UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS ENZIMÁTICOS HEPÁTICOS POR LA AFECCIÓN DE AFLATOXINA EN EL POLLO DE ENGORDA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

MICHELLE BERISTAIN BECERRA

ASESOR: MC JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA

COASESOR: MC CAROLINA MORENO RAMOS

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX. 2005

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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

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
P R E S E N T E

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

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

Evaluación de los Parámetros Enzimáticos Hepáticos por Afección de Aflatoxina en el Pollo de Engorda

que presenta la pasante: Michelle Beristain Becerra
con número de cuenta: 40005397-4 para obtener el titulo de :
Médica Veterinaria Zootecnista

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

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 7 de julio de 2005

PRESIDENTE	M.C. Juan Carlos del Río García	
VOCAL	MVZ. Juan Arturo Olivares Díaz	
SECRETARIO	MVZ. Ranulfo Reyes Gama	
PRIMER SUPLENTE	M.C. Juan S. Barrientos Padilla	
SEGUNDO SUPLENTE	M.C. Celso López López	

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

A la UNAM por darme la mejor educación que podría obtener, en la escuela en la que siempre quise estudiar.

A mi asesor MC Juan Carlos del Río y mi coasesora M.C. Carolina Moreno Ramos, por la paciencia, por el cariño y porque a fin de cuentas, gracias a ellos se logró este trabajo.

Al M.V.Z. Carlos García Alcaráz por mostrarme siempre la verdad, pero sobretodo por enseñarme que todo siempre tiene un lado positivo.

A mi familia por su apoyo incondicional y porque sin ustedes, no hubiera llegado hasta aquí.

A Arturo por creer en mí, estar siempre a mi lado y mostrarme a cada momento que cuando se quiere algo en verdad, se logra, sin importar los obstáculos que haya en el camino.

A la Q.M. Ma. Del Carmen García Mijares por hacer que los trámites de titulación no sean tan complicados como parece.

A todas las personas que ayudaron en esta tesis y a las que creen y esperan más de mí.

ÍNDICE

ÍNDICE ____ *1*
RESUMEN ____ *3*
INTRODUCCIÓN ____ *4*
Toxicocinética ____ 9
Toxicodinámica ____ 11
Aflatoxicosis en Pollos ____ 13
Métodos de Análisis: ____ 18
Métodos Descontaminantes ____ 19
Legislación ____ 21
JUSTIFICACIÓN ____ *24*
HIPÓTESIS ____ *24*
OBJETIVOS ____ *25*
MATERIAL Y MÉTODOS ____ *26*
Lugar: ____ 26
Material: ____ 26
Diseño Experimental: ____ 26
Análisis Estadístico: ____ 29
RESULTADOS ____ *30*
Signología: ____ 30
Peso: ____ 30
Hematocrito: ____ 31
Aspartatoaminotransferasa y Alaninaminotransferasa: ____ 32
Pesos Relativos de Hígado y Riñón ____ 33
Pesos Relativos de Bazo y de Bolsa de Fabricio: ____ 34
Hallazgos Morfopatológicos ____ 35

DISCUSIÓN ____ *41*

Peso ____ **41**

Porcentaje de Hematocrito ____ **42**

Aspartatoaminotransferasa ____ **43**

Alaninaminotransferasa ____ **44**

Peso de Hïgado: ____ **45**

Peso de Riñón ____ **48**

Órganos Linfoides (Bazo y Bolsa Cloacal) ____ **50**

CONCLUSIONES ____ *53*

BIBLIOGRAFÍA ____ *55*

APÉNDICE ____ *58*

RESUMEN

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos, de los cuales la Aflatoxina B1 (AFB1) es la más importante debido a sus efectos tóxicos y carcinogénicos. La aflatoxina afecta negativamente el crecimiento, la conversión alimenticia y el consumo de alimento de los pollos (*Gallus domesticus*) principalmente en los animales jóvenes. El órgano mas afectado es el hígado, seguido por el riñón y órganos linfopoyéticos como son el bazo y la bolsa cloacal El presente trabajo se enfocó al estudio de la toxicidad de las aflatoxinas en pollos F-2 con diferentes dosis de AFB1, a 1.5 y 1 mg/kg en el alimento. Las variables estudiadas fueron el peso corporal de los animales, los pesos relativos de los órganos hígado, riñón, bolsa cloacal y bazo, y la concentración enzimática en suero de AST (TGO) y ALT (TGP) que se elevan cuando existe un daño hepático,. Al realizar las necropsias de los animales, se evaluaron las lesiones encontradas. En éste trabajo se observaron cambios en el consumo del alimento y ganancia de peso en el grupo experimental con 1.5 ppm de AFB1, seguido del grupo tratado con 1ppm; el índice de conversión se comportó de manera similar al consumo. El efecto del consumo de aflatoxina sobre los parámetros productivos, la concentración enzimática plasmática y cambios morfológicos se vieron afectados desde los 14 días de consumo de alimento. Sin embargo los valores del hematocrito no se vieron afectados por el consumo de alimento con la aflatoxina

INTRODUCCIÓN

La avicultura ha representado una de las principales actividades del sector agropecuario del país, por la contribución que realiza a la oferta de productos, así como su participación en la balanza comercial, donde los patrones culturales de consumo ha hecho que la carne de pollo sea uno de los principales ejes ordenadores de la demanda y de los precios de las demás carnes. El acelerado desarrollo demográfico, ha propiciado un aumento en la cantidad de productos alimenticios, dentro de los cuales, la producción de carne favorece un crecimiento en la ganadería mexicana, siendo la avicultura una de las de mayor crecimiento. (SAGARPA, 2002).

Así, a medida que aumenta el número de aves, tanto en el aspecto productivo como en el doméstico, el médico veterinario participa con más frecuencia en el cuidado de su salud y con el objeto de llegar a un diagnóstico más exacto y establecer un régimen de tratamiento adecuado, el médico hace uso del laboratorio clínico (4).

La nutrición animal, en gran parte, se basa en el consumo de granos y sus derivados; éstos son cosechados en dos ciclos durante el año bajo condiciones climáticas diversas; por lo tanto, el crecimiento, cosecha y manejo poscosecha varía de zona a zona, lo que afecta la calidad de los productos finales. De acuerdo con los estimados actuales, se han identificado aproximadamente 100,000 especies diferentes de hongos, importantes por generar en los granos y en los animales que los consumen, alteraciones de diversa índole. (16).

Los principales daños que provoca el desarrollo de una invasión fúngica sobre las materias primas y piensos compuestos son:

- Modificación de las características organolépticas del alimento, provocando un rechazo del mismo en el animal.

- Reducción del peso del alimento

- Deterioro y reducción de las características nutritivas del alimento, ya que el hongo se alimenta de los granos y les resta carbohidratos, vitaminas y proteínas, bajando así los parámetros productivos de los animales que consumen dicho alimento.

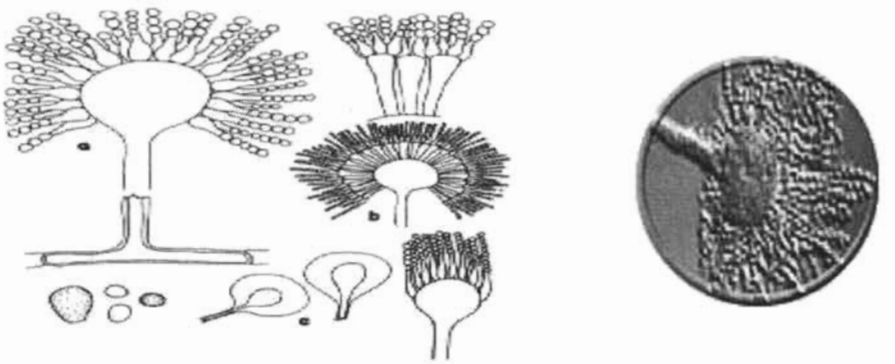
- Segregación masiva de enzimas que provoca reacciones de lisis fuertemente exotérmicas y la presencia de **micotoxinas**.

- Inhalación de los hongos y por lo tanto, neumonías en los animales involucrados.

La FAO determina que el 25% de los granos del mundo están contaminados por hongos, siendo por ésto muy importante prevenir las consecuencias que estos hongos y sus micotoxinas producen en los animales domésticos, que al ser afectados, provocan grandes pérdidas económicas e incluso riesgos a la salud de los consumidores de dichos animales contaminados (7). Se ha estimado que existen aproximadamente 400 especies de hongos con capacidad toxigénica, los cuales producen una o más micotoxinas (1).

En Canadá y Estados Unidos de Norteamérica las micotoxinas más frecuentes son las ocratoxina, vomitoxina y zearalenona, mientras que las aflatoxinas lo son para el Centro y Sudamérica (México, Guatemala, Belice, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Chile, Venezuela, Argentina, Colombia y Brasil) (16).

Las micotoxinas más estudiadas son las aflatoxinas, que constituyen un grupo de metabolitos heterocíclicos sintetizados predominantemente por los hongos como *Aspergillus flavus* tipo Link (figura 1.1) y *Aspergillus parasticus* tipo Speare (10), así como *Penicillium puberulum* (13). Además de estas especies, Ellis et. al. (1991) descubrieron una nueva especie aflatoxigénica denominada *Aspergillus nomius* .



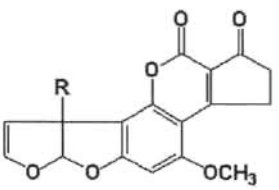
1.1 Estructura esquemática y microscópica de *Aspergillus flavus*.

Las condiciones necesarias para que dichos hongos produzcan las aflatoxinas son temperatura (30 – 35ºC), alta humedad (65 – 80% de humedad relativa) (16) (9); por lo que es importante cuidar las condiciones de almacenamiento en las cuales se tiene al grano destinado a la alimentación de los animales) (12). Además, se ha descubierto que para la producción de aflatoxinas por parte de los hongos, se necesita que éstos se encuentren bajo un estrés oxidativo en la fase temprana de crecimiento (trofofase). Esto se da debido a que los hongos interrumpen la reducción de los cuerpos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos del alimento, produciendo radicales libres y peroxidación de lípidos, y provocando la producción de las aflatoxinas (10).

Las primeras descripciones de aflatoxinas, se remontan a 1952, cuando Seibold y Bailey descubrían una hepatitis que llamaron hepatitis tóxica enzootica en las aves. Newbernet et. al. (1955) demostraron que la misma hepatitis tóxica enzootica mató a 100,000 pavos en Inglaterra (Enfermedad X de los pavos), y la relacionaron con el cacahuate brasileño que habían ingerido dichos pavos y que se encontraba contaminado por un hongo *Aspergillus flavus*. Al analizar el alimento, descubrieron metabolitos fluorescentes que nombraron Aflatoxinas, debido a su productor, el *A. flavus* (11). Al mismo tiempo, en Estados Unidos, se desató una epidemia de hepatomas en truchas arcoiris, que posteriormente se relacionó con la contaminación por aflatoxinas de una mezcla de semillas de algodón, uno de los componentes de la dieta de dichos peces, descubriéndose así la primera evidencia del efecto carcinogénico de las aflatoxinas. En 1973,

se encontraron residuos de aflatoxinas en los huevos y en las canales de pollos, lo que hace constar que los granos no solo afectan a los animales que los consumen, sino que éstos acumulan las aflatoxinas en su organismo, afectando secundariamente al humano. En cuanto a salud pública, la epidemia más grande registrada se desarrolló en la India en 1974, en la cual 108 de los 307 pacientes que habían consumido maíz contaminado con aflatoxinas, murieron, en la llamada "Cirrosis de la niñez de la India" (9). En 1988, gracias al esfuerzo para remover o detoxificar las aflatoxinas en los alimentos ya contaminados, se inicia el uso de aluminosilicatos como secuestrantes de las toxinas, protegiendo a las aves de los efectos tóxicos generados por las aflatoxinas (1).

Químicamente, las aflatoxinas son difurocumarolactonas, constituidas de dos anillos dihidrofuranos unidos a un núcleo cumarínico con un anillo pentano en caso de las aflatoxinas B y M y un anillo hexano en caso de las de tipo G. Hasta el momento, se han aislado 18 diferentes tipos de aflatoxinas, de las cuales las más importantes son: AFB_1, AFB_2, AFG_1 y AFG_2 (6) Las letras B y G corresponden a Blue y Green (Azul y Verde) debido a su fluorescencia azul o verde bajo la luz ultravioleta de onda larga, mientras que los números se refieren a los patrones de separación de estos compuestos al utilizar el método de cromatografía de capa fina (figura 1.2) (6).



AT	R
ATB_1	H
ATM_1	OH

1.2 Estructura Química de Aflatoxina B1 y M1.

Dentro del grupo de las micotoxinas, la más importante es la Aflatoxina B1 (C17 H12 O6), debido a que es la más tóxica y tiene efectos carcinogénicos (12) (15) (21) sobretodo en ratas, truchas y cerdos, en los cuales genera cáncer hepático tanto colangiocelular como hepatocelular (6); es el carcinógeno más potente conocido en la naturaleza (8). Además, se considera teratógena y mutagénica, el órgano al que más afecta es el hígado, por lo que es considerada una hepatoxina (7).

Su alta toxicidad se da en casi todas las especies animales. En cuanto a las aves, en orden decreciente las especies mas susceptibles son: patos, pavos, gansos, faisanes, pollos (6); los animales jóvenes son más susceptibles que los animales adultos (6) (11) (12) (13).

Se han realizado numerosas investigaciones para definir la enfermedad producida por las aflatoxinas llamada aflatoxicosis, de la cual hay dos presentaciones según el curso, el cual depende del tiempo de exposición y cantidad de aflatoxinas que han tenido los animales:

a) Agudo: resulta de la ingestión de altas concentraciones de aflatoxina en poco tiempo. Los signos en los animales incluyen depresión, anorexia, ictericia y hemorragias. Los hallazgos más importantes son, ictericia, hemorragias, aumento en las enzimas séricas, necrosis hepática severa, primordialmente periportal en pavos, patos, pollos, ratas y gatos (6) (11).

b) Crónico: es la forma más usual de la enfermedad, resultando de la exposición a una dosis baja de aflatoxinas en un periodo de tiempo largo. Sus efectos se dan de días a meses y sus signos incluyen baja de peso, baja de producción, incluyendo la baja en ganancia de peso, así como la producción de leche y huevos. Los hallazgos más importantes son: lesiones hepáticas, siendo la más clásica proliferación de ductos biliares, sobretodo en lóbulos hepáticos periféricos, cambios en hepatocitos que incluyen degeneración grasa, inflamación, necrosis aunque esta última no es tan extensiva como en la exposición aguda. A medida que el proceso avanza, el tejido conectivo prolifera llegando a fibrosis periportal, acompañada de regeneración nodular de hepatocitos y esteatosis hepática. Se encuentran hepatocitos con variación marcada en el tamaño nuclear y hepatocitos megalocíticos (6) (11), incluso llegando en el último estadío a producir neoplasias normalmente en el hígado, pero el páncreas, vesícula, huesos y el tracto urinario pueden también presentarlsa (21).

Toxicocinética

a) Absorción: el sitio principal de absorción es el tracto gastrointestinal, sin embargo, también pueden absorberse a través de los pulmones y la piel. Gracias a que las aflatoxinas son compuestos altamente liposolubles, son altamente absorbibles hacia el torrente sanguíneo. Dalezios et. al. (1973) durante la experimentación con monos Rhesus evidenciaron la aparición de la aflatoxina en la sangre inmediatamente después de la ingestión del alimento contaminado (6).

b) Distribución: las aflatoxinas tienden a infiltrarse en los tejidos blandos y depósitos grasos de los animales en general, lo que explica la predisposición por sexo siendo más afectadas las hembras que los machos. Sin embargo, la mayor acumulación de las aflatoxinas se da en los órganos involucrados en la biotransformación de las mismas, como son el riñón y el hígado. Veintucuatro horas después de haber ingresado al organismo. La mayor concentración de aflatoxinas se sitúa en el hígado, seguido por músculos, páncreas, piel, tejido adiposo, pulmones y bazo. En un estudio realizado por Harland y Cardeilhac (1975), se determinó que en el hígado, el riñón y la médula ósea de los pollos encontraron mayor cantidad de aflatoxinas que en el cerebro, los músculos y el tejido adiposo. En una prueba realizada por Trucksess (1983) con gallinas de postura, los análisis de tejidos realizados después de 7 días de administración de aflatoxinas, revelaron que el hígado tenía dos veces mas concentración de aflatoxinas que el riñón, mientras que este tuvo siete veces más concentración que el músculo y la sangre, comprobando así que los órganos blanco con mayor concentración de aflatoxinas y por tanto, los más afectados, son el hígado y el riñón (6).

c) Biotransformación: la transformación de las aflatoxinas dentro del organismo se divide en dos fases, la primera consistiendo en reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis y la segunda fase en la cual los metabolitos producidos en la primera fase se conjugan con sustancias endógenas para facilitar su excreción (6).

    1. Fase I: la aflatoxina B1 es biotransformada por las enzimas citocromo P-450 en muchos metabolitos hidrosolubles incluyendo aflatoxinas M1, Q1, P1 y Aflatoxicol

(Ro). Las aves pueden metabolizar la mayoría de las aflatoxinas B1 cuando estas son administradas en pequeñas cantidades y por lo tanto, las formas conjugadas son predominantes en cantidad respecto a los compuestos que no han sido metabolizados. La **hidroxilación** se encarga de producir un derivado mucho menos tóxico que el compuesto original, que es la aflatoxina M1. La **dimetilación** ha sido comprobada en especies como la rata, el ratón, el cuyo y el conejo, realizándose en el hígado y produciendo un derivado fenólico llamado aflatoxina P1; sin embargo, no hay evidencia de que se lleve a cabo este proceso dentro de las aves. La **epoxidación** es una vía que se encarga de actuar sobre el doble enlace presente en el anillo bifurano de la aflatoxina. El producto resultante es la aflatoxina 8,9 epóxido, muy reactivo en el DNA, siendo el presunto responsable de la carcinogénesis y mutagenicidad de la aflatoxina B1. La **reducción** se encarga de reducir el grupo carbonilo presente en las aflatoxinas B1 a un grupo hidroxilo con el fin de formar aflatoxicol y dihidroaflatoxicol. Estos compuestos pueden reoxidarse por medio de una enzima microsomal y formar de nuevo la aflatoxina B1, por lo que son considerados como almacén de AFB1 (6).

2. Fase II: Se han reportado muchas reacciones de conjugación de los metabolitos de las aflatoxinas, siendo las más importantes las de sulfatos y **ácido glucurónico**. Chipley et. al (1974) observaron que en los pollos contaminados con aflatoxinas B1, el mayor metabolito producido fue un aminoácido conjugado de B2 y un conjugado glucoronizado de aflatoxina M1, en una proporción de 70% - 30% respectivamente (6).

d) Eliminación: Las aflatoxinas así como sus metabolitos se excretan principalmente por la bilis y en menor cantidad en el riñón. El 28% de las aflatoxinas se eliminan por las excretas en 24 horas, mientras el 71% de la dosis fue recuperada de las excretas después de 7 días. Después de 1.5 minutos de la presencia de la aflatoxina en el plasma, ésta se hace presente en la bilis, siendo la concentración aproximada 7 veces mayor en la bilis que en el plasma, lo que indica que los metabolitos de la aflatoxina B1 se excretan en gran concentración por la bilis. La proporción de excreción vía bilis, orina y contenido intestinal es de 70:15:15

respectivamente. En animales en los que se suspende por completo la ingestión de aflatoxinas, la vida media de la aflatoxina dentro del organismo es de 1.4 d (6)

e) Residuos: La aflatoxina M1 se secreta en la leche de las vacas que reciben una dieta que contiene AFB1. Aunque no hay evidencia de excreción de AFM1 en el huevo de gallina, algunos otros metabolitos pueden excretarse en el huevo, así como la AFB1, aunque en cantidades mucho menores a las encontradas en el organismo de la gallina. Jacobson y Wiseman (1974) así como Obioha et. al. (1986) demuestran que se requiere 72 horas el reducir los residuos de las aflatoxinas de los tejidos comestibles del pollo, al administrar a pollos de 3 semanas una dosis única con 1 ppm de aflatoxinas a los animales y medir el tiempo de prevalencia de las aflatoxinas y sus residuos (6).

Toxicodinámica

Como ya se mencionó, la Aflatoxina B1 es capaz de inducir cáncer en todas las especies animales, pero también puede generar una inhibición de la síntesis de DNA y decremento en las funciones celulares dependiendo la célula afectada, como son inhibición mitótica y en el caso de células de defensa, inmunosupresión (13). Las aflatoxinas interactúan con el DNA, RNA y proteínas intracelulares en los hepatocitos. Su efecto en el DNA es el resultado de la interacción de la toxina con sitios reactivos de la macromolécula, siendo el más importante la posición N7 de las guaninas. Hay dos tipos de interacción conocidos entre las aflatoxinas y los ácidos nucléicos; el primero resulta de una interacción débil no covalente, mientras que el otro es un enlace covalente irreversible que genera la formación de aductos de aflatoxina con DNA. La formación de dichos aductos requiere la activación metabólica de la toxina dada por el citocromo microsomal hepático del retículo endoplasmático liso (15), para formar los metabolitos reactivos, particularmente los derivados epoxidados. De estos metabolitos, el **epóxido B1** (B1- 8,9 epóxido) es considerado el causante del efecto carcinogénico debido a su facultad de reaccionar con sitios nucleofílicos en los componentes del ácido nucléico (18). Presuntamente, gracias a su alta reactividad, el epóxido B1 ha sido aislado solo directamente de sistemas biológicos como aductos del glutation, proteínas y bases de DNA, uniéndose principalmente a la base pirimídica Guanina, en un 80% de los casos (6) Los derivados hidroxilados de la Aflatoxina B1, como la Aflatoxina M1, son mucho menos tóxicos que

el compuesto inicial y los derivados epoxidados. Algunos estudios de Hsieh (1985), indican que la aflatoxina M1 es dos veces menos tóxica que la aflatoxina B1 como un hepatocarcinógeno.

Los hepatocitos son las células más afectadas por la acción tóxica de la Aflatoxina B1 (AFB1), lo que se relaciona con la gran cantidad que tienen estas células de citocromo P-450 dentro de ellas, comparándolas con las células de otros órganos. El organelo específico afectado por los metabolitos es el núcleo del hepatocito, por lo que se relaciona al ser expuesto el individuo a la toxina de manera crónica, con el carcinoma hepatocelular (6) (11) (12) (13) (15) (21) (22) (23).

Aunque no se ha dado una explicación definitiva para el efecto carcinogénico de la AFB1, se ha descubierto que se puede relacionar con las mutaciones de proto-oncogenes y anti-oncogenes, mutándolos en sitios genómicos importantes. Estos proto-oncogenes y anti-oncogenes regulan el crecimiento y la proliferación celular, por lo que una alteración en su expresión puede provocar un incremento en la proliferación celular y eventualmente, la progresión hacia el cáncer (6).

La literatura reporta que la AFB1 induce la transversión de Guanina a Timina en el codón 249 del gen supresor de tumores p53 en los hepatocitos de manera frecuente, lo que genera daño al DNA y una inactivación de este gen supresor, favoreciendo también el crecimiento celular inmoderado (2) (6) (23).

Además del hígado, se ha reportado que la exposición respiratoria del polvo contaminado con AFB1 se ha asociado con tumores del tracto respiratorio tanto en animales como en humanos. Los neumocitos y las células epiteliales de la mucosa nasal activan a la AFB1, formando el mismo tipo de aductos que se forman en los hepatocitos, ya que dichas células tienen una gran proporción de citocromo p 450, y por lo tanto son más susceptibles a la acción de la AFB1. Autrup (1993) indicó que la exposición ocupacional a las aflatoxinas por medio de la inhalación de polvo contaminado se asoció con un incremento en la incidencia de cáncer de pulmón en trabajadores holandeses (6).

Hay numerosos estudios que sugieren que la AFB1 es inmunotóxica, la aflatoxicosis, sobretodo en su fase aguda, se asocia con el incremento en la susceptibilidad para adquirir enfermedades infecciosas. En pollos, hay incremento en la susceptibilidad y/o en la severidad de la

coccidiosis cecal, la enfermedad de Marek, salmonelosis, hepatitis con cuerpos de inclusión y la enfermedad infecciosa de la bolsa de Fabricio (Gumboro) (21). Además, se han reportado fallas en la vacunación ligadas a la aflatoxicosis en pollos y respuestas dispares a la vacunación demostradas para la enfermedad de Newcastle, bronquitis infecciosa, enfermedad de Gumboro y cólera aviar.

La inmunosupresión se explica en parte por la atrofia en la bolsa de Fabricio, donde se dan los primeros cambios (6), el timo y el bazo, órganos en los cuales existe una deplesión linfoide y una respuesta mitogénica reducida de linfocitos T y B (21), disminuyendo así la respuesta inmunomediada por células en gran medida y la inmunidad humoral en menor cantidad. La aflatoxina suprime la función inmune, primero uniéndose a los poliribosomas de los linfocitos T, provocando en ellos trastornos irreversibles e interfiriendo así con la síntesis de proteínas (11) y secundariamente, actúan disminuyendo la síntesis del DNA, generando cambios y pérdidas en la actividad enzimática y en el metabolismo y ciclos celulares, que pueden resultar en necrosis y apoptosis (8).

Además de la toxicidad hacia linfocitos B y T, se ha comprobado una reducción en la actividad del complemento (21) debido a la escasa producción del mismo por parte del hígado (11); se menciona también un decremento en la capacidad fagocitaria de los heterófilos y macrófagos. También se habla de un decremento en la producción de citocinas por las células del sistema inmune, que juegan un papel clave al inicio de la respuesta inflamatoria cuando los órganos han sido dañados (8). Los efectos tóxicos sobre los linfocitos T y las células NK (Natural Killer) que de manera normal impiden la replicación inmoderada de células matando las células tumorales, pueden tener efectos pronunciados en la carcinogénesis, resultando en una mayor incidencia de producción de progresión tumoral (6).

Aflatoxicosis en Pollos

Los signos clínicos, así como las lesiones más comunes tanto macroscópicas como microscópicas se han estudiado ampliamente a nivel mundial, coincidiendo en gran medida entre los diferentes autores.

- Susceptibilidad:

a) Edad: Los animales jóvenes y viejos suelen ser más vulnerables que los adultos (6) (11) (13).
b) Sexo: Los machos suelen ser más vulnerables que las hembras (6) (7) (11), mientras que las hembras tienden a acumular por más tiempo las aflatoxinas que los machos debido a la liposolubilidad de las micotoxinas (21).

- Signos:

Los signos principales, se manifiestan con dosis mayores a 1 ppm Sin embargo, existe un marcado decremento en la resistencia a enfermedades como salmonelosis, coccidiosis, enfermedad de Gumboro y candidiasis con dosis mayores a 0.5 ppm. Pueden darse al igual fallas en la pigmentación normal de la piel y músculos debido al decremento en el transporte y la deposición de los carotenoides de la dieta, con dosis mayores a 0.5 ppm (12). Con dosis de 0.75 ppm de aflatoxinas en el alimento, es común observar anorexia, vocalizaciones anormales, caída de la pluma, decoloración de las patas, ataxia y miopatía esquelética (21). Sin embargo, el efecto adverso más importante tiende a ser el retardo de crecimiento, acompañado de la pobre conversión alimenticia (11) (13) (17) (21), signos observados cuando se administran 2.5 ppm de aflatoxinas en el alimento. Algunas veces, convulsiones y opistótonos preceden a la muerte. Usualmente, no induce la muerte directamente a menos de que la concentración de AFB1 en el alimento sea mayor a 10 ppm. Los animales pueden llegar a presentar signos nerviosos entre los cuales se incluyen debilidad en las piernas y caída de las alas (6).

- Lesiones Macroscópicas:

Las lesiones encontradas dependerán de la edad del animal afectado y la dosis de la toxina y pueden presentarse en el hígado: hepatomegalia (6) (12) (13), palidez, coloración amarillenta y friabilidad (21). Puede encontrarse también edema en la vesícula biliar y ascitis teñida con bilis en los casos más severos (13). En el riñón y el bazo se puede encontrar nefromegaila y esplecnomegalia respectivamente, y una atrofia de la bolsa de Fabricio, el timo y los testículos. El agrandamiento de

los riñones va relacionado a un efecto compensatorio fisiológico por la acción de las aflatoxinas (17). También pueden encontrarse petequias y equimosis que hacen más evidentes los traumatismos externos en los animales afectados, ya que incrementan la fragilidad capilar interfiriendo con muchos componentes de la coagulación, notablemente la protrombina, afectando así las vías extrínseca e intrínseca de la coagulación (12) (21); dichas lesiones se observan con frecuencia en los muslos de pollos expuestos a 0.5 ppm de AFB1. En estudios realizados con una dosis de 3 ppm de AFB1, se observa una disminución en los pesos absolutos del hígado, bolsa cloacal, bazo y la tiroides (6). Algunos autores mencionan que el bazo puede aumentar en tamaño (12) (17) debido a la respuesta inmune generada por el ataque de las aflatoxinas al organismo (17).

- Lesiones Microscópicas:

Las principales lesiones microscópicas son degeneración vacuolar en el hígado correspondiente a cambio graso, necrosis focal acompañada a menudo por hemorragias multifocales, congestión en los sinusoides hepáticos y proliferación de ductos biliares. A medida que va progresando, se encuentra cariomegalia, numerosas figuras mitóticas, nucleolos muy evidentes, mayor proliferación de ductos biliares en los cuales se acumulan los pigmentos biliares en gran medida y fibrosis, con depósitos de reticulita y colágena sin un modelo definido; estos cambios pueden acompañarse de hepatocitos regenerados en forma nodular (hiperplasia regenerativa nodular) (11) (13) e inflamación por heterófilos y células mononucleares en las zonas portales (6) (21). A medida que avanza el proceso, el hígado se ve más pequeño de lo normal debido a la inhibición mitótica y la necrosis hepatocelular que aumenta progresivamente. Hinton et. al. (2003) mencionan que en el pollo, los cambios de degeneración celular son ligeros y casi no hay zonas de necrosis, sin embargo, grandes zonas de folículos linfoides aparecen entre las áreas con cambio graso (8). También pueden aparecer zonas con hematopoyesis extramedular en caso de aflatoxicosis crónica.

En el riñón se encuentran zonas multifocales de congestión, edema perirenal, degeneración albuminosa, hidrópica y necrosis en el epitelio de los túbulos renales (6), lesiones glomerulares membranosas, dilatación de los túbulos contorneados proximales, necrosis del epitelio de los túbulos contorneados proximales y distales, con algunos núcleos grandes (megalocitosis) con

formas aberrantes o nucleolos muy aparentes y fibrosis intersticial (13) (21). Azuzu y Shetty (1986) demostraron que la exposición con 2.65 ppm de AFB1 ocasionó hemorragias renales y necrosis de los túbulos renales.

En el bazo, se encuentra una disminución en la cantidad de linfocitos (deplesión linfoide), sobretodo en la zona periarteriolar, generalmente sin zonas de inflamación aparentes (8).

En la bolsa cloacal se observa deplesión linfoide en los centros germinativos de los folículos linfoides, siendo las primeras lesiones histopatológicas halladas en la aflatoxicosis (6).

- Patología Clínica:

Proteínas: la concentración sérica de proteínas en pollos es más baja que en los mamíferos, siendo entre 3 y 6 g/100 ml. La hipoproteinemia se presenta con la enfermedad hepática y renal grave, así como con desnutrición, mala absorción y en hemorragias crónicas, mientras que su elevación se da en la deshidratación o en un incremento total de globulinas, que acompañadas con las enfermedades crónicas como pueden ser enfermedades micóticas o bacterianas, aumentan la cantidad de gama globulinas generando la hiperproteinemia.

Aspartato Amino Transferasa (AST/TGO): La actividad más elevada de la enzima AST en el pollo se da en el músculo cardiaco, seguido del hígado y el músculo esquelético. La elevación de dicha enzima se ha relacionado con daño hepatocelular en los pollos, siendo la causa más frecuente en la elevación de su actividad la enfermedad hepática por aflatoxicosis. En general, se consideran como animales anormales, las aves que tengan una AST mayor a 230 U/L. Cuando se encuentran lesionados los tejidos blandos, se observa un aumento en la AST de dos a cuatro veces, mientras que cuando existe necrosis hepática, se encuentran elevaciones más notables (4). Los picos de elevación de la enzima se dan en los cursos agudos y subagudos de lesión hepática y su duración es relativamente corta (semanas) (6).

Alanin Amino Transferasa (ALT/TGP): La actividad de la ALT en los diferentes tejidos se da en el pollo en orden decreciente primero en músculo cardiaco, tejido pulmonar y por último en el hígado. No existe una gran actividad de esta enzima en el plasma de pollos normales. Algunos autores informan de un aumento en la ALT en pollos con lesión hepática, mientras que otros autores consideran que esta medición no es una prueba diagnóstica útil para descubrir la enfermedad hepática en las aves (4).

El efecto más notable hallado al estudiar animales que han consumido bajas dosis de AFB1 (2.5 - 1.25 ppm) en largo tiempo continuamente es una alteración del perfil protéico sérico. La cantidad total de proteínas séricas sufre un decremento debido a una baja en α y γ globulinas principalmente. La actividad de las enzimas séricas se ha utilizado como la principal medición de la toxicidad de las aflatoxinas en los pollos. Da Falla et. al. (1987) administraron 0.5 ppm de AFB1 por 4 semanas, teniendo actividad significantemente mayor en SDH (succinato deshidrogenasa) y GDH (glutamato deshidrogenasa). Un aumento en LDH (lactato deshidrogenasa), FAS (fosfatasa alcalina sérica), Fosfatasa ácida, AST y ALT fue reportada en pollos recibiendo 3 - 6 ppm de AFB1 por 42 días. El incremento de las enzimas séricas medidas fue interpretado como una consecuencia de la degeneración de los hepatocitos con una subsecuente salida de las enzimas de los mismos. En contraste con estos resultados, Fernández et. al. (1994), administraron 2.5 y 5 ppm de AFB1 a pollitos por 32 días y estos no mostraron alteraciones en AST, ALT, LDH ni GGT (gama glutamil transferasa). En un experimento realizado en 1993 por Rao y Josh, se administró una sola dosis oral de 4 ppm de AFB1 a un grupo de aves, y sus niveles de AST fueron 2.5 veces mayores que en las aves del grupo control (6).

Las aflatoxinas causan anemia debido a una inhibición a nivel de médula ósea, caracterizada por reducciones en el paquete celular, cuenta eritrocítica, concentración de hemoglobina y volumen medio corpuscular. La absorción del hierro y su retención inicialmente se reducen pero se compensan al poco tiempo. Los pollos jóvenes son más susceptibles a la anemia. Los leucocitos totales se incrementan, pero existe una linfopenia. El hematocrito se ve reducido significantemente con dosis de .625 a 10 ppm (21).

Los factores de coagulación, sobretodo los factores VII, V y el fibrinógeno se ven reducidos considerablemente a dosis de 2.5 ppm de AFB1. La protrombina se ve afectada a niveles de 0.625 ppm, siendo la más sensible a la aflatoxicosis (6)

La aflatoxicosis también genera un decremento en las lipoproteínas séricas, el pigmento carotenoide, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, calcio, fósforo, hierro, cobre, zinc y lactato deshidrogenasa, mientras que aumentan los niveles séricos de la enzima sorbitol deshidrogenasa, la deshidrogenasa glutámica y el potasio (21).

Métodos de Análisis:

La selección de un método para la determinación y cuantificación de aflatoxinas se basa en la infraestructura con que se cuenta y que tan rápido y preciso se requiere el resultado, siendo comunes los métodos presuntivos; los más utilizados en la industria de alimentos para el ser humano son los métodos cuantitativos, siendo el mas sensible y confiable el HPLC, si el análisis es para medir la calidad de los granos al ser, y el resultado tiene que ser rápido, el más utilizado es el Aflatest que es un método de diagnóstico que esta aceptado oficialmente por la AOAC (Association of Analitical Communities).

Para tener un buen resultado se tiene que realizar un buen muestreo para tener un tamaño de muestra representativa. Para la investigación, los métodos más adecuados incluyen al HPLC y la cromatografía (16).

Existen diversos métodos para constatar que un alimento está contaminado por aflatoxinas. Existen métodos presuntivos, cualitativos, semicuantitativos y confirmatorios, como los inmunoenzimáticos.

a) Presuntivos: el más destacado es la técnica de la luz negra, que consiste en exponer el grano a la luz ultravioleta a una longitud de onda de 365 nm en un cuarto oscuro y con el grano quebrado. El ácido kójico presente en el grano contaminado fluoresce de color verde amarillento (16). No se considera un método fiel, ya que algunos fitopatólogos

como Doug Jardine (2003), han descubierto que algunas estirpes de hongos producen de manera normal el ácido kójico, produciendo poco o nada de aflatoxinas o viceversa.

b) Cualitativos: se encuentran los métodos de minicolumna de Velasco (1972), Shannon (1972), Holaday (1975) y Romer (1986), como los más utilizados, ya que estaán aprobados por la AOAC. Estas minicolumnas detectan concentraciones arriba de 10 ppb de aflatoxinas (16).

c) Semicuantitativos: la cromatografía de capa fina es el método más común. Tiene como desventaja la variabilidad de resultados debido a condiciones de temperatura y humedad en el laboratorio, en la placa cromatográfica y su baja sensibilidad al error (16). Este método puede convertirse en cuantitativo al utilizar la fluordensitometría, al medir la intensidad de la fluorescencia encontrada en las manchas de aflatoxina en un fluordensitómetro utilizando una longitud de onda de 365 nm. (5).

d) Cuantitativos: la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de capa fina mas fluordensitometría, son las más frecuentes en los laboratorios de calidad, siendo los más sensibles al detectar 1 μg/kg de aflatoxinas. Sus desventajas incluyen el costo de los materiales y equipo a utilizar y la necesidad de personal capacitado (5).

e) Inmunoenzimáticos: su fundamento consiste en secuestrar las aflatoxinas por medio de anticuerpos monoclonales específicos, existen ensayos para cada micotoxina, como el Aflatest, que se emplea para cuantificar Aflatoxinas. Tienen la desventaja de ser poco sensibles ya que pueden dar reacciones cruzadas produciendo falsos positivos (16).

Métodos Descontaminantes

Existen tres métodos principales para eliminar a las aflatoxinas de los alimentos, o evitar su efecto en los organismos que las consumen. A continuación se desarrolla cada uno de ellos:

a) Métodos Químicos: Extracción con disolventes utilizados para remover las aflatoxinas de las semillas, estos disolventes pueden ser etanol, acetona, isopropanol, hexano metanol, entre otros

b) Métodos Físicos:

- Adsorción: se utilizan materiales adsorbentes (arcillas) que se añaden al alimento; estos incluyen a las bentonitas, zeolitas, caolín y aluminosilicatos. Estos materiales forman un enlace con las aflatoxinas y con otras pocas micotoxinas, por medio de sus átomos de silicio, tanto in vivo como *in vitro* y por medio de este enlace, secuestran a las aflatoxinas durante su paso por el tracto gastrointestinal, evitando su absorción. Otros efectos de las arcillas incluyen la reducción del paso de las aflatoxinas por el tracto gastrointestinal, protección de mucosa gástrica y entérica, aumento en la consistencia de las heces (3). Sin embargo, Watts *et. al.* (2003) comprobaron que los aluminosilicatos solamente secuestran a la AFB1, por lo tanto, si el alimento se encuentra contaminado por una mezcla de micotoxinas, las demás micotoxinas mantendrán su efecto dañino sobre el organismo (24).

- Calentamiento a temperaturas de 237 a 306°C.

- Irradiación ionizante con rayos Ultravioleta a 222, 265 y 362 nm y rayos gamma.

- Irradiación no ionizante o solar, el método más utilizado en la India (19).

a) Métodos Biológicos: también llamado biodegradación de las micotoxinas, se realiza por medio de la fermentación con levaduras como *Candida intermedia* o bacterias como *Flavobacterium auratiacum* B-184, produciendo a partir de la estructura liposoluble de las micotoxinas, productos hidrosolubles después de 6 horas de incubación de manera experimental. El mecanismo de detoxificación no se encuentra bien establecido, sin embargo, algunas investigaciones sugieren que se trata de un fenómeno de mineralización y

no de metabolismo de las toxinas por medio de las bacterias y levaduras, debido a que no necesitan fuentes exógenas de energía para detoxificar las micotoxinas (1).

Para descontaminar las áreas de trabajo y materiales que hayan tenido contacto con las aflatoxinas, se recomienda que el personal destinado a este trabajo se encuentre capacitado, y que cuente como equipo mínimo con bata, guantes impermeables, cubre bocas o mascarilla y lentes de seguridad. Todo el material de vidrio utilizado debe sumergirse en una solución de hipoclorito de sodio en una concentración del 5 al 6%, después de este tratamiento, todo el material debe de enjuagarse con agua corriente, seguido de agua destilada y dejarse secar por escurrimiento (5).

El material desechable debe sumergirse mínimo por 5 minutos en la solución de hipoclorito de sodio al 5-6% antes de empacarse en una bolsa de plástico sellada para ser cremados. Los remanentes líquidos deben mezclarse con la solución de hipoclorito de sodio antes de ser desechados. En cuanto a las áreas de trabajo, éstas deben limpiarse con toallas desechables impregnadas con hipoclorito de sodio (5).

Legislación

- Internacional:

La naturaleza dañina de las aflatoxinas hacia los animales y hacia el humano, ha necesitado del establecimiento de medidas de control y niveles de tolerancia por medio de las autoridades de cada país, es decir, cada país tiene su propia legislación acerca de las aflatoxinas. La tendencia general es que los países industrializados tienen niveles menores de tolerancia que los países en desarrollo; por ejemplo, el nivel de tolerancia en Suecia para las aflatoxinas en el alimento es de 5 μg/kg, mientras que en Brasil es de 30 μg/kg, lo que ocasiona problemas en el comercio entre los países desarrollados con los que están en vías de desarrollo (19).

La primera ley fue establecida en 1965 por la FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos, que proponía una tolerancia de 30 μg/kg; al aumentar la preocupación acerca de las aflatoxinas por sus efectos carcinogénicos, la ley se cambió en 1977 bajando el nivel de tolerancia a 20 μg/kg (19).

En 1973, la Comunidad Económica Europea estableció su legislación acerca de los niveles máximos permitidos en los diferentes alimentos. A partir de ese momento, esta legislación se ha modificado frecuentemente. La última modificación se dio en noviembre de 1991, estableciendo como nivel máximo de aflatoxina B1 20 μg/kg en cacahuates, semilla de algodón, maíz y sus derivados, mientras que para alimentos balanceados para animales se tiene un nivel de tolerancia máximo de 50 μg/kg para bovinos, caprinos y ovinos, para aves y cerdos se tiene un nivel máximo de 20 μg/kg, exceptuando en ambas mediciones a los animales pequeños, en los cuales se tiene un nivel máximo de 10 μg/kg (19).

En 1992, la FAO (Food and Agriculture Organization) junto con la OMS (Organización Mundial de la Salud) formaron un comité, el cual estableció referencias en las cuales el límite de la presencia de las aflatoxinas en los alimentos debe darse en "niveles irreductibles". Un nivel irreducible se define como la concentración de una sustancia que no puede eliminarse de un alimento sin traer consecuencias al mismo, o comprometer la disponibilidad de sus nutrientes. Dichos niveles se encuentran resumidos en la siguiente tabla:

Aflatoxina	Nivel de Tolerancia (mg/kg)	Alimento
B1	5	Alimento para bovinos de leche
M1	0.05	Leche
B1+G1+B2+G2	15	Cacahuates para consumo humano
B1+G1+B2+G2	10	Cacahuates procesados p/ humano

Fuente: FAO/OMS (1990, 1992)

- Nacional:

En México la primera legislación generada fue la Norma Oficial Mexicana para Aflatoxinas en cereales y subproductos de 1996 (NOM 147 SSA1 1996). En el año 2002, dicha norma fue derogada y entró en vigor la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002 "Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias", la

cual establece el límite máximo permisible de aflatoxinas en cereales para el consumo humano y animal, además de los lineamientos para el muestreo y métodos de determinación de aflatoxinas, lineamientos sanitarios y requisitos para el transporte y almacenamiento de los cereales. El límite máximo permitido es de 20 µg/kg para cereales destinados al consumo humano (20). Los cereales no destinados al consumo humano, se desarrollan en la siguiente tabla:

Especie/etapa de producción	Límite máximo µg/kg
Aves (excepto pollos de engorda)	100
Pollos de engorda	20
Cerdos en engorda Entre 25 y 45 kg	100
Cerdos en engorda Mayores de 45 kg	200
Cerdos Maduros destinados a reproducción	100
Rumiantes maduros destinados a reproducción	100
Rumiantes de engorda en etapa de finalización	300

Fuente: NOM-188-SSA1-2002 p. 12, Apéndice Normativo B

Además en la Norma Oficial Mexicana, se establece que cada particular es libre de realizar la determinación de aflatoxinas para su control interno con el método que elija; sin embargo, debe utilizar para constar ante la ley que se encuentra dentro del límite permitido, alguno de los métodos aprobados por la norma, entre los cuales se incluyen el método de columnas de inmunoafinidad, la cuantificación por fluordensitometría y el método HPLC. La norma también incluye recomendaciones para bajar el riesgo de contaminación con Aflatoxinas de los cereales y recomendaciones para la limpieza y descontaminación de áreas de trabajo que hayan tenido contacto con las aflatoxinas (20).

JUSTIFICACIÓN

Al haber un mayor control sobre enfermedades infecciosas dentro de las explotaciones de aves, estas comienzan a perder importancia frente a las enfermedades no infecciosas, como la aflatoxicosis, causando estragos en la salud de los animales, en sus parámetros productivos y por lo tanto en la industria pecuaria.

La problemática con la que se enfrenta el Médico Veterinario dedicado a aves, es que hay pocos estudios que establezcan la relación entre la fisiopatología de las aves enfermas con las respuestas bioquímicas y hematológicas correspondientes a las alteraciones de ciertos órganos o tejidos afectados a diferencia de las demás especies domésticas donde si se tienen los marcos de referencia de los diferentes parámetros bioquímicos y hematológicos utilizados en laboratorio clínico, por lo que resulta de suma importancia conocer y establecer parámetros bioquímicos de las pruebas de laboratorio que nos permitan tener un marco de referencia en esta especie, en este caso, sobre las aves afectadas por una aflatoxicosis.

HIPÓTESIS

La presencia de aflatoxinas en el alimento durante un período de 14 días, provocará la elevación sérica de las enzimas aspartatoaminotransferasa y alaninaminotransferasa, así como alteraciones morfológicas y del hematocrito.

OBJETIVOS

Evaluar la variación en los parámetros bioquímicos que nos permitan tener un marco de referencia de las alteraciones hepáticas que se dan como respuesta a la aflatoxicosis en las aves, a través de pruebas de laboratorio.

*** Objetivos particulares.**

1.- Evaluar el efecto sobre el hematocrito en aves que consumieron alimento con 1 ppm y 1.5 ppm de aflatoxina.

2.- Evaluar las alteraciones de las enzimas séricas ALT Y AST en las aves que consumieron alimento con 1 ppm y 1.5 ppm de aflatoxina.

3.- Establecer una correlación entre las alteraciones morfológicas y los parámetros productivos en aves que consumieron alimento con 1 ppm y 1.5 ppm de aflatoxina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar:

El presente trabajo se realizó en la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS), Campo 3, Facultad de Estudios Superiores - Cuautitlán, UNAM.

Material:

a) Pollos:

Para la realización del experimento, se utilizaron 30 pollos machos F-2, de un día de edad, divididos al azar en 3 grupos de 10 pollos cada uno, un grupo para ser tratado con 1.5 ppm (Grupo 1), un grupo a ser tratado con 1 ppm (Grupo 2) y un grupo control (Grupo 3). Los pollos de los diferentes grupos fueron colocados en jaulas separadas con comedero y bebedero independientes para cada una de ellas, en una caseta experimental dentro de la UNIGRAS. Al iniciar el experimento y separar a los animales de manera aleatoria en tres grupos para exponerlos a diferentes cantidades de aflatoxinas, se pesaron los animales de cada grupo, para evitar comenzar con diferencias entre ellos.

b) Alimento:

El alimento utilizado fue alimento comercial balanceado de iniciación, con 23% de proteína, para pollo de engorda. Para descartar la presencia de aflatoxinas, se realizó la determinación de la concentración de aflatoxinas utilizando columnas de inmunoafinidad AFLATEST (Figura 1). El alimento utilizado para las aves de los grupos experimentales fue el alimento comercial analizado, al cual se le añadió arroz contaminado con *Aspergillus flavus* Link para lograr las dosis de 1 y 1.5 ppm de AFB1/kg de alimento respectivamente. El consumo de agua y alimento fue *ad libitum*.

Diseño Experimental:

a) Parámetros:

Los animales fueron pesados al iniciar el experimento, así como los días 7 y 14 de experimentación. Los pollos eran revisados 2 veces por día, registrando signos y mortalidad en caso

de que los hubiera. Los parámetros productivos, así como la mortalidad fueron calculados como se describe por Quezada (1999).

b) Morfopatología:

Para el estudio morfopatológico, se sacrificaron 2 animales al día 7 y tres animales al día 14 por grupo, a los cuales se les realizó la necropsia registrando los hallazgos macroscópicos encontrados. Se colectaron muestras de hígado, riñones, bazo y bolsa cloacal, los cuales fueron pesados y posteriormente fijados en formalina amortiguada al 10% por 24 horas para ser procesadas y teñidas con Hematoxilina - Eosina (H-E) para su estudio. Las lesiones fueron clasificadas como leves, moderadas o severas.

c) Determinación de hematocrito:

Al momento del sacrificio de los animales, se recolectaron muestras de sangre en tubos de ensaye que contenían EDTA (ácido etildiaminotetraacético). Se recolectó sangre en tubos capilares, y se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos. Posteriormente, se midió el total de paquete celular + plasma y el paquete celular solo y se determinó el porcentaje de paquete de eritrocitos expresado en porcentaje.

d) Determinación de enzimas:

Al momento del sacrificio de los animales también se recolectó sangre completa la cual se dejó coagular en un tubo de ensaye por un promedio de 30 minutos. Posteriormente, se retiró el coágulo formado y se centrifugó a 2500 rpm por 10 minutos. La técnica utilizada para la evaluación de AST y ALT se realizó utilizando un kit comoercial utilizado para su determinación Las pruebas colorimétricas fueron leídas a una longitud de onda de 505 nm empleando un espectofotómetro Beckman Coulter DU530.

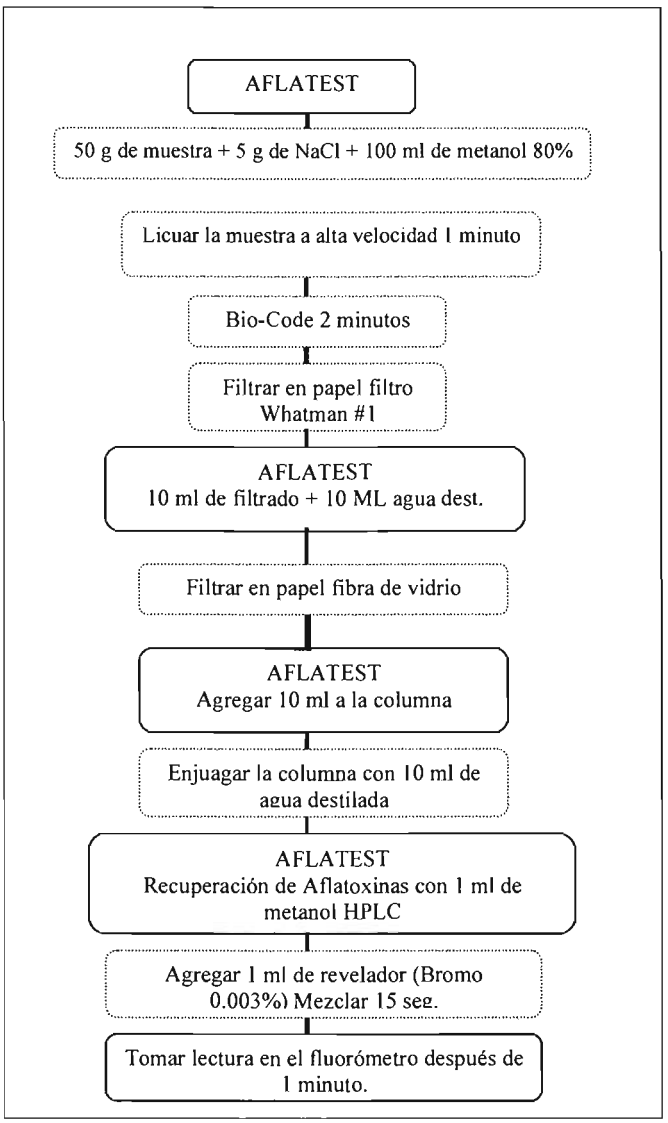


Figura 1: Determinación de aflatoxinas totales mediante el método de inmunoafinidad en minicolumna (AFLATEST - VICAM)

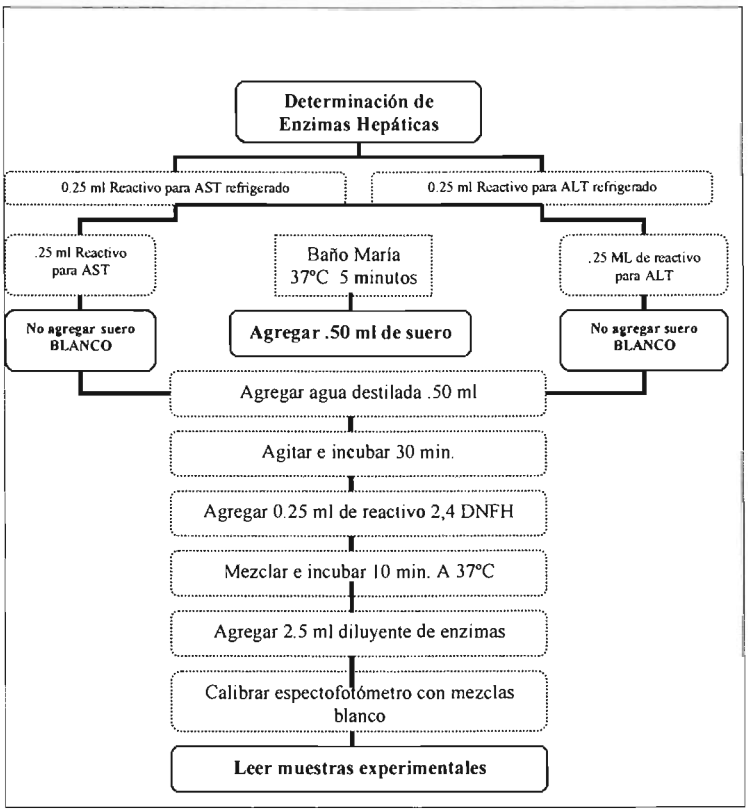


Figura 2: Método de determinación de enzimas ALT y AST por espectofotometría.

Análisis Estadístico:

Se utilizó un ANOVA de una vía, para el análisis estadístico en las variables de peso, hematocrito, ALT, AST, y los pesos relativos de hígado, riñones, bazo y bolsa cloacal. Las medias de los grupos fueron comparadas con la prueba de TUKEY para constatar la existencia de diferencias significativas entre ellos. Los datos se analizaron utilizando el software estadístico Statgraphics Plus 5.0 con un nivel de significancia ($P<0.05$).

RESULTADOS

Signología:

El cuarto día, al llegar a revisar a los animales, inició la mortalidad dentro del experimento. Los grupos 1 y 2 fueron los más afectados además de observarse animales débiles, postrados, con los ojos cerrados, cabeza caída y disnea.. Los animales del grupo 3 no mostraron cambios patológicos aparentes a lo largo de todo el trabajo experimental. La mortalidad durante la experimentación tuvo un porcentaje en el grupo uno fue del 50%, siendo la más alta, seguida por el grupo 2, con el 30% de mortalidad. El grupo 3 no tuvo mortalidad. Del mismo modo que la mortalidad, el desarrollo de las aves que consumieron aflatoxinas se vio afectado.

Peso:

En el día uno, el peso de las aves por tratamiento fue: para el grupo 1 43.83 g, 45.48g para el grupo 2 y 45.06g para el grupo 3; teniendo diferencias menores a 1.65 g entre los grupos, iniciando el trabajo experimental con una distribución homogénea de las aves.

Al día 7 de haber comenzado la experimentación, los animales de cada grupo fueron pesados. En la gráfica 1 se observa el comportamiento de los grupos: el grupo control fue el que presentó mayor peso con 58.5g, seguido del grupo 1 que se sitúa intermedio, con 52.12g y por último el grupo 2 que tuvo el menor peso con 50.85g (cuadro 3.1). La diferencia entre el grupo con 2 con el grupo 3, es de 7.65 g, mientras que al comparar el grupo 1 con el grupo 3 hay 6.38 g de diferencia. Sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa.

En cuanto a los parámetros productivos mostrados en el cuadro 3.2, el índice de conversión fue mayor para el grupo 3, seguido del grupo 2 y teniendo la menor conversión alimenticia el grupo 1; en cuanto al consumo individual, este se comportó de manera contraria, teniendo más consumo por ave el grupo 1, seguido del grupo 2 y teniendo el menor consumo por ave los animales del grupo 3. Estos datos se comportan de esta manera debido a la variabilidad en el número de animales tomados en cuenta para el día siete, ya que hubo 4 animales muertos durante

la primera semana en el grupo 1, afectando el índice de conversión negativamente para el grupo, y aumentando el promedio de consumo por ave en el mismo.

Al realizar el análisis de los datos obtenidos en el día 14, se nota una diferencia en los pesos promedio de los animales, siendo estos de 69.7 g para el grupo 1, 89.58g para el grupo 2 y 117.86g para el grupo 3; con diferencias de 19.88 g entre los grupos experimentales, de 28.28 g para el grupo control respecto al grupo 2, y de 48.16 g para la comparación entre los grupos 1 y 3. En la figura 3 se puede observar que hay gran diferencia entre los grupos 1 y 2 al ser comparados con el tercero, para el día 14, siendo mucho mas notorias que en el día 0 y 7 de tratamiento. El análisis estadístico nos indica una diferencia significativa ($P<0.05$) (cuadro 3.1, figura 3). La diferencia significativa se encuentra entre el grupo 1 y el grupo 3, pero cuando se les compara a estos con el grupo 2, no existe.

En cuanto a los parámetros productivos (cuadro 3.2), los animales del grupo 3 tuvieron un mayor consumo total, así como individual, con un índice de conversión más efectivo, al igual que en el día siete de experimentación. El grupo 1 fue el que mostró un índice de conversión menos efectivo, al ser el más alejado del I.C. (índice de conversión)=1, siendo éste último, ideal.

Hematocrito:

El porcentaje promedio de hematocrito no se vio afectado por el consumo de aflatoxina, obteniéndose 28.5% para el grupo con 1, 22.5% para el grupo 2 y 24% para el grupo 3. No existió una diferencia estadística entre ellos ($P>0.05$) (tabla 4, figura 4).

Para el día catorce, el grupo 1 reveló 24.33%, 29.33% para el grupo 2 y 29.33% para el grupo 3, y con una pequeña diferencia del 5% entre los grupos 2 y 3 contra el grupo 1, sin embargo no se observa diferencia estadística ($P>0.05$), esto se puede observar en la figura 4 y el cuadro 4.

Aspartatoaminotransferasa y Alaninaminotransferasa:

En el día siete, al comparar las medias de AST de los tres grupos, tanto en niveles de adsorbancia como los niveles ajustados para U.I. (Unidades Internacionales) (cuadro 5, figura 5), se observan diferencias entre ellos. Los mayores niveles correspondieron al grupo 1 con un promedio de 0.76 nm y 74 U.I./L, seguido del grupo 2, con un promedio de 0.25 nm y 61 U.I./L y por último el grupo 3 con 0.06 nm y 7 U.I./L; Entre los grupos, se encontraron diferencias de 0.516 nm entre el grupo 1 y el grupo 2, y de 0.706 nm comparando el grupo 1 con el grupo 3 es decir, 12.5 veces más enzima. Dentro de la figura 6 y el cuadro 6, al día 7 de experimentación, la adsorbancia en el grupo 1 fue de 0.32 nm y 47 U.I./L; 0.17 nm de adsorbancia y 23 U.I./L para el grupo 2 y .05 nm y 5 U.I./L para el grupo 3, con diferencias de 0.1535 nm al comparar los grupos 1 y 2, de 0.117 nm para la comparación entre el grupo 3 y el de 1 ppm y de 0.5757 nm para el grupo 1 comparado con el grupo 3. La diferencia en la cantidad de ALT del grupo 1 respecto al grupo 3, así como la del grupo de 2 respecto al grupo 3, son estadísticamente significativas ($P<0.05$)

Al comparar las medias de los tres grupos en el día 14, (cuadro 5), los niveles para el grupo 1 fueron de 0.77 nm de adsorbancia y 74 U.I./L, para el grupo 2, se encontraron niveles de 0.71 nm de adsorbancia y 74 U.I./L, mientras que para el grupo 3 fue de 0.05 nm y 10 U.I./L. Al comparar los grupos experimentales la diferencia fue muy pequeña con 0.063 nm, mientras que la diferencia del grupo 1 con el grupo 3 fue de .72, y para el grupo 2 comparado con el grupo 3 fue de 0.6567, existiendo entre los grupos una diferencia estadística (14 veces mas el valor del grupo control). Al igual que en el muestreo anterior, al día catorce se observa el grupo 3 en los niveles basales de ALT dentro de la figura 6 y también son los menores del cuadro 6 con 0.041 nm y 5 U.I./L manteniéndose sin cambio respecto al día 7, mientras que los niveles del grupo con 2 se encuentran en el medio de la gráfica y la tabla 4 con 0.4 nm y 62 U.I./L, más del doble que en el día 7 y los niveles del grupo 1 son los más altos con 0.62 nm y 104 U.I./L . Las diferencias entre los grupos 1 y 2 fue de 0.22 nm, no siendo significativa, de 0.3557 nm para el grupo 2 comparado con el grupo 3, indicando que fue 7 veces mayor, y de 0.5757 nm para el grupo 1 comparado con el grupo 3, superando así por casi 14 veces el nivel basal de la enzima ALT encontrado en el grupo 3, una diferencia significativa ($p<0.05$). Esta fue la diferencia más importante en el experimento.

Pesos Relativos de Hígado y Riñón

El peso relativo se expresa en porcentaje con respecto al peso del animal. Al día siete de experimentación (figura 7, cuadro 7) el porcentaje promedio del hígado muestra un ligero aumento en las aves de los grupos experimentales respecto al grupo control Las aves del grupo 1 y 2mostraron un peso de 4.44 % y el grupo control mostró un peso de 4.27%. Esta diferencia no es significativa (P>0.05). Las diferencias entre los tres grupos fueron de 0.04% entre los grupos experimentales y de 0.17% y 0.13% comparando el grupo 3 con los grupos 1 y 2 respectivamente.

Al comparar las medias del porcentaje del peso de riñón entre los grupos (figura y cuadro 8), es posible notar un mayor peso dentro del grupo 3 con un porcentaje promedio de 1.725 % seguido del grupo 2 con un peso promedio de 1.55 %, siendo el más ligero el grupo 1 con un porcentaje promedio de 1.25 %. Las diferencias entre los tres grupos fueron entre el grupo 3 y el grupo 2 de 0.175 % y entre el grupo 3 y el grupo 1 de 0.475 %.

Al día catorce, (figura 7; cuadro 7), se observa que el grupo 3 es el que tiene un mayor porcentaje de peso del hígado con 5.23%, seguido del grupo 1 con 4.03% y el menor fue el grupo 2, con 3.54%. Puede observarse que las diferencias entre los grupos se ampliaron, siendo de 0.49% entre los grupos experimentales, de 1.2% comparando el grupo 3 con el grupo 1 y de 1.69% comparando el grupo 3 con el grupo 2; sin embargo, no hay diferencia estadística.

Durante el día 14, tanto en la figura 8 como en las medias, es evidente la diferencia que existe entre los grupos 1 y 2 comparados con el grupo 3, siendo los riñones más pesados los de este último grupo, al igual que en el día siete, con un porcentaje promedio de 1.97 % del peso corporal del pollo, y los más ligeros los del grupo 1 con 1.32%, mientras que los riñones del grupo 2 se mantuvieron entre los grupos anteriores con 1.397%. El grupo 1 tuvo una diferencia de 0.65% y el grupo 2 tuvo una diferencia de 0.57% ambas respecto al grupo 3 (P>0.05). Llos grupos que consumieron aflatoxinas, no hubo diferencia estadística. Es importante señalar que los riñones del grupo 2 disminuyeron en cuanto a su peso relativo 0.15% del día 7 al día 14 de experimentación, mientras que los otros grupos mantuvieron una ganancia de peso relativo en este órgano.

Pesos Relativos de Bazo y de Bolsa de Fabricio:

Al día siete, (tabla y figura 9), se encuentra que los bazos de los grupos 1 y 2 son ligeramente más pesados que los del grupo 3, siendo el grupo con el mayor promedio el grupo 2 con 0.305% del peso corporal, seguido del grupo 1 con 0.255% y siendo el mas ligero el grupo 3 con 0.235%. La diferencias entre los grupos fueron de 0.05% entre los grupos experimentales, de 0.07% entre el grupo 3 y el grupo 2 y de 0.02% entre el grupo 3 y el grupo 1, así como en los datos, dichas diferencias son muy pequeñas también vistas en la gráfica. Las diferencias no fueron significativas ($P>0.05$). El promedio de peso relativo para la bolsa cloacal más alto fue para el grupo 1 con 0.485% del peso corporal, seguido del grupo 2 con un peso promedio de 0.46% y el promedio más bajo correspondió al grupo 3 con 0.335% del peso corporal (cuadro 10). Las diferencias entre grupos no son muy notorias en la figura 10 y tampoco dentro de los datos en el cuadro 10, siendo de 0.025% entre los grupos experimentales, de 0.125% comparando el grupo 3 con el grupo 2, y de 0.15% comparando el grupo 3 con el grupo 1.

En el día 14, el mayor peso relativo de bazo (cuadro 9) correspondió al grupo 3, con un promedio de 0.65% del peso corporal, le siguió el grupo 1 con un promedio de 0.403% y el más ligero fue el grupo 2, con un promedio de 0.19%. Las diferencias entre los grupos fueron de 0.22% entre los grupos experimentales y de 0.47% y 0.25% entre el grupo 3 y los grupos 1 y 2 respectivamente. Esta diferencia es muy notable en la figura 9 donde se muestra el aumento de peso del bazo del grupo 3, mientras que los bazos de los animales del grupo 1 tuvieron un crecimiento menor y los del grupo 2 disminuyeron en tamaño. La diferencia estadística se da comparando los grupos experimentales con el grupo control (figura 9). Al comparar las medias de peso relativo de bolsa cloacal dentro de la tabla y la figura 10 en el día catorce, se observa que el grupo con mayor peso fue el grupo 3, con un promedio de 0.82% del peso corporal, seguido del grupo 1, que presentó un peso de 0.47% y por último el grupo 2, que presentó un promedio de 0.24%. Se encontraron diferencias de 0.23% entre los grupos experimentales, 0.578% del grupo 3 respecto al grupo con 2 y 0.34% entre el grupo 3 y el grupo 1. El valor de P resultó menor a 0.05, considerándose así que existía una diferencia significativa entre los grupos experimentales respecto al grupo 3 (figura 10, cuadro 10).

Hallazgos Morfopatológicos

Los hallazgos morfológicos encontrados durante los muestreos realizados fueron los siguientes:

En el hígados de los animales sometidos a tratamiento con aflatoxinas, se encontró aumento de tamaño, con los bordes redondeados (hepatomegalia); coloración amarillenta generalizada; tonalidades rojizas en forma de puntilleo rojizo delimitado de 1 mm de diámetro (petequias).

En el bazo, se encontraron zonas rojas bien delimitadas de 2 - 3 mm de diámetro correspondientes a equimosis distribuidas en todo el órgano (hemorragia); y bazos disminuidos de tamaño en un 30% respecto a lo normal, con una coloración pálida (atrofia).

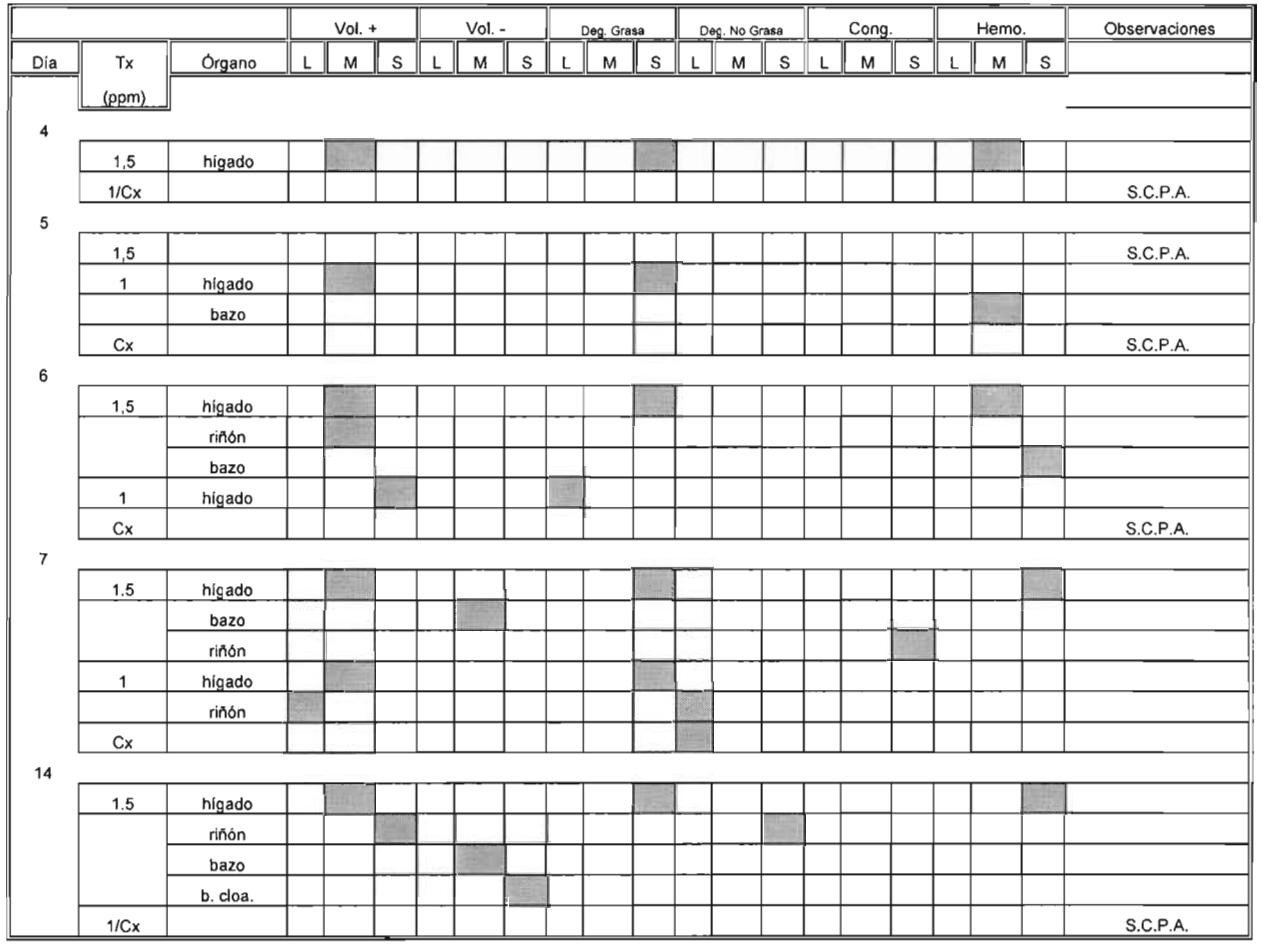
En el riñón, se encontró aumento en el tamaño en ambos lóbulos, sobresaliendo de la cavidad abdominal, (nefromegalia); coloraciones pálidas difundidas a lo largo del órgano que representan zonas de degeneración del parénquima (nefrosis); vascularización muy evidente por fuera del órgano, y un color rojo intenso en el parénquima (congestión).

En la bolsa cloacal se observó una disminución notable del tamaño del órgano, quedando hasta de la mitad del tamaño de las bolsas cloacales de los animales del grupo control (atrofia).

- **Distribución de Lesiones:**

La distribución de las lesiones según los diferentes tratamientos y días de experimentación en que fueron tomados se presentan en el cuadro 1 en el cual se indican también el órgano afectado y la severidad de las lesiones encontradas; las siglas S.C.P.A. marcan que no se encontraron cambios patológicos aparentes:

- S.C.P.A. indica ausencia de cambios patológicos aparentes.
- L: Indica grado de daño leve.
- M: Indica grado de daño moderado.
- S: Indica grado de daño severo.



Día	Tx (ppm)	Órgano	Vol. + L	Vol. + M	Vol. + S	Vol. - L	Vol. - M	Vol. - S	Deg. Grasa L	Deg. Grasa M	Deg. Grasa S	Deg. No Grasa L	Deg. No Grasa M	Deg. No Grasa S	Cong. L	Cong. M	Cong. S	Hemo. L	Hemo. M	Hemo. S	Observaciones
4																					
	1,5	hígado		■							■								■		
	1/Cx																				S.C.P.A.
5																					
	1,5																				S.C.P.A.
	1	hígado		■							■										
		bazo																	■		
	Cx																				S.C.P.A.
6																					
	1,5	hígado		■							■								■		
		riñón		■																	
		bazo																		■	
	1	hígado			■					■											
	Cx																				S.C.P.A.
7																					
	1.5	hígado		■							■									■	
		bazo					■														
		riñón															■				
	1	hígado		■							■										
		riñón	■									■									
	Cx											■									
14																					
	1.5	hígado		■							■									■	
		riñón			■									■							
		bazo					■														
		b. cloa.						■													
	1/Cx																				S.C.P.A.

Cuadro 1: Lesiones macroscópicas encontradas

- **Hallazgos histopatológicos:**

Las lesiones microscópicas observadas con mayor frecuencia en las aves que consumieron AFB1 fueron:

HÍGADO:

a) Hepatosis albuminosa multifocal moderada a severa
b) Hepatosis vacuolar (grasa) difusa moderada a severa
c) Congestión difusa moderada a severa
d) Hemorragia multifocal moderada
e) Apoptosis multifocal moderada
f) Hiperplasia de conductos biliares difusa moderada a severa
g) Necrosis coagulativa multifocal moderada
h) Hepatitis no supurativa aguda periportal moderada
i) Fibrosis hepática difusa leve

RIÑÓN:

a) Nefrosis albuminosa difusa leve
b) Degeneración vacuolar mutifocal leve
c) Congestión renal difusa leve
d) Necrosis coagulativa multifocal leve
e) Nefritis intersticial aguda multifocal moderada
f) Atrofia renal por sustitución leve

BAZO:

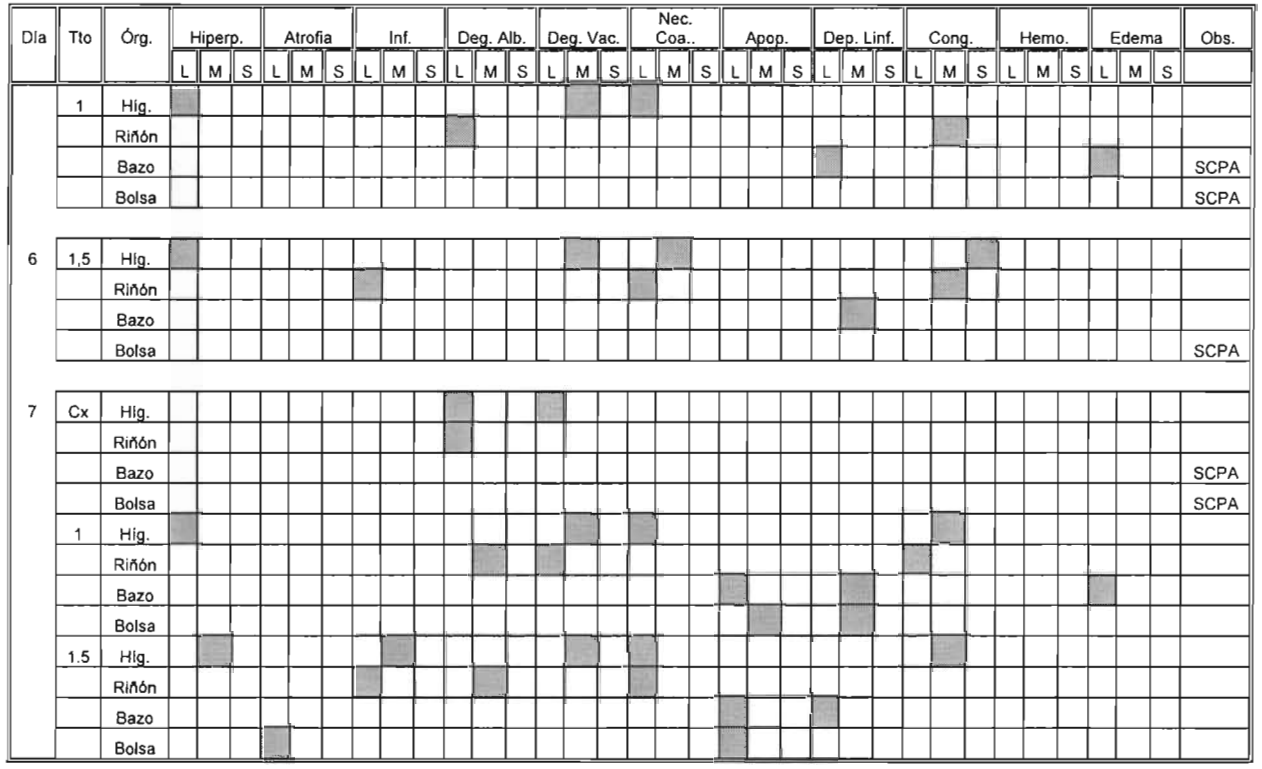
a) Deplesión linfoide moderada a severa:
b) Apoptosis difusa leve a moderada
c) Hemorragia multifocal moderada
d) Edema multifocal leve

BOLSA DE FABRICIO:

a) Deplesión linfoide difusa moderada a severa
b) Edema multifocal moderado
c) Apoptosis difusa moderada a severa

- **Distribución de Lesiones:**

Cada uno de los tratamientos presentó lesiones en común, así como algunas diferentes. Según el tratamiento, el día de experimentación, severidad y presentación, las lesiones encontradas durante la experimentación se encuentran clasificadas en el cuadro 2.


Día
Tto
Órg.
Hiperp.
Atrofia
Inf.
Deg. Alb.
Deg. Vac.
Nec. Coa..
Apop.
Dep. Linf.
Cong.
Hemo.
Edema
Obs.
L M S
1
Hig.
Riñón
Bazo
Bolsa
SCPA
6
1,5
7
Cx
1.5

Día	Tto	Org.	Hiperp.			Atrofia			Inf.			Deg. Alb.			Deg. Vac.			Nec. Coa..			Apop.			Dep. Linf.			Cong.			Hemo.			Edema			Obs.
			L	M	S	L	M	S	L	M	S	L	M	S	L	M	S	L	M	S	L	M	S	L	M	S	L	M	S	L	M	S	L	M	S	
14	Cx	Hig.																																		
		Riñón																																		
		Bazo																																		SCPA
		Bolsa																																		SCPA
	1	Hig.																																		
		Riñón																																		
		Bazo																																		
		Bolsa																																		
	1.5	Hig.																																		
		Riñón																																		
		Bazo																																		
		Bolsa																																		

Cuadro 2: Lesiones microscópicas encontradas.

- S.C.P.A. indica ausencia de cambios patológicos aparentes.
- L: Indica grado de daño leve.
- M: Indica grado de daño moderado.
- S: Indica grado de daño severo.

DISCUSIÓN

Peso

Al realizar los cálculos estadísticos, se encontró una diferencia significativa entre el grupo tratado con 1.5 ppm y el grupo control, comprobando así que a los 14 días, hubo una alteración de la ganancia de peso de los animales causada por las aflatoxinas, ya que éstas causan estragos a nivel hepático, alterando el paso de los nutrientes a través del sistema porta para su biotransformación en el órgano y afectando también la síntesis de proteínas, grasas y otros nutrientes necesarios para el crecimiento (21).

Además, la letargia producida por la baja del metabolismo del animal, provoca que el animal reduzca su ingesta y por lo tanto, no obtiene el mismo crecimiento que los animales libres de las aflatoxinas. Los resultados obtenidos coinciden con trabajos de investigación de Osborne (1984) y Da Falla (1987) , que indican que desde las 0.7 ppm de aflatoxinas en el alimento administrado por 2 semanas, comienza a disminuir el peso corporal de los pollos, mientras que a 1.1 ppm, tanto el peso corporal como la ganancia de peso se afectan grandemente (6).

Los signos de la enfermedad en las aves incluyen inapetencia e incluso anorexia, lo que potencializa la baja de peso en los animales con el mayor consumo de aflatoxinas respecto a los animales con menor cantidad y los libres de aflatoxinas en el alimento. Calnek (2003) comenta que se necesita una dosis mayor a 1 ppm de aflatoxinas en el alimento para generar un bajo índice de conversión y crecimiento (21), dato que concuerda en cuanto al crecimiento con los hallazgos encontrados en el experimental, ya que aunque el peso de los animales con 1 ppm fue menor que el del grupo control, la diferencia no fue suficiente para ser tomada en cuenta estadísticamente

En cuanto al índice de conversión, éste si tuvo un efecto notorio tanto en los animales tratados con 1.5 ppm como en los tratados con 1 ppm, bajando su eficiencia al transformar el alimento de manera muy importante, y por lo tanto, en este trabajo experimental se concluye que a las 2 semanas de proporcionar a los animales 1 ppm de aflatoxinas, existe un cambio en la conversión alimenticia de los mismos.

En los estudios de Quezada et. al. (2000) acerca de la afección de los parámetros productivos en los pollos de engorda, se señala que al administrar 2 ppm de AFB1, se observó que el peso sufrió un decremento notable y estadísticamente diferente ($p>0.05$) comparado con el grupo que no recibió aflatoxinas, siendo este efecto evidente a los 14 días de la administración del tratamiento y siendo máximo a los 28 días (17). En el caso del experimental, se tiene una coincidencia al haber un decremento estadísticamente diferente a los 14 días de experimentación en el grupo tratado con 1.5 ppm de AFB1, pero no en el grupo tratado con 1 ppm de AFB1.

Porcentaje de Hematocrito

Jordan (2002), Calnek (2003) y Jassar y Singh (1993) entre otros, mencionan que la mayor cantidad de aflatoxinas se encuentra en los órganos involucrados en la biotransformación de las aflatoxinas, seguidos de los órganos con mayor actividad metabólica, que incluyen entre otros a la médula ósea, por ser un tejido activo y con una división celular constante al producir las células de la fórmula roja, fórmula blanca y plaquetas (6) (12) (18) (21).

Al realizar los análisis de hematocrito durante los días de experimentación tanto en el día siete como en el día catorce no se observó ningún cambio estadístico entre los grupos a lo largo del experimento. Esto podría explicarse al tomar en cuenta que la vida media de los eritrocitos en el torrente sanguíneo, es de 120 días (21). Al tener una vida tan larga, aunque la médula ósea sea un tejido con alta actividad y por lo tanto susceptible a las aflatoxinas, los cambios significativos no se verán hasta dentro de meses, cuando los eritrocitos que se encuentran circulantes en el momento de

la experimentación tengan que ser sustituidos (4). Al ser este un experimento de dos semanas, no se aplicó el tratamiento durante el tiempo suficiente para comprobar los trastornos que provocan las aflatoxinas en la médula ósea

La baja de células sanguíneas se debe a la afección de la médula ósea por las aflatoxinas como una de las consecuencias de la aflatoxicosis crónica (6); Consideramos que para tener un efecto marcado sobre la producción de eritrocitos es necesario que el consumo de aflatoxinas sea por un periodo mayor al utilizado en este trabajo.

Aspartatoaminotransferasa

La diferencia máxima encontrada entre los grupos tratados con AFB1 respecto al grupo control de 13.5 veces la cantidad de enzimas sanguíneas en el día siete y de 10 veces en el día catorce, hace evidente que los niveles de AST para el grupo de 1.5 ppm y 1 ppm está aumentado en gran medida, indicando que existe un daño en los hepatocitos de los pollos que aumenta a medida que se aumenta la dosis y/o el tiempo de exposición a la AFB1; La detección de ésta enzima en suero nos indica lesión en músculo cardiaco, hígado y músculo esquelético. La elevación en la AST tiene como causa más frecuente el daño hepático, incrementándose moderadamente (de dos a cuatro veces el valor normal) cuando existe una lesión de tejidos, mientras que en la necrosis hepática se ocasiona una elevación severa (4). Esto se da ya que los hepatocitos tienen dentro la enzima AST, la cual al lesionarse el hepatocito, es liberada hacia el torrente sanguíneo y captada por medio de una muestra de sangre, lo que explica que los niveles de esta enzima se encuentren aumentados en gran cantidad dentro de los grupos tratados con aflatoxinas (4).

En el día catorce, los niveles para el grupo de 1 ppm de la enzima AST han aumentado en gran medida, llegando a niveles ligeramente mas bajos que el grupo de 1.5 ppm e indicando así, que el daño hepático para el grupo con 1 ppm de aflatoxinas se desarrolló en un poco más de tiempo de exposición a la aflatoxina por haberse expuesto a niveles mas bajos, comprobando así

que el nivel de daño hepático y el tiempo para que éste se de, van relacionados proporcionalmente a la cantidad de aflatoxinas que se brinden en el alimento y el tiempo de exposición a las mismas (14) (17).

El grupo control sigue en niveles muy bajos y similares en ambos días de AST, y de esta manera, al tener a los animales en condiciones iguales, exceptuando las aflatoxinas en el alimento de los grupos experimentales, nos indican que éstas están generando el daño hepático.

Cabe mencionar, que los niveles de la enzima AST, al igual que de la enzima ALT, son captables en altos niveles durante las primeras semanas desde que se generó el daño hepático (4).

Alaninaminotransferasa

Al igual que los niveles de AST, los niveles de ALT se aumentan en sangre al ser liberadas estas enzimas por los hepatocitos al torrente sanguíneo, además de aumentar por lesiones en músculo cardiaco, músculo esquelético y tejido pulmonar (4). En el caso del hígado, la elevación sucede cuando los hepatocitos, dentro de los cuales se encuentran ambas enzimas, son dañados o necrosados, en este caso por las aflatoxinas, como ya fue mencionado anteriormente.

Tanto en el día 7 como en el día 14, se notó un gran aumento de ALT del grupo con 1.5 ppm, así como del grupo de 1 ppm, algo similar a lo que pasó con AST en el día 14. En este caso, el aumento del día 7 al día 14 de ALT para el grupo con 1.5 ppm fue grande, mientras que para el grupo de 1 ppm fue mayor en proporción ya que fue de más del doble. El grupo control se mantuvo en niveles basales, indicando que la enzima ALT se modificó por el tratamiento de aflatoxinas, ya que como fue mencionado anteriormente, los animales se encontraban en las mismas condiciones exceptuando la variable experimental.

Algunos autores consideran que dicha medición no es una prueba diagnóstica útil para el daño hepático en las aves (4) sin embargo, los resultados obtenidos con gran aumento de ALT, siendo de 6 veces mas del grupo experimental tratado con 1.5 ppm respecto al grupo control en el día siete y de 15 veces respecto a los mismos grupos comparados en el día 14, nos indican que en este caso, la elevación de la enzima sí fue prueba diagnóstica del daño hepático generado por las aflatoxinas.

Peso de Hïgado:

La afección del hígado se explica ya que este es un órgano involucrado en la biotrasformación de AFB1, y es por lo tanto donde se encuentra la mayor acumulación de la misma convirtiéndose así en un órgano blanco para la afección de las aflatoxinas. Los metabolitos hidrosolubles resultantes incluyen a las aflatoxinas M1, Q1, P1 y aflatoxicol, que aunque son menos dañinos, siguen causando estragos graves a las células del hígado al ser altamente activos y una vez que las aflatoxinas han entrado al organismo por vía porta, llegan al hígado que se encarga de su biotransformación por medio de la hidroxilación con la enzima citocromo P-450 y la glucoronización dentro de los hepatocitos, donde en el retículo endoplasmático liso, sufren dicha biotransformación, produciéndose de ellas metabolitos hidrosolubles (entre ellos aflatoxinas M1, B2a, Q1 y Aflatoxicol (6) (12) (13) (15) (17) (21).

Además, también se realiza aquí la eliminación de las aflatoxinas por vía biliar, ocasionando alteraciones graves en este órgano, ya que la concentración de aflatoxinas en la bílis es 7 veces mayor que la concentración total en el plasma (6), ocasionando así daños irreversibles en el parénquima hepático y vías biliares, los cuales van desde degeneración, congestión, edema, hasta la hiperplasia de los conductos biliares por mutaciones al ligarse al DNA y RNA de las células e incluso neoplasias hepatocelulares y colangiocelulares a largo plazo (6) (11) (21), lesiones que se encontraron dentro de los tratamientos con 1 y 1.5 ppm de aflatoxinas, siendo mucho más severos

en el segundo caso, exceptuando las neoplasias, ya que el periodo experimental no fue suficientemente largo para observar este tipo de procesos.

En el día siete de experimentación se observó una ligera disminución de peso en los hígados de los animales de los grupos experimentales respecto al grupo control, aunque esta diferencia no haya sido significativa, ésto se puede explicar, ya que en la necropsia de los animales con el tratamiento con 1.5 ppm de aflatoxinas, se observó un aspecto friable, amarillento y con bordes redondeados en el hígado y al ver el corte histopatológico se comprueba que es un hígado graso (acumulación de vaculolas lipídicas dentro de los hepatocitos, las cuales generan un menor peso en el mismo comparado con un órgano con un parénquima normal) (6) (11) (12) (13) (15) (21)

Se puede explicar que esta diferencia no haya sido significativa ($P>0.05$) al encontrar como segundo hallazgo la hiperplasia de los conductos biliares (6) (11) (15) (21) que genera en primera instancia una hiperplasia, y posteriormente una displasia celular ocasionando a final de cuentas una neoplasia tipo hematoma (colangiocelular o hepatocelular), dependiendo el sitio de acción de la toxina. El crecimiento de dichas células, así como la irritación de los hepatocitos debido al daño producido por las aflatoxinas al liberar mediadores químicos que generan inflamación y edema (15), producen que en los animales más afectados por las toxinas se aumente el peso del hígado en estadíos agudos. Además los hepatocitos tienen que aumentar la cantidad de retículo endoplasmático liso (13) (15) para poder afrontar la biotransformación de las toxinas y por lo tanto, se produce una hipertrofia de los hepatocitos, provocando que en el peso del hígado no sean evidentes los trastornos generados por las aflatoxinas.

Al tomar de nuevo las muestras el día 14 de experimentación, tuvimos promedios de peso con diferencias mayores entre los grupos que en el día 7. El mayor peso fue para el hígado de los animales del grupo control siendo más ligeros los hígados de los grupos experimentales.

Las diferencias de peso entre los grupos experimentales respecto al control al día catorce se explican ya que las aflatoxinas como ya se mencionó, actúan progresivamente a nivel de DNA y RNA tanto en los hepatocitos como en el epitelio de los conductos biliares, teniendo dos vías: la vía de la mutación y la vía de la necrosis debido a ese enlace con los ácidos nucléicos; y al haber una necrosis de las células hepáticas debido a la acción de las aflatoxinas sobre ellas, se genera un proceso de cicatrización en el hígado produciendo una fibrosis hepática (12) (21), la cual genera un menor peso en los hígados de los animales afectados que en los animales en los que no generó ningún daño la aflatoxina.

También se menciona que los hígados pueden ser mas pequeños de lo normal sobretodo en animales jóvenes, como los que utilizamos en el experimental, debido además de la necrosis, a la inhibición mitótica generada por el enlace de las aflatoxinas en el DNA de los hepatocitos, ya que impide el crecimiento normal del hígado de un animal joven (13).

Aunque la diferencia no haya sido significativa, se encontraron cambios muy evidentes en los grupos experimentales respecto al grupo control macro y microscópicamente, observándose en general hígados friables, con bordes redondeados, zonas de hemorragias y aspecto de hepatosis grasa en la necropsia y la confirmación de esta hepatosis y necrosis coagulativa microscópicamente, además de la hiperplasia de conductos biliares (2) (5) (6) (11) (12) (13) (15) (19) (21), cambios que pudieron llegar a balancear hasta cierto punto los pesos entre los órganos normales y los órganos alterados para no tener una diferencia significativa de los pesos entre ellos.

Al comparar el trabajo experimental con los trabajos de Watts et. al. (2003), se encontró que en los estudios no hubo una diferencia significativa en los pesos relativos de los hígados de los animales tratados con 2 ppm de AFB1 sino hasta los 21 días, dato coincidente con el experimental, en el cual se observó una diferencia en los datos a los 14 días, pero esta no fue lo suficientemente grande para ser tomada en cuenta estadísticamente(24).

Peso de Riñón

La mayor acumulación de AFB1 dentro del organismo, se da en los órganos donde se realiza la biotransformación y eliminación de las aflatoxinas, que son el hígado y el riñón principalmente (6).

Dentro del experimental, en el día siete los animales de los grupos experimentales y el grupo control tuvieron pesos similares, sin diferencias significativas. Sin embargo, en el día 14 experimental, se encontraron pesos diferentes entre los grupos experimentales que fueron más ligeros que el grupo control.

Al tener los riñones de los animales tratados con 1.5 y 1 ppm de aflatoxinas un peso menor, nos indica que las aflatoxinas tuvieron un efecto mayor en estos grupos, sobretodo en el grupo tratado con 1.5 ppm que tuvo el menor peso. Esto se explica ya que las aflatoxinas, una vez que han entrado al organismo por vía porta y llegan a los hepatocitos, se biotransforman, produciéndose de ellas metabolitos hidrosolubles que son eliminados en una proporción de 7 a 1 entre bílis y la orina respectivamente (6). Estos metabolitos, son dañinos, aunque menos que el metabolito original (6) (12) (13) (15).

Se menciona que la AFM1, metabolito producido en el hígado a partir de la AFB1, es la que se encuentra en el riñón en mayor cantidad, ya que al eliminarse por la orina, daña a su paso el parénquima renal (6) uniéndose al DNA, RNA, DNA mitocondrial y proteínas (6) (12) (13) (15) (21) y generando a nivel renal lesiones en el glomérulo, fibrosis intersticial, debilitamiento de los ovillos capilares, degeneración albuminosa y vacuolar y necrosis en el epitelio de los túbulos renales, lesiones observadas en el grupo tratado con 1 ppm, con su posterior fibrosis y atrofia (6) (21), lesiones observadas en el grupo afectado por 1.5 ppm durante el experimental, lo que ocasiona una menor circulación de sangre y por lo tanto, menor peso en los órganos más afectados.

Se presume que la disminución de tamaño de los riñones de los animales tratados con 1 ppm de aflatoxinas, se debe a la fibrosis progresiva de dicho órgano, ocasionando una disminución de peso paulatina por una dosificación paulatina de aflatoxinas en menor cantidad. El grupo tratado con 1.5 ppm no tuvo un aumento de peso importante del día siete al catorce, teniendo siempre el peso más bajo, indicando así que al haber consumido mayor cantidad de aflatoxinas, el proceso de fibrosis fue más agudo y por lo tanto, ésta lesión ocurrió más rápido que en el grupo con 1 ppm.

Azuzu y Shetty (1986) mencionan que para que se produzcan hemorragias y necrosis de los túbulos renales, son necesarias 2.65 ppm de AFB1. En el experimental fue comprobado que desde una dosis de 1 ppm se puede observar la necrosis coagulativa, mientras que desde 1.5 ppm se puede observar la fibrosis intersticial.

Los animales que fueron sacrificados o se encontraron muertos en los primeros días de experimentación, presentaron lesiones severas en el riñón, incluyendo la necrosis coagulativa encontrada en el día 14 de experimentación, comprobando que en algunos animales las aflatoxinas tienen un efecto más tóxico que en otros, debido a la susceptibilidad de cada individuo (4) (21).

Al hacer la comparación entre los datos hallados en trabajos de Quezada et. al. (2000) y los datos encontrados en el experimental, se encuentra que hay coincidencia en que los pesos de los grupos experimentales fueron significativamente diferentes respecto al grupo control, sin embargo, la dosis en la cual se obtuvo una diferencia significativa en el trabajo de Quezada (17), fue en el grupo tratado con 2 ppm y fue evidente hasta los 21 días, a diferencia de nuestro experimental, en el cual, la diferencia significativa se dio tanto del grupo tratado con 1 ppm como del grupo tratado con 1.5 ppm y la diferencia fue significativa a los 14 días de tratamiento.

Órganos Linfoides (Bazo y Bolsa Cloacal)

Los órganos con mayor actividad metabólica son afectados de gran manera. La bolsa de Fabricio y el bazo, al ser órganos linfoides con gran actividad metabólica y de división por la respuesta inmune de producción de linfocitos B de los animales a diferentes antígenos a los cuales se exponen cada día, es un órgano blanco paras las aflatoxinas (6).

Además, las aflatoxinas tienen mayor toxicidad por afinidad en los linfocitos B, producidos en la bolsa cloacal (21).

En el experimental, en el día 14, se encuentra una diferencia no significativa de peso entre las bolsas cloacales de los dos grupos tratados con 1 y 1.5 ppm, esto puede deberse a la diferencia entre la cantidad de aflatoxinas a las que fueron expuestos, los animales pudieron estar en diferentes etapas de afección al momento de tomar la muestra, encontrándose el grupo con 1.5 ppm con un alto peso debido a la estimulación de las aflatoxinas al irritar la bolsa y producir inflamación y edema que fue encontrado en la histopatología de la misma, y las del grupo con 1 ppm se encontraron con bajo peso debido a la deplesión linfoide encontrada sin cambios circulatorios. o el proceso de fibrosis debido al efecto más severo de las aflatoxinas necrosando los linfocitos B y los centros germinativos de los mismos(6) (21).

También se menciona una disminución en la respuesta mitogénica tanto en los linfocitos B como en los T debido al enlace de las aflatoxinas con los linfoblastos (12), estrago encontrado debido a los cambios que producen las aflatoxinas a nivel polirribosomal y de ácidos nucléicos, generando cambios en la acción enzimática, el metabolismo y los ciclos celulares, provocando que las células afectadas entren en estados de necrosis y apoptosis (8).

A la histopatología, fue observada deplesión linfoide y apoptosis, sin encontrar cambios vasculares, explicando así, que las bolsas de los animales tratados con 1 ppm de AFB1 tengan un

menor peso que las de los animales tratados con 1.5 ppm de AFB1. La diferencia estadística entre los grupos experimentales y el grupo control nos indica que las lesiones encontradas en la histopatología y la consecuente disminución de peso debido a la patogenia de las aflatoxinas sobre las células de la bolsa cloacal, son debidas a los tratamientos con aflatoxinas a los que los animales fueron expuestos.

Para el bazo en el experimental, dentro del día 7, los pesos promedio no tuvieron diferencias estadísticas entre sí, sin embargo se encuentra un ligero aumento de peso de los grupos experimentales respecto al grupo control. El que no se encuentren en el día 7 diferencias entre los grupos, nos indica que no ha pasado el tiempo suficiente para que el bazo sea afectado de manera notoria. Al comparar nuevamente los grupos al día 14 de experimentación, se comprueba una disminución en el peso de los grupos experimentales respecto al grupo control, lo que nos indica que hubo un efecto dañino de las aflatoxinas sobre el bazo en los grupos experimentales, encontrándose histopatológicamente una deplesión linfoide debido al efecto más severo de las aflatoxinas sobre los folículos linfoides, necrosando los linfocitos B y los centros germinativos de los mismos(6) (21).

Dicho daño al bazo es generado gracias a la toxicidad que producen las aflatoxinas sobre los linfocitos, sobre todo los tipo B (21), además de la disminución en la respuesta mitótica de los linfoblastos que se da en todos los órganos linfoides impidiendo la nueva formación de linfocitos B y T (12) y por último una necrosis del parénquima del órgano, produciendo una fibrosis e impidiendo así el paso de la sangre a través del órgano y por lo tanto generando un menor peso en dichos grupos experimentales respecto al peso de los bazos de los animales del grupo control. Algunos autores mencionan que se encuentra un aumento en el tamaño del bazo debido a la inflamación y edema del órgano como respuesta al daño de las aflatoxinas (12); este efecto no se observó en el trabajo, cuyos datos concuerdan con otros autores que mencionan que hay una atrofia en el bazo, dada por la toxicidad contra los linfocitos, así como la deplesión e inhibición mitótica ya mencionadas (6) (12).

Se menciona que el peso absoluto del bazo se reduce a partir de las 3 ppm de aflatoxina en el alimento (6), sin embargo, en nuestro caso, el efecto de disminución de peso del órgano se dio y fue significativo estadísticamente desde la dosis de 1 ppm. El menor peso en el bazo de los animales tratados con 1 ppm se debe a que aunque no hay signos de fibrosis dentro del órgano, no se encuentran cambios vasculares dentro de él (edema y hemorragia) que si son encontrados en los bazos de los animales tratados con 1.5 ppm de aflatoxinas y que aumentan el peso de los mismos, aunque éstos presenten fibrosis.

Al comparar las lesiones encontradas en el experimental con las lesiones encontradas en la bibliografía (8), se nota que tuvieron concordancia en cuanto a la inmadurez de las células encontradas, ya que la mayoría de las células encontradas tanto en el experimental como en la bibliografía correspondieron a linfoblastos y no linfocitos. Los estudios coinciden también al no haberse presentado signos de inflamación, pero no coinciden en cuanto a la presencia de hemosiderina, señalada en la teoría y no encontrada en el experimental.

CONCLUSIONES

- El efecto en el hematocrito por la adición de aflatoxinas en el alimento, no se observó en los animales de los grupos experimentales, ya que el tiempo de exposición a la aflatoxina fue solo de 14 de días, insuficiente para causar daño a médula ósea y así disminuir la producción eritrocítica en médula ósea.

- El efecto sobre el hígado de las aflatoxinas fue observado por medio de la elevación de las enzimas hepáticas ALT y AST, enzimas que se encuentran dentro de los hepatocitos y se liberan en gran cantidad en las fases aguda y subaguda del daño hepático. Dichas enzimas fueron estadísticamente diferentes al grupo control desde el día siete de experimentación, siendo superados los valores basales encontrados en el grupo control hasta 13 veces en el caso de AST y hasta 15 veces en el caso de ALT, datos que hacen notar que ambas enzimas son indicadores tempranos y altamente sensibles a la lesión funcional hepática, en este caso, por aflatoxinas.

- Las lesiones macroscópicas fueron coincidentes en todos los casos con las lesiones microscópicas encontradas, las cuales fueron compatibles a su vez con las lesiones descritas en las diversas bibliografías. Los pesos relativos de los órganos fueron coincidentes también con las lesiones encontradas. Los órganos que tenían fibrosis y/o depleción linfoide se encontraban con menor peso, mientras que los órganos que tenían cambios vasculares como congestión y edema eran mas pesados aunque se encontraran afectados.

- El grupo que tuvo la mayor cantidad de ALT y AST liberadas fue el grupo afectado con 1.5 ppm de AFB1 este grupo fue también el afectado en mayor grado en cuanto a lesiones macroscópicas y microscópicas, encontrando en los hígados de los animales de dicho grupo las lesiones mas severas de necrosis, degeneración grasa y fibrosis hepática, explicándose así, la mayor liberación de las enzimas ALT y AST en estos animales.

- La velocidad de crecimiento y el consumo se vieron mermados en gran medida en el grupo que consumió el alimento con 1.5 ppm de aflatoxina, seguido por grupo tratado con 1 ppm que también presentó una disminución en cuanto a la velocidad de crecimiento y al consumo del alimento, aunque en menor medida que el grupo tratado con 1.5 ppm. La baja de estos parámetros en los animales, también denota una baja en la conversión alimenticia de los grupos experimentales. Podemos concluir que la presencia de aflatoxinas en el alimento genera grandes problemas en los parámetros productivos de las aves de engorda y por lo tanto, también grandes pérdidas económicas a los productores.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Bata, Árpad; Lásztity, Radomir.** *"Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms"* Trends in Food Science & Technology, Vol. 10, p.p. 223 - 228, 1999.

2. **Bennet, J.W.; Klich, M.** *"Mycotoxins"*. Clinical Microbiology Reviews, Vol. 16, No. 3, p.p. 497 - 516, Julio 2003.

3. **Castaing, Julien.** *"Uso de las Arcillas en Alimentación Animal"*. XIV Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. FEDNA. Pau, Francia, 1998.

4. **Coles, Embert H.** *"Diagnóstico y Patología en Veterinaria"* 4ª Edición p.p. 285-299. Editorial Interamericana * McGraw-Hill, México, 1999.

5. **Gimeno, Alberto; Martins, Maria Ligia.** *"Métodos de Análisis de Micotoxinas en piensos compuestos y materias primas"*. Revisión 1. II Conferencia - Salon de Fabricantes de Piensos del Mediterráneo, Tarragona, España. Marzo de 1988.

6. **Groopman, John D.; Eaton, David L.** *"Aflatoxins"* 1st. Edition p.p. 250-267. Editorial Elvesier, E.U.A. 1994.

7. **Guzmán de Peña, Doralinda.** *"Mitos y Realidades de las Micotoxinas"*. Revista Avance y Perspectiva, Volumen 20, p.p. 415 - 420 Noviembre - Diciembre, 2001.

8. **Hinton, Dennis M.; Myers, Michael, J. ; Raybourne, Richard A. ; Francke-Carroll, Sabine ; Sotomayor, Rene E. ; Shaddock, Joseph ; Warbritton, Alan ; Chou, Ming W.** *"Inmunotoxicology"* Toxicology Sciences, Vol. 73, p.p. 362 - 377, Abril, 2003.

9. **Jaimez, J.; Fente, C.A.; Vazquez, B.I.; Franco, C.M.; Cepeda, A.; Mahuzier, G.; Prognon, P.** *"Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescente detection in food análisis"* Journal of Chromatography A, Vol. 882, p.p. 1 - 10, 2000.

10. **Jayashree, T.; Subramanyam, C.** *"Oxidative stress as a prerequisite for aflatoxin production by Aspergillus parasiticus"*. Free Radical Biology & Medicine, Vol. 29, No. 10, p.p. 981 - 985, 2000.

11. **Jones, Thomas Canyle; Duncan, Ronald; King, Norval W.;** *"Veterinary Pathology"* 6th Edition p.p. 539-541. Editorial Lippincott, Williams & Wilkins, E.U.A. 1997.

12. **Jordan, E.T.W.; Pattison, M.** *"Poultry Diseases"* 5th Edition, p.p. 394, 395. W.B. Saunders, E.U.A. 2002.

13. **Jubb, K.V.F.; Kennedy, P.C.; Palmer, N.** *"Patología de los Animales Domésticos"* 3ª Edición, Tomo 2 p.p. 339,340. Editorial Hemisferio Sur Mundi-Prensa AEDOS México, 1991.

14. **Marin, D.E.; Taranu, I.; Bunaciu, R.P.; Pascale, F.; Tudor, D.S.; Avram, N.; Sarca, M.; Cureu, I.; Criste, R.D.; Suta, V.; Oswald, I.P.** *"Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin"*. Journal of Animal Science, Vol. 80, p.p. 1250 - 1257, 2002.

15. **Mc. Donald, Mc Gavin; Carlton, William W.; Zachari, James F.** *"Thomson's Special Pathology"* 3rd. Edition p.p. 110, 111, 149. Editorial Mosby, Estados Unidos de América, 2001.

16. **Peña Betancourt Silvia Denise.** *"Algunas consideraciones sobre la contaminación por micotoxinas en alimentos agropecuarios en México y en el mundo"*. Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Producción Agrícola y Animal. Laboratorio de Toxicología. 1997.

17. **Quezada, T.; Cuéllar, H.; Jaramillo-Juárez, F.; Valdivia, A.G.; Reyes, J.L.;** *"Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development"*. Comparative Biochemistry and Physiology part C 125, p.p. 265 - 272, 2000.

18. **Roy, S.K.; Kulkarni, A.P.** *"Aflatoxin B1 Epoxidation catalysed by partially purified human liver lipoxygenase"*. Xenobiotica, Vol. 27, No. 2, 231 - 241.

19. **Rustom, Ismail Y.S.** *"Aflatoxin in food and feed: ocurrente, legislation and inactivation by physical methods"*. Food Chemistry, vol. 59, No. 1, p.p. 57 - 67, Gran Bretaña, 1997.

20. **SAGARPA, SSA.** *"Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias"*. Diario Oficial de la Federación, Segunda sección, p.p. 1 - 22. México, Octubre de 2002.

21. **Saif, YM; Barnes, H.J.; Glisson, J.R., Fadly, A.M.; Mc Dougald, L.R.; Swayne, D.E.** *"Calnek's Diseases of Poultry"* 11th Edition p.p. 1109-1113. Iowa State Press, E.U.A. 2003.

22. **Sotomayor, Rene E.; Washington, Melissa; Nguyen, Linh; Nyang'anyi, Rahma; Hinton, Dennos M.; Chou, Ming.** *"Effects of Intermittent Exposure to Aflatoxin B1 on DNA and RNA Adduct Formation in Rat Liver: Dose-Response and Temporal Patterns".* Toxicological Sciences, Vol. 73, p.p. 329-338, 2003.

23. **Wang, Jia-Sheng; Groopman, John D.** *"DNA damage by mycotoxins"* Mutation research, No. 424, p.p. 167 – 181. 1999.

24. **Watts, C.M.; Chen, Y.C.; Ledoux, D.R.; Broomhead, J.N.; Bermudez, A.J.; Rottinghaus, G.E.** *" Effects of Multiple Mycotoxins and a Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate in Poultry".* International Journal of Poultry Science 2, Vol. 6, p.p. 372 – 378, 2003.

APÉNDICE

PESO CORPORAL:

Cuadro 3.1: Datos estadísticos de los días 1 a 14 de experimentación para la variable de peso corporal.

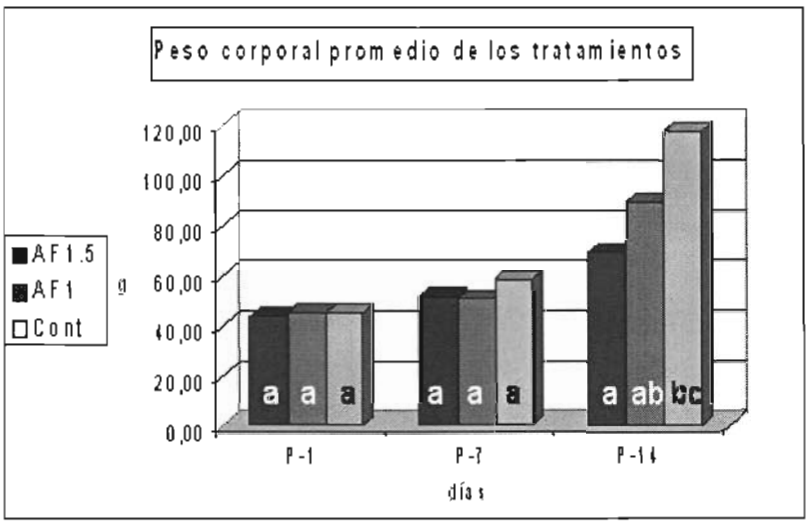
Tiempo	Día 1		Día 7		Día 14	
Tratamiento	No. Aves	Media (g) / Literal	No. Aves	Media (g) / Literal	No. Aves	Media (g) / Literal
AF 1.5	10	43,83 +/- 12,05 a	5	52,12 +/- 10,78 a	3	69,7 +/- 43,69 a
AF 1	10	45,48 +/- 12,05 a	8	50,85 +/- 8,97 a	5	89,58 +/- 35,03 ab
Control	10	45,06 +/- 12,05 a	10	58,5 +/- 10,36 a	7	117,857 +/- 41,2 bc

- Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($P<0.05$).

Tabla 3.2: Parámetros productivos por grupo.

	Día 7					Día 14				
Tto	No. Aves	Consumo Total (Kg)	Consumo/ Ave (Kg)	Ganancia de Peso	Índice Conv.	No. Aves	Consumo Total (Kg)	Consumo/Ave (Kg)	Ganancia de Peso	Índice Conv.
AF 1.5	6	0,57	0,095	0,008	11,88	3	0,38	0,13	0,018	7,222
AF 1	8	0,575	0,072	0,005	14,4	4	0,675	0,17	0,038	4,474
Control	9	0,685	0,076	0,013	5,846	5	0,925	0,19	0,059	3,22

Figura 3: Peso corporal promedio de los tratamientos.



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

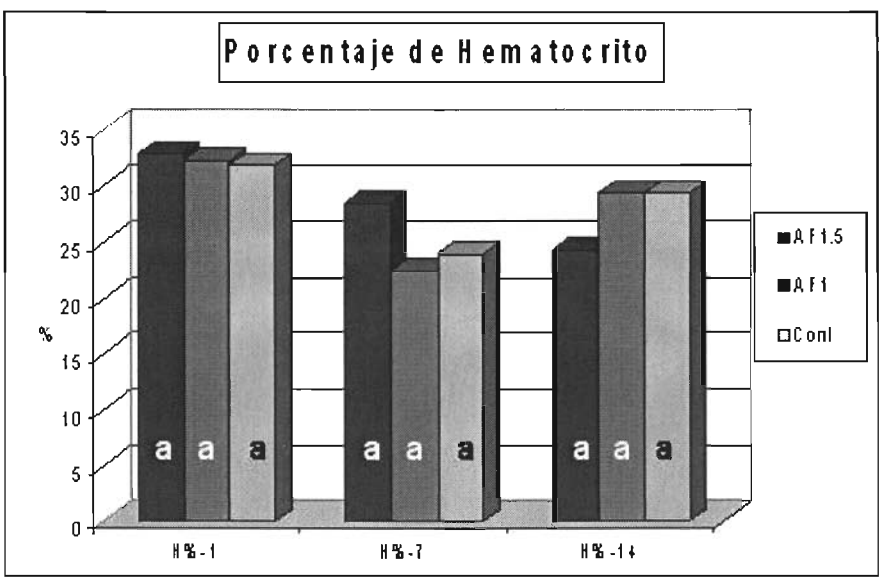
PORCENTAJE DE HEMATOCRITO:

Cuadro 4: Datos estadísticos para la variable de porcentaje de hematocrito al día 7 y 14 de experimentación:

Tiempo	Día 7		Día 14	
Tratamiento	No. Aves	Media (%) / Literales	No. Aves	Media (%) / Literales
AF 1.5	2	28,5 +/- 9,34 a	3	24,333 +/- 10,21 a
AF 1	2	22,5 +/- 9,34 a	3	29,333 +/- 10,21 a
Control	2	24 +/- 9,34 a	3	29,333 +/- 10,21 a

- Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

Figura 4: Porcentaje promedio de la variable Hematocrito:



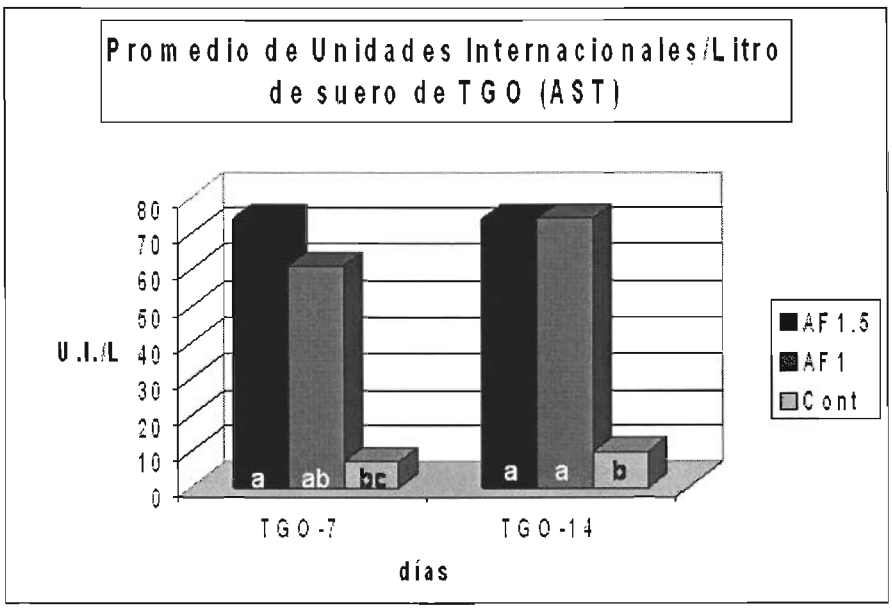
ASPARTATOAMINOTRANSFERASA:

Cuadro 5: Promedio para la variable de Aspartatoaminotransferasa en adsorbancia en los días 7 y 14 de experimentación.

Tiempo:	Día 7		Día 14	
Tratamiento	No. Aves	Media (nm) / Literal	No. Aves	Media (nm) / Literal
AF 1.5	2	0,763 +/- 0,69 a	3	0,77 +/- 0,24 a
AF 1	2	0,2465 +/- 0,69 ab	3	0,706667 +/- 0,24 a
Control	2	0,05625 +/- 0,69 bc	3	0,077 +/- 0,24 b

- Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($P<0.05$).

Figura 5: Promedio de Unidades Internacionales (U.I.) de la variable TGO (AST):



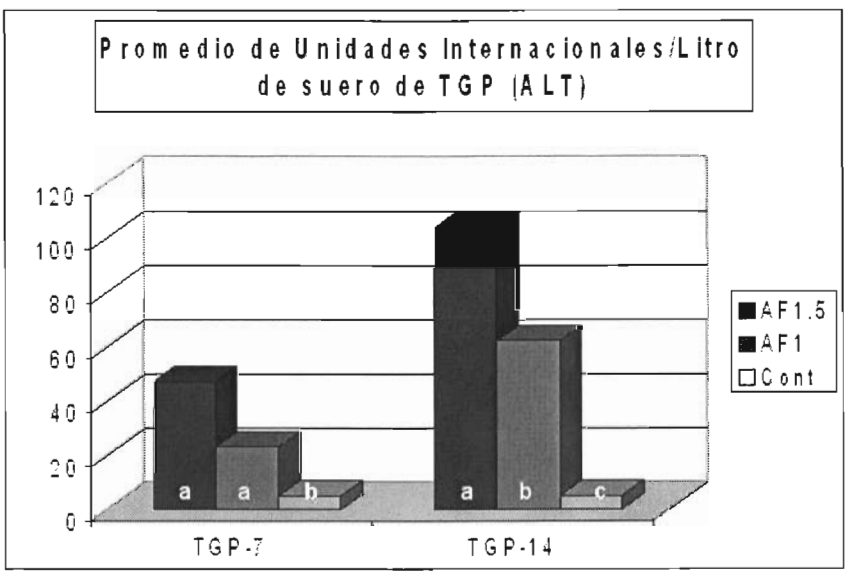
ALANINAMINOTRANSFERASA:

Cuadro 6: Datos estadísticos para la variable de Alaninaminotransferasa en los días 7 y 14 de experimentación.

Tiempo:	Día 7		Día 14	
Tratamiento	No. Aves	Media (nm) / Literal	No. Aves	Media (nm) / Literal
AF 1.5	2	0,321 +/- 0,13 a	3	0,616667 +/- 0,11 a
AF 1	2	0,1675 +/- 0,13 a	3	0,396667 +/- 0,11 b
Control	2	0,0505 +/- 0,13 a	3	0,041 +/- 0,11 c

- Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($P<0.05$).

Figura 6: Promedio de Unidades Internacionales (U.I.) de la variable TGP (ALT):



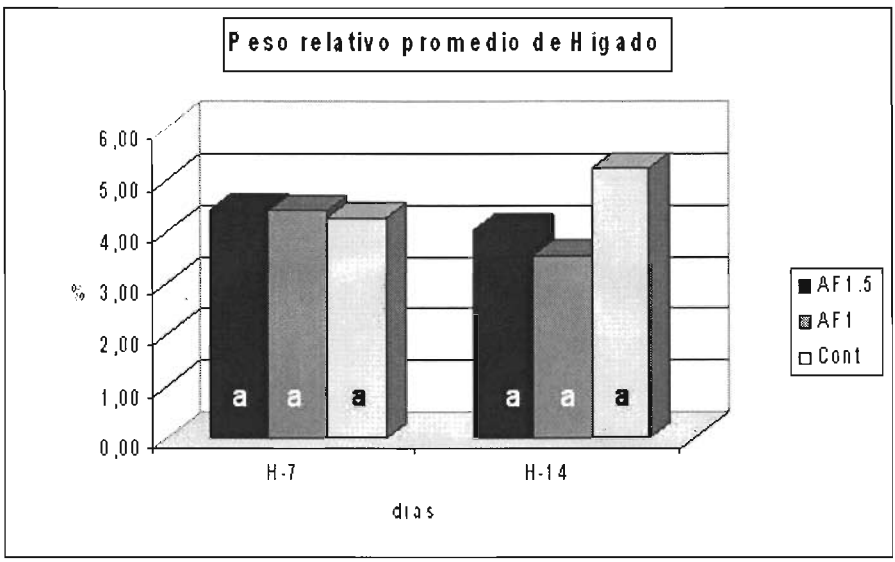
PESO RELATIVO DE HÍGADO:

Cuadro 7: Datos estadísticos para la variable de peso relativo de hígado para los días 7 y 14 de experimentación:

Tiempo	Día 7		Día 14	
Tratamiento	No. Aves	Media (%) / Literales	No. Aves	Media (%) / Literales
AF 1.5	2	4,44 +/- 0,07 a	3	4,03 +/- 0,64 a
AF 1	2	4,4 +/- 028 a	3	3,54 +/- 0,75 a
Control	2	4,27 +/- 0,10 a	3	5,23 +/- 0,80 a

- Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

Figura 7: Promedio de porcentaje de la variable de peso relativo de hígado.



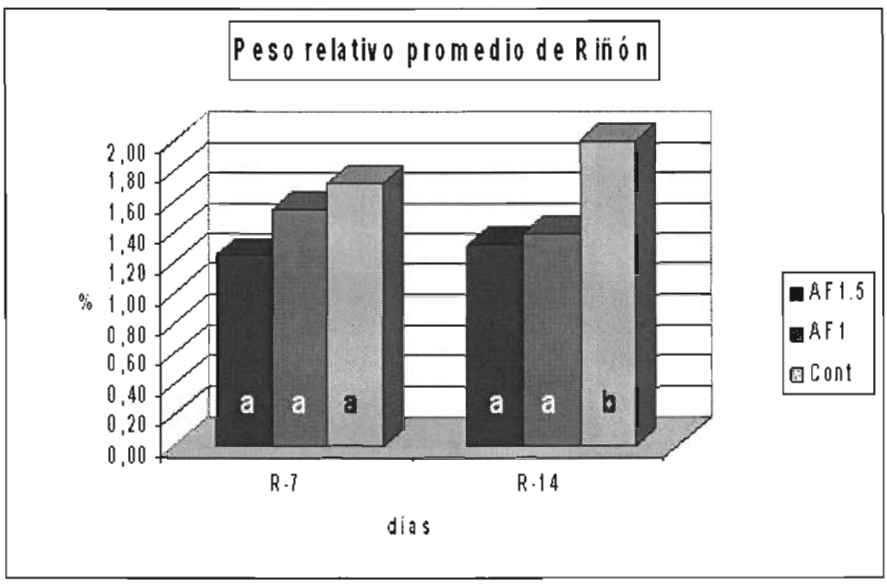
PESO RELATIVO DE RIÑÓN:

Cuadro 8: Datos estadísticos para la variable de peso relativo de riñón para los días 7 y 14 de experimentación:

Tiempo	Día 7		Día 14	
Tratamiento	No. Aves	Media (%) / Literales	No. Aves	Media (%) / Literales
AF 1.5	2	1,25 +/- 0,18 a	3	1,32 +/- 0,20 a
AF 1	2	1,55 +/- 0,21 a	3	1,40 +/- 0,15 a
Control	2	1,73 +/- 0,11 a	3	2 +/- 0,25 b

- Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($P<0.05$).

Figura 8: Promedio de porcentaje de la variable de peso relativo de riñón.



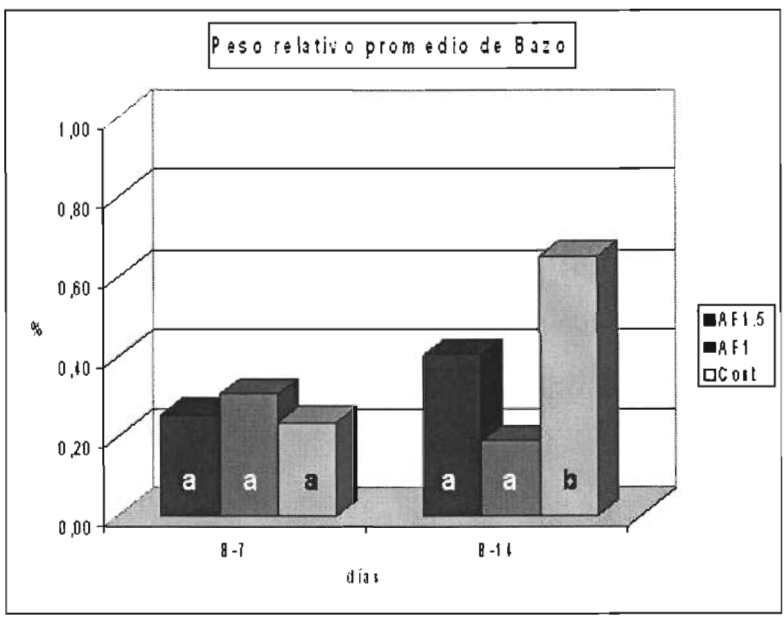
PESO RELATIVO DE BAZO:

Cuadro 9: Datos estadísticos para la variable de peso relativo de bazo para los días 7 y 14 de experimentación:

Tiempo:	Día 7		Día 14	
Tratamiento	No. Aves	Media (%) / Literales	No. Aves	Media (%) / Literales
AF 1.5	2	0,26 +/- 0,13 a	3	0,403 +/- 0,081 a
AF 1	2	0,31 +/- 0,13 a	3	0,40 +/- 0,02 a
Control	2	0,24 +/- 0,05 a	3	0,65 +/- 0,13 b

- Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

Figura 9: Promedio de porcentaje de la variable de peso relativo de bazo.



PESO RELATIVO DE BOLSA CLOACAL:

Cuadro 10: Datos estadísticos para la variable de peso relativo de bolsa cloacal para los días 7 y 14 de experimentación:

Tiempo	Día 7		Día 14	
Tratamiento	No. Aves	Media (%) / Literales	No. Aves	Media (%) / Literales
AF 1.5	2	0,49 +/- 0,05 a	3	0,47 +/- 0,11 a
AF 1	2	0,46 +/- 0,45 a	3	0,24 +/- 0,11 a
Control	2	0,34 +/- 0,09 a	3	0,82 +/- 0,07 b

- Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

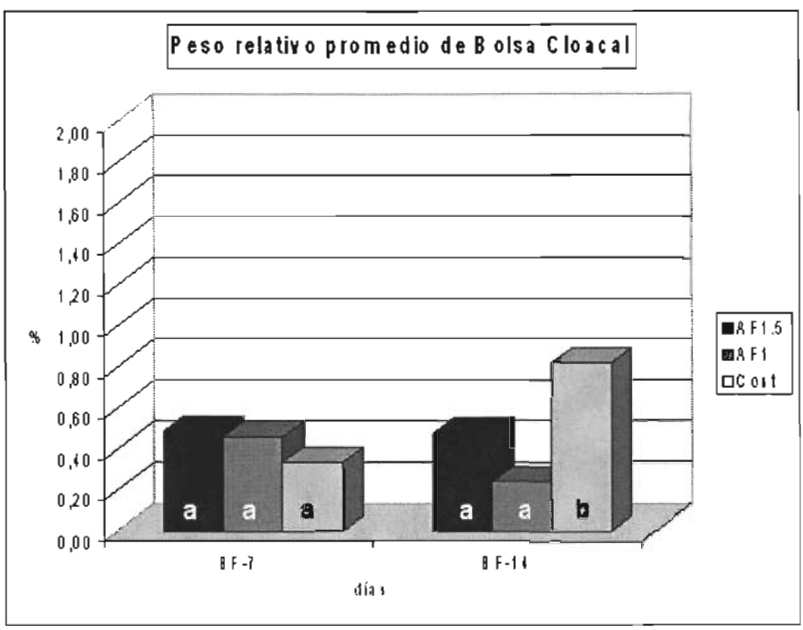



Figura 10: Promedio de porcentaje de la variable de peso relativo de bolsa de Fabricio.