12.
- ⁴² Leming et al. 1998. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. *Journal of Chromatography A*, Vol. 815. pp. 3-20.
- ⁴³ Ismail Y. et al. 1997. Aflatoxin in food an feed: occurrence, legislation and inactivation by fisical methods sweden food chemistry, vol. 59 . pp. 57-67 - 1997.
- ⁴⁴ D' mello J. et al. 1997. Mycotoxins. *Animal feed science technology*. Vol.69. pp. 155-166.
- ⁴⁵ Guzman de peña D. 2001. Mitos y realidades de las aflatoxinas. *Avance y perspectiva*. No. 20 pp 415-418.
- ⁴⁶ Anderson, R. A. 1983. Detoxification of aflatoxin-contaminated com. In: *Aflatoxin and Aspergillus flavus in com*. Craftmaster Printers, Inc. Opelika, Alabama. p.87-90. EU.
- ⁴⁷ FAO/OMS/PNUMA. 1999. Tercera conferencia internacional mixta sobre micotoxinas. *Prevención y descontaminación de micotoxinas*. Tunes.
- ⁴⁸ Peña s. 2001. Algunas consideraciones sobre la contaminación por micotoxinas en alimentos agropecuarios en México y en el mundo.
- ⁴⁹ Shane. 2001. Mycotoxins- problems and solutions
- ⁵⁰ McEvoy et al. 2002. Contamination of animal feedingstuffs as a cause of residues in food: a review of regulatory aspects, incidence and control. *Analytica Chimica Acta*. Vol. 473. pp. 3-26.
- ⁵¹ Jaimez et al. 2000. Laboratorio de Higiene e Inspeccion de Alimentos . Departamento de Quymica Análítica . Nutricion y Bromatología. *Journal of Chromatography A*. Vol. 882. pp. 1-10.
- ⁵² Wang et al. 1999. DNA damage by mycotoxins. *Mutation Research*. Vol 424. pp. 167-181.

- ⁵³ Lin et al. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. *Journal of Chromatography A*, Vol. 815. pp. 3–20.
- ⁵⁴ Vincelli et al. 1997. Aflatoxin in food an feed: occurrence an legislation and activation by physical methods ismail y. *food chemistry*. Vol 59 No. 1 pp 57 – 67.
- ⁵⁵ Smith et al. 1994. Dietary hydrated sodium calcium aluminosilicate reduction of aflatoxins M₁ residue in dairy goat milk and effects on milk production and components. *Journal of Animal Science*. Vol. 72. pp. 677-682.
- ⁵⁶ Carrillo. L. 2002. *Microbiología agrícola*. España.
- ⁵⁷ Jaimez et al. 2000. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 882 pp. 1–10.
- ⁵⁸ Zeringue et al. Effects of volatile aldehydes from *Aspergillus*-resistant varieties of corn on *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin biosynthesis. *Toxicon*. Vol. 38 pp. 1215-1223.
- ⁵⁹ Jaimez et al. 2000. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 882 pp. 1–10.
- ⁶⁰ Sumano. H. 1997. *Farmacología Veterinaria*. Mc Graw Hill Interamericana. Segunda Edición. México
- ⁶¹ Salvat. 1997. *diccionario terminológico de ciencias medicas*. Salvat editores. 12 edicion. México.
- ⁶² Gimeno. A. 1999. Residuos de micotoxinas en leche, huevos y tejidos comestibles de aves, cerdos y rumiantes. USA. www.mycotoxin.com.
- ⁶³ Alvarez et al. 2000. Aductos-adn-aflatoxina como biomarcadores de exposición en grupos de riesgo de cáncer de higado. *Rev Cubana Oncol*. Vol 19. pp. 35-39
- ⁶⁴ Clifford et al. 1966. Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell. *Nature*. Vol. 209. pp. 312-315.
- ⁶⁵ Ellis et al . 1991. Aflatoxins in food: Occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. *Food science and nutrition*. Vol. 30 pp. 403-439.
- ⁶⁶ Betina V. 1989. Biological aspects of micotoxinas. *Elsiever*. Cap. 3 pp. 42,50,52,101,433.
- ⁶⁷ Jia-Sheng et al. 1999. DNA damage by mycotoxins. *Mutation Research*. Vol. 424. pp. 167–181.
- ⁶⁸ Eaton et al. 1994. Biotransformation of aflatoxins. In: *The toxicology of aflatoxins. Human Health, Veterinary and Agricultural Significance*. pp. 45-71.
- ⁶⁹ Bennett. et al. 2003. Mycotoxins. *Clinical microbiology Review*. vol. 16. no. 3. pp. 497–516.
- ⁷⁰ Gimeno, A. 1981. *Curso Teórico Practico sobre Micotoxinas y Hongos Toxicogénico*. pp 129-154. Portugal.
- ⁷¹ Kurt et al. 2000. *Micotoxinas peligros ocultos en los alimentos Programa Regional Postcosecha*. Nicaragua.
- ⁷² Jaramillo M. *Nutrición-Micotoxicología*. E.U
- ⁷³ Müller, H. M. 1984. A survey of methods of decontaminating mycotoxins. *Animal Research and Development* Vol. 19 pp. 7-37.
- ⁷⁴ Jia-Sheng et al. 1999. DNA damage by mycotoxins. *Mutation Research*. Vol. 424. pp. 167–181.
- ⁷⁵ Alvarez et al. 2000. Aductos-adn-aflatoxina como biomarcadores de exposición en grupos de riesgo de cáncer de higado. *Rev Cubana Oncol*. Vol 19. pp. 35-39.
- ⁷⁶ Shrirang et al. 1997. Ascorbic Acid Protects Guinea Pigs from Acute Aflatoxin Toxicity. *Toxicology and applied pharmacology* Vol. 143. pp. 429–435.
- ⁷⁷ Betina V. 1989. Biological aspects of micotoxinas. *Elsiever*. Cap. 3 pp. 42,50,52,101,433.
- ⁷⁸ Coulombe, R. A. 1994. Nonhepatic disposition and effects of aflatoxin B₁. *The Toxicology of Aflatoxins*. Academic Press. pp. 89-101 EU.
- ⁷⁹ Quezada. et, al. 2000. Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 125. pp 265-272.
- ⁸⁰ Deborah, C. 2000. *Micotoxicosis*. *Revista Plan Agropecuario*. Enero-Febrero. p 45-50.
- ⁸¹ Lucas, V. 2001. Aspectos generales de las micotoxinas, Evaluación según el codex alimentarius. CX/AL 02/21.

-
- ⁸² Ferber, P. et al. 1997. Detection de aflatoxigenic fungi in figs by a PCR reaction. Federal research centre for nutrition Eengesserstr 20 Karlsruhe. Germany.
- ⁸³ Mei-chin, Y. et al. 1999. Inhibitory effect of seven Allium plants upon three Aspergillus Species International Journal of Food Microbiology. Vol. 49. pp. 49–56
- ⁸⁴ Kusumoto. 1998. Transcript of a homolog of aflR, a regulatory gene for aflatoxin synthesis in Aspergillus parasiticus, was not detected in Aspergillus oryzae strains. FEMS Microbiology Letters. Vol. 169 pp. 303-307.
- ⁸⁵ Quezada. et al. 2000. Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 125. pp 265-272.
- ⁸⁶ Guo-Jane et al. 1999. Detecting Aspergillus parasiticus in cereals by an enzyme-linked immunosorbent assay. International Journal of Food Microbiology. Vol. 50. pp. 181–189.
- ⁸⁷ Velásquez C. Analisis de micotoxinas aminopolihidratadas. Servei de publicacions universitat de Lleiva salamanca. 1-70 pp. España
- ⁸⁸ Ramos et al. 1997. Prevention of aflatoxicosis in faro animals by means hidrataded sodium calcium aluminosilicated addition to feedstuffs. Animal feed science and tecnologia . Vol. 65. pp. 197-206.
- ⁸⁹ Bresler et al. 1998. Amaranth grain as substrate for aflatoxin and zearalenone production at different water activity levels. International Journal of Food Microbiology Vol. 42 pp. 57–66.
- ⁹⁰ Gimeno A. 2000. Revisión genérica del problema de los hongos y de las micotoxinas en la alimentación animal. España.
- ⁹¹ Jia-Sheng et al. 1999. DNA damage by mycotoxins. Mutation Research. Vol. 424. pp. 167–181.
- ⁹² Rajmon et al. 2001. Combined effects of repeated low doses of aflatoxin B1 and T-2 toxin on the Chinese hamster. Vet. Med. Vol. 46. pp. 301–307.
- ⁹³ Ihekumwumere et al. 2003. Physiological Responses of Broiler Chickens to Quantitative Water Restrictions: Haematology and Serum Biochemistry. International Journal of Poultry Science. Vol.2 pp. 117-119.
- ⁹⁴ Kanashiroet al. 2001. Influência da administração contínua de probiótico a frangos de corte sobre atividades enzimáticas séricas e concentração de colesterol sérico. Arq. Inst. Biol. Vol. 68. No.2, pp.11-17.
- ⁹⁵ Ogus et al. 2002. Evaluation of biochemical charactes of broiler chickens during dietary aflatoxin 50 and 100 ppb and clinoptilolite exposure. Research a veterinary science Vol. 73. pp. 101 -103.
- ⁹⁶ Jaimez et al. 2000. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluourescence detection in food analysis. Journal of Chromatography A, 882 pp. 1–10.
- ⁹⁷ Tsai et al. 1999. Detecting Aspergillus parasiticus in cereals by an enzyme-linked immunosorbent assay. International Journal of Food Microbiology. Vol. 50. pp.181–189.
- ⁹⁸ Tanaka et al. 2000. Short communication simultaneous determination of trichothecene mycotoxins and zearalenone in cereals by gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Chromatography A, Vol. 882. pp.23–28.
- ⁹⁹ Lin et al. 1998. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. Journal of Chromatography A, Vol. 815. pp. 3–20.
- ¹⁰⁰ Otta et al. 2000. Determination of aflatoxins in food by overpressured-layer chromatography. Journal of Chromatography A, Vol. 882. pp. 11–16.
- ¹⁰¹ Christensen et al. 1969. The role of storage fungi in the loss of quality. In: Grain Storage. University of Minnesota pp.153 USA
- ¹⁰² Moreno, M. E. 1996. El maíz y las aflatoxinas en: La industria de la masa y la tortilla: desarrollo y tecnología. PUAL-UNAM. Pp.139-145.
- ¹⁰³ Diener et al. 1966. Aflatoxin production by isolates of Aspergillus flavus. Phytopathology. Vol. 56. pp. 1390-1393.
- ¹⁰⁴ Esquivel et al. 2000. Respuesta al estrés físico y la hepatoprotección continua en pollos. Revisión. Argentina
- ¹⁰⁵ Térreas J. et al. 2001. Respuesta a una maniobra inductora de estrés y al tratamiento con un producto hepato protector en animales de engorde. Vol. 32. pp. 195-200

-
- ¹⁰⁶ Tragani et al. 1984 Anti-inflammatory activity of Echinacea angustifolia fractions separated on the basis of molecular weight. *Infect Immun* Vol. 46. pp. 845-49
- ¹⁰⁷ Gaisbauer et al. 1987. The effect of Echinacea purpurea Moench on phagocytosis in granulocytes measured by chemiluminescence. *Onkologie* Vol.10. pp. 27-33
- ¹⁰⁸ Roesler et al. 1991. Application of purified polysaccharides from cell cultures of the plant Echinacea purpurea to mice mediates protection against systemic infections with *Listeria monocytogenes* and *Candida albicans*. *Int J Immunopharmacol.* Vol. 13. pp.931-41
- ¹⁰⁹ Bauer et al. 1991. Derivatives from Echinacea simulata and E. paradoxa roots. *Planta Med.* Vol.57 pp. 447-9.
- ¹¹⁰ Coeugnet et al. 1988. Immunomodulation with *Viscum album* and Echinacea purpurea extracts. *Arzneimittelforschung* Vol. 38. pp. 276-81.
- ¹¹¹ Heinzer et al. 1990. The classification of therapeutically used species of the genus Echinacea *Arzneimittelforschung* Vol. 40. pp. 594-598
- ¹¹² Orinda et al. 1989. Effect of echinacin on phagocytosis and natural killer cells. *Natl Cancer Inst.* Vol.3 pp. 669-75.
- ¹¹³ Stimpel. 1991. Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant Echinacea purpurea. *Irzneimittelforschung.* Vol. 41. pp. 141-147.
- ¹¹⁴ Wacker. 1978. Virus-inhibition by echinacea purpurea. *J Pharm Pharmacol.* Vol 39. pp. 567-9.
- ¹¹⁵ Med Chem. 1978. Identification and synthesis of an oncolytic hydrocar bon from American coneflower roots. *Planta Med.* Vol. 978. pp. 89-102.
- ¹¹⁶ Peña et al. 1990. Efecto tóxico de las aflatoxinas en la dieta. *Ciencia y Desarrollo.* Vol. 16. pp. 61-72.
- ¹¹⁷ Betina, V. 1989. Biological aspects of micotoxinas. Chap.3 Chemical, Biological and Environmental Aspects. *Elsiever.* p. 42, 50, 52, 101, 433. U.S.A
- ¹¹⁸ Anderson et al. 1983. Detoxification of aflatoxin-contaminated com. In: *Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn.* Craftmaster Printers, Inc. Opeika, pp.87-90. USA.
- ¹¹⁹ Karmen et al. 1955. *Aperguillus.* *Journal de Clínica Invet.* Vol. 34. pp. 126.
- ¹²⁰ 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. Pp.16.
- ¹²¹ Gómez-Gómez et al. 2003 Sinopsis de pruebas estadísticas no paramétricas. Cuándo usarlas?. *Revista mexicana de pediatría.* Vol. 70. pp. 91-99.
- ¹²² Ganog, W. 1995. *Fisiología Medica.* Ed. Manual moderno. Pp.345-348. México.
- ¹²³ Gimeno, A. 2000. Problemas de micosis y micotoxicosis en pollos. *Congreso nacional de técnicas alimenticias.* Portugal.
- ¹²⁴ Térreas J. et al. 2001. Respuesta a una maniobra inductora de estrés y al tratamiento con un producto hepato protector en animales de engorde. Vol. 32. pp. 195-200
- ¹²⁵ Hutchens . 1999. *Indian Herbalogy of North America.* pp. 113-114, 123, 126, 164, 250.USA
- ¹²⁶ Sandoval, G. et al. 1999. Respuesta al estrés físico y hepatoprotección continúa en pollos. *Arch. Zootec.* Vol. 48. pp 395-404
- ¹²⁷ Miller R.A. 1998. *The potencial of herbs as a Crash.* Acres. USA.
- ¹²⁸ López B. 1991. Jornada sobre herbolaria medicinal veterinaria. División de educación continua de fisiología y farmacología Facultad de medicina veterinaria y zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México.
- ¹²⁹ Sandoval, G. et al. 1999. Respuesta al estrés físico y hepatoprotección continúa en pollos. *Arch. Zootec.* Vol. 48. pp 395-404.

-
- ¹³⁰ Sandoval, G. et al. 1999. Respuesta al estrés físico y hepatoprotección continúa en pollos. *Arch. Zootec. Vol. 48. pp 395-404.*
- ¹³¹ Gimeno A. 2000. Problemas de micosis y micotoxicosis en pollos. Portugal.
- ¹³² Gwyther, M.J. 1992. Avances en la investigación de vitaminas para aves y sus aplicaciones prácticas. *Avicultura Profesional. Vol. 9. pp. 168-171.*
- ¹³³ Raju et al. 2000. Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, suerum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ocharatoxin and T-2 toxin). *British Poultry Science. 41:640-650 pp UK.*
- ¹³⁴ Simon. J. 1984. *Herbs: An Indexed Bibliography, 1971-1980: The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone.* Archon Books. USA
- ¹³⁵ Ottariano S. 1999. *Medicinal Therapy: A Pharmacist's Viewpoint.* USA
- ¹³⁶ Thomas. J. 1993. *Income Opportunities Special Forest Products: Self-Help Suggestions for Rural Entrepreneurs.* Agriculture Information Bulletin AIB- U.S. Department of Agriculture. USA
- ¹³⁷ Luis C. Y. 2002 *Uso de Echinacea angustifolia y Turnera diffusa como inmunoestimulantes, evaluando los títulos de anticuerpos vacúnales contra Newcastle.* UNAM. México.
- ¹³⁸ Klich y Pitt 1992, Kozakiewicz 1989
- ¹³⁹ Carrillo. 2002 *Microbiología agrícola.* Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu
- ¹⁴⁰ Lucas V. E., Aspectos generales de las micotoxinas, Evaluación según el codex alimentarius. CX/AL 02/21