



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**“ALTERACIONES MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS EN EL
POLLO DE ENGORDA POR INGESTIÓN DE AFLATOXINAS”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A:
GUSTAVO MEDEL HERNÁNDEZ**

**ASESOR: Dr. JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA
COASESORES: cDr. CAROLINA MORENO RAMOS
Dr. ERNESTO MORENO MARTÍNEZ**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A MIS PADRES. (Jorge Medel y Ofelia Hernández.)

Sabiendo que jamás existirá una forma de reconocer, pagar y retribuir una lucha de vida, puesto que me llevaría la misma eternidad, me cuestiono: ¿Cómo agradecer su esfuerzo y dedicación constante?, ¿Cómo pagar el apoyo y aliento brindado para con mi persona?, ¿Habré logrado cubrir sus ideales de vida que tenían para mí? No lo sé, no tengo respuestas, sólo sé que esto es por ti Flaco y por ti Ofe; deseo que comprendan que el logro mío es suyo también, que desde el momento en que me proporcionaron los medios necesarios para que este momento se realizará, este barco tiene dos capitanes, que mi esfuerzo es inspirado en ustedes y que son mi máximo ideal. Sé que algunas veces fui lo no esperado y me comporté como un falso, engañoso y artificioso, pero saben, soy muy afortunado de tenerlos, puesto que siempre me guiaron por el sendero que marcó sus vidas.

A tí Jorge, porque gracias a tu hermetismo, me hiciste comprender que la forma más segura de que los sentimientos hacia alguien no se vean influenciados por el exterior, es cerrando la entrada y saberlos canalizar; te admiro tanto que las horas que trabajaste, las jornadas tan denigrantes que viviste, sería poco para retribuir lo que siento por ti; si tú tienes algo seguro, algo que es muy tuyo y no lo compartes con nadie, es el amor por tus hijos, te amo y mucho pá, nunca cambies.

A ti Ofelia, por que siempre estás ahí, por tu humildad ante la vida eres admirable, no sabes el amor que siento por ti, por ser la persona que más ama en este mundo, la más linda, hermosa y graciosa, te doy las gracias por ser mi amiga, mi confidente y mi cómplice; por orientarme, aconsejarme y amarme; por buscar siempre caminos que nadie ha recorrido y llevarnos a todos ha caminarlos, te amo má.

Orgullo es ser su hijo, un Universo de agradecimientos es poco, "Los Amo".

A MIS HERMANOS. (Viri y Jorge.)

Como una muestra de cariño y gratitud, por todo el amor y apoyo entregado, exalto la orientación, preocupación y amistad brindados hacia mí, y por que hoy veo llegar a su fin una de las múltiples metas en mi vida, reconozco que sin ellos no lo hubiera logrado; y aunque alguna vez fui endeble, nunca me dejaron caer, les agradezco de la forma que puedo, expresándome con sinceridad y amor. Por su comprensión y paciencia en los momentos adversos y por consiguiente, alentarme día con día, para lograr esta hermosa realidad.

Viri, recuerda que este trabajo también es tuyo, agradezco tu preocupación y paciencia que me demostraste, Te amo. Jorge, mi inspiración por ser alguien fue por ti y el máximo ejemplo fue lo que quise demostrarte, ojalá y lo haya logrado, Te amo.

Les agradezco todo deseándoles lo mejor y recuerden que aunque no sea tan afectuoso con ustedes, " Los Amo".

A MIS FAMILIARES.

Gracias a la familia Medel Hernández (Alex, Edith, Ale, Hugo, Luis, Fer) por estar en las buenas y en las malas, porque al crecer juntos, también nos formamos vocacionalmente hablando de la misma manera, por inspirarme la confianza que ahora les tengo y por el apoyo cedido que me han regalado.

A mi tía Caro y mi tía Vero, por que desde siempre, han estado apegadas a mí, a Caro por ser la artífice de que me inspirara en este sueño tangible tan hermoso llamado Medicina, y a Vero por ser la tía que siempre se preocupa por uno, desde niño hasta éste momento.

A mi tío David, por ser la muestra de fortaleza pero a la vez de flaqueza que yo necesitaba y a todos los de la Sanfe por ser tan humildes y cariñosos.

Muy en especial a mis abuelos Ruperto (Q.E.P.D.) y Carmen; Salomón (Q.E.P.D.) y Santos (Q.E.P.D.), por demostrarme su amor y por darme a los mejores padres del mundo.

A MIS AMIGOS.

- ✓ *A la Fam. Rodríguez Eloisa, por ser esa clase de personas que todo lo comprenden, que estiman y apoyan a sus queridos sin pedir algo a cambio; Al Jugos y Julia, por enseñarme que el amor es dado sin limitaciones y por todo el apoyo dado; A Saúl e Imelda, por abrirme las puertas de su hogar tan lleno de amor y alegría; Al Chay, por revivir en mí la palabra amigo, pero sobre todo por darle el verdadero valor a esta palabra tan valiosa, pero a la vez tan escasa, por compartir momentos tan inolvidables, Gracias "Amigo".*
- ✓ *Al Toño, por ser tan sincero, noble y fuerte, por el apoyo moral que me diste y además porque siempre estuviste ahí, Gracias "Amigo".*
- ✓ *Al Eti, por ser como eres, porque nunca doblegas ante nada, ni te sometes ante nadie, la mejor experiencia que me pudiste dar, Gracias "Amigo".*
- ✓ *A María del Mar, por derrumbar los muros que existían en mí y creer en la amistad entre diferentes géneros, además de estar siempre junto a mí, Gracias "Amiga".*
- ✓ *Al Mota, Willie, Iván, Maricela, Andrei, Peludo, Almuerto, Transi y Chucho por empujarme y motivarme a salir siempre adelante, Gracias "Amigos"*

✓ *A todos los que formaron parte de mi formación escolar y han sido partícipes de esto; a los Gordos, Fany, Rigo, Chule, Tímy, Angie, Ale, Miriam, Charmín, Lucio, Reyes, Kalimba y Puñe, a todos Gracias.*

A MI ASESOR,

Dr. Juan Carlos del Río G. Porque gracias a su apoyo y consejo realicé la más grande de mis metas, esperando no ser la única, la cual constituye el arma más valiosa que pudiera recibir. Por su atinada dirección y paciencia en la realización de éste trabajo, pero sobre todo por permitirme conocerlo y poder considerarlo amigo, Gracias Doc.

A la UNAM por ese cariño recíproco de tantos años, primero en la ENP 9, seguido de la FES Cuautitlán, el cual perdurará por mucho tiempo, por otorgarme formación en sus aulas y regalarme conocimiento, Gracias.

*Pero sobre todo **Gracias a DIOS** por permitirme llegar a este momento y por acompañarme en estos 25 años, por sus enseñanzas y lecciones, por darme la familia y amigos que tengo, pero sobre todo por la vida que hasta el momento he vivido.*

A Todos: GRACIAS.....TOTALES.

INDICE

ÍNDICE.....	1
RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
Características generales que deben conservar los granos.....	6
Clasificación taxonómica de <i>Aspergillus</i>	9
Características morfológicas generales del género <i>Aspergillus</i>	9
AFLATOXINAS.....	10
Toxicocinética.....	14
Aflatoxicosis en pollos.....	16
Aguda.....	16
Crónica.....	17
Patogenia.....	19
Cambios Morfológicos.....	20
Macroscópicos.....	20
Microscópicos.....	21
Patología Clínica.....	22
Diagnóstico.....	29
Detoxificación.....	32
Prevención.....	33
JUSTIFICACIÓN.....	34
HIPÓTESIS.....	35
OBJETIVO.....	36
MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	37
Diseño experimental.....	37
Variables a medir.....	38
Análisis Estadístico.....	41
RESULTADOS.....	42
Signología.....	42
Peso.....	42

Consumo de Alimento.....	42
AST.....	43
ALT.....	43
Proteínas y Albúmina.....	44
Hematocrito.....	44
Bilirrubinas.....	45
Peso Relativo de órganos (hígado, riñón, bazo y B. de F.).....	45
Hallazgos morfológicos en órganos (hígado, riñón, bazo y B. de F.).....	46
DISCUSIÓN.....	47
Peso.....	47
Consumo de Alimento.....	48
AST.....	48
ALT.....	49
Proteínas.....	51
Albúmina.....	51
Hematocrito.....	51
Bilirrubinas.....	52
Peso Relativo de órganos (hígado, riñón, bazo, B. de F.).....	53
CONCLUSIONES.....	57
BIBLIOGRAFÍA.....	59
APÉNDICE.....	67

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 más afectado es el hígado, seguido por el riñón, órganos linfoides como son el bazo y la bolsa de Fabricio y por último órganos reproductores. El presente trabajo se enfocó al estudio de la toxicidad de la aflatoxinas en pollos de engorda estirpe Ross de ambos sexos con dosis de AFB1, a 1 mg/kg en el alimento. Las variables estudiadas fueron el peso corporal de los animales, consumo diario de alimento, el porcentaje de hematocrito, la concentración en suero de proteínas totales, albúmina, la concentración enzimática de AST (TGO) y ALT (TGP) que se elevan cuando existe un daño hepático, la concentración en suero de bilirrubina directa, indirecta y totales, así como los pesos relativos de los órganos hígado, riñón, bazo y bolsa de Fabricio.

En este trabajo se observaron cambios estadísticamente significativos ($p < 0.05$) en el peso corporal de los animales y el consumo diario de alimento en el grupo experimental con dosis de aflatoxina de 1 mg/kg de alimento; la concentración sérica de proteínas totales y albúmina, así como el porcentaje de hematocrito se vieron disminuidos al día 21 y una vez retirada la aflatoxina se normalizaron; los niveles en suero de AST, Bilirrubinas Totales y Bilirrubinas Directas se vieron aumentadas al día 21 y normalizadas al día 28. Sin embargo los niveles séricos de ALT y Bilirrubina Indirecta no se vieron afectados. El peso relativo del bazo se vio disminuido al día 21 y normal al día 28; los demás pesos relativos no tuvieron diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

INTRODUCCIÓN.

Las actividades pecuarias mantienen una gran importancia en el contexto socioeconómico del país, al igual que el resto del sector primario, han servido de base al desarrollo de la industria nacional, ya que proporcionan alimentos y materias primas, divisas, empleo, distribuyen ingresos en el sector rural y utilizan recursos naturales que no tienen cualidades adecuadas para la agricultura u otra actividad productiva. La ganadería, y en específico la producción de carne, es la actividad productiva más diseminada en el medio rural, pues se realiza sin excepción en todas las regiones ecológicas del país y aún en condiciones adversas de clima que no permiten la práctica de otras actividades productivas. (52)

La producción de carne da una gama muy extensa de sistemas de producción dentro de los que destacan, las granjas de producción altamente tecnificadas hasta las pequeñas producciones de auto abastecimiento (traspatio). (52)

La producción de carnes en México se sustenta en diferentes ramas de la ganadería, dentro de las cuales sobresalen la bovina, la porcina y la avícola (45.9%), que en conjunto aportan el 98% de la producción doméstica de productos cárnicos, el resto de las actividades destinadas a la producción de carne, como son la producción ovina, caprina, la de conejos y la de pavos, entre otros, mantienen una posición restringida e influenciada por los hábitos de consumo de la población, así también por regiones establecidas de consumo en el territorio nacional y aunada a los precios fluctuantes de éstas. (52)

La evolución favorable de la economía mexicana aunada al acelerado desarrollo demográfico, ha demandado 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 importancia. (76)

En el año 2000, la producción de carne de pollo, fue de 1,825,249 toneladas, 5.1% superior al año anterior. El Consumo Nacional Aparente (CNA) de carne de pollo en 2001 se situó en 1,928,022

toneladas, en términos generales 5.3% superior a la del año precedente. El consumo “*per cápita*” anual estimado fue de 20kg. (75)

La producción preliminar de carne de pollo en 2002 ascendió a 2,011,500 toneladas, marcando un crecimiento de 4.3% con respecto al año previo, con lo que se aseguró un abasto creciente, tanto para el mercado de carne fresca, como para la industria alimenticia.(75)

El volumen de la producción de carne de pollo en el 2003 se ubicó en el orden de las 2,160,400 toneladas, ocupando el 45% de la producción nacional de carne en México.(76)

El Consumo Nacional Aparente (CNA) de carne de pollo continuó su crecimiento, para situarse en 2,490,700 toneladas en el 2004, 8.1% más que en 2002, con el cual se aseguró una disponibilidad “*per cápita*” de 23.9 kilogramos al año.(76)

A medida que aumenta el número de aves domésticas, el 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 razonable, el médico hace uso del laboratorio de diagnóstico. La problemática con que se enfrenta el veterinario dedicado a aves, es que hay pocos estudios comprobados que establezcan la relación recíproca entre la fisiopatología de las aves enfermas con las respuestas bioquímicas y hematológicas correspondientes a alteraciones de ciertos órganos o tejidos afectados en las aves. Por lo que es de suma importancia conocer y establecer parámetros bioquímicos de laboratorio que nos permitan tener un marco de referencia en esta especie. (75)

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. (75)

Al igual que en otras ramas de la producción ganadera, el aumento de los volúmenes de producción avícola lleva al crecimiento de consumo de alimentos balanceados y por lo tanto, de granos forrajeros, pastas y/o granos oleaginosas, los que conforman parte fundamental de las dietas aplicadas para obtener los mayores niveles de productividad, aprovechando para ello el potencial productivo que la mejora genética confiere a las aves de engorda. (52)

Se estima que durante 1999 la demanda de pollo, así como el mantenimiento del pie de cría requirió de 3.5 millones de toneladas de granos forrajeros lo que implicó un crecimiento del 5.8% en esta demanda. Al comparar esta expansión con respecto a la del volumen de la producción, se determina que es menor, lo cual es el resultado directo de un incremento en la productividad de las aves, el cual se traduce en una menor cantidad de granos y en términos generales de alimento balanceado, para obtener un kilogramo de carne. (52)

La producción de carne de pollo continúa ubicándose como la rama de la ganadería con mayor consumo de granos forrajeros y oleaginosos, absorbiendo más del 25.0% del consumo pecuario de granos como maíz y sorgo. (76)

Los granos en el alimento como se mencionó anteriormente son imprescindibles para la elaboración de concentrados proteicos balanceados debido a que son productos perecederos es importante tener en cuenta las condiciones que mantienen estos durante su cosecha, transporte y almacenamiento ya que deben conservar características organolépticas y nutritivas para así tener un mejor rendimiento de los alimentos. (14, 84)

Características generales que deben conservar los granos:

Bajo las mismas condiciones de almacenamiento, los granos pueden tener calidades diferentes dependiendo del tipo de grano que se coseche.

La calidad inicial de los granos depende de los siguientes factores:

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

- **“Microorganismos” (16)**

Dentro de los microorganismos, los hongos son los principales, presentes en los granos almacenados y constituyen la más importante causa de pérdidas y de deterioro durante el almacenamiento. De manera que los hongos presentes en los granos y semillas han sido divididos en dos grupos, “hongos de campo” y “hongos de almacén”, existiendo un tercer grupo denominado “hongos de deterioro avanzado”. (13)

- **Hongos de campo.**

Así son llamadas las especies que contaminan los granos antes de la cosecha, durante su desarrollo en la planta. Estos hongos necesitan para su desarrollo un alto contenido de humedad; las esporas de estos hongos pueden sobrevivir durante mucho tiempo en los granos húmedos; sin embargo, no germinan cuando el contenido de humedad está en equilibrio con humedades relativas inferiores al 75 por ciento. (22)

- **Hongos de almacén.**

Estos hongos se desarrollan después de la cosecha, los hongos que proliferan con mayor frecuencia en los granos almacenados son algunas especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Alternaria*.

Las principales pérdidas ocasionadas por hongos en granos y cereales se deben a: la disminución del poder germinativo, a los cambios bioquímicos, a la pérdida de materia seca en los silos y bodegas.

Los daños causados por los hongos del almacenamiento son mayores que los producidos por los hongos de campo. Además que pueden contaminar con metabolitos secundarios. (22)

Es importante resaltar que en la mayoría de los ataques masivos hacia los granos, prevalecen en gran porcentaje los hongos; es por ello que se trata de abarcar más acerca de los mismos, además que son de los microorganismos más difundidos mundialmente. (16) (TABLA 1.1)

(TABLA 1.1) CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS EN BASE A SU CRECIMIENTO (16)

Tipo de Hongo	Humedad Relativa	Temperatura de Proliferación	O ₂ / CO ₂	Sustrato	Hongo
Campo	>95%	Baja	Aerobia	Fitopatógeno plantas vivas	<i>Fusarium</i> <i>Alternaria</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Cladosporium</i> <i>Helminthosporium</i>
Almacén	<95%	20 – 25 °C	Anaerobia facultativa	Material fisiológicamente inactivo	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>

Fuente: Carrillo L. 2002. "Orientación Biológica". UNAS.

Una invasión fúngica descontrolada y desarrollada en las materias primas y piensos, provoca: modificación de las características organolépticas del alimento, deterioro y reducción de las características nutritivas del alimento, así como segregación masiva de enzimas que provoca reacciones de lisis fuertemente exotérmicas y la presencia de micotoxinas.

La FAO determina que el 25% de los granos del mundo están contaminados por hongos, por esto es muy importante prevenir las consecuencias que estos hongos y sus micotoxinas producen en los animales domésticos, ya que provocan grandes pérdidas económicas e incluso riesgos a la salud de los consumidores de dichos animales contaminados. (33)

Se ha estimado que existen aproximadamente 400 especies de hongos con capacidad toxigénica, los cuales producen una o más micotoxinas. (6)

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). (62)

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 parasiticus* tipo Speare (42), así como *Penicillium puberulum*. Además de estas especies, Ellis *et al* 1991, descubrieron una nueva especie aflatoxigénica denominada *Aspergillus nomius*. (46)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Aspergillus* (57)

- Reino: *Fungi*
- Filo: *Ascomycota*
- Orden: *Euriales*
- Familia: *Trichocomaceae*
- Género: *Aspergillus*
- Especie: *flavus*

Se conocen unas 900 especies de *Aspergillus*, que Rapper y Fennell clasifican en 18 grupos.

Los mohos del género *Aspergillus* causan el deterioro de muchos productos alimenticios. Los productos metabólicos de la invasión fúngica suelen ser muy tóxicos, tanto para el hombre como para otros animales. También producen la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, apelmazado y finalmente podredumbre de las semillas. (57)

Características morfológicas generales del género *Aspergillus*.

El color del crecimiento micelial es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de *Aspergillus*. Pueden ser distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Las cabezas conidiales presentan, bajo el microscopio, cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme y a simple vista las más grandes suelen parecer diminutas alfileres sobre el substrato. En los *Aspergillus*, los conidios constituyen cadenas que se originan en la célula conidiógena o fiálide. En algunos *Aspergillus* hay células adyacentes a las fiálides

denominadas m \acute{e} tulas o c \acute{e} lulas de so porte. Los *Aspergillus* poseen una o dos series de c \acute{e} lulas sobre la ves \acute{i} cula, o bien presentan simult \acute{a} neamente cabezas de ambos tipos. (57)

AFLATOXINAS.

Las aflatoxinas son un grupo de metabolitos secundarios, producidos por *Aspergillus flavus* Link (FIGURA 1.1) y *Aspergillus paras \acute{i} ticus* Speare. (26)

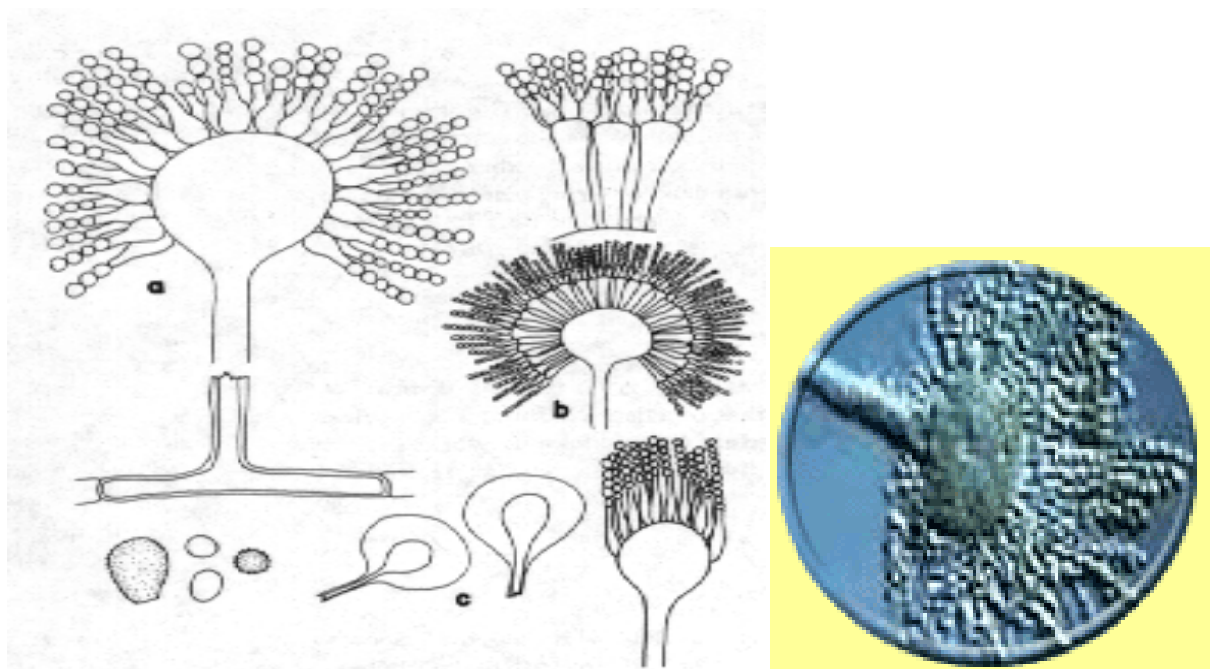


Fig. 1.1. Estructura esquemática y microscópica de *Aspergillus flavus*

Las principales aflatoxinas son cuatro: AFB $_1$, AFB $_2$, AFG $_1$ y AFG $_2$. Generalmente AFB $_1$ es encontrada en mayores concentraciones que las otras y es la más potente, siendo carcinógena, teratógena y mutagénica, y el \acute{o} rgano que más afecta es el h \acute{i} gado, por lo que es considerada una hepatoxina (57). *Aspergillus flavus* produce adem \acute{a} s \acute{a} cido asperg \acute{i} lico, \acute{a} cido k \acute{o} jico, aspertoxina, esterigmatocistina, fisicon y flavotoxinas entre otros compuestos. (26)

Las condiciones necesarias para que dichos hongos produzcan las aflatoxinas son temperatura (30 – 35 $^{\circ}$ C), alta humedad (65 – 80% de humedad relativa) (40, 62); por lo que es importante cuidar

las condiciones de almacenamiento en las cuales se tiene al grano destinado a la alimentación de los animales. (45)

En cuanto a su importancia, se sabe que prácticamente todos los seres vivos son susceptibles a las aflatoxinas. *A. flavus* está adaptado a emplear un amplio espectro de fuentes orgánicas, además de ser saprofito, es un organismo patógeno oportunista en plantas, insectos y vertebrados incluyendo al hombre y animales domésticos; sus efectos pueden ser agudos o crónicos dependiendo del organismo afectado, la dosis y frecuencia de exposición. (8)

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. (42)

Las primeras descripciones de aflatoxinas, se remontan a 1952, cuando Seibold y Bailey descubrían una hepatitis que llamaron hepatitis tóxica enzoótica en las aves.

Y fue hasta 1962 cuando en la Gran Bretaña se detectó un brote de una enfermedad explosiva que arrasó con 100.000 pavos, de los cuales sólo en 500 se diagnosticó enfermedad con el hallazgo de lesiones hepáticas. La etiología era desconocida en ese momento, por lo que a la enfermedad se le llamó “Enfermedad X de los pavos” (Turkey X disease). Primero se detectaron casos en pavos, pero después se encontraron casos esporádicos en patos y faisanes. Después de analizar el alimento consumido por las aves (cacahuate brasileño), descubrieron metabolitos fluorescentes que nombraron aflatoxinas, debido a su productor, el *Aspergillus flavus*. (44)

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” (40)

En 1988, gracias al esfuerzo para remover 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. (6)

Desde entonces numerosas investigaciones se han hecho acerca del efecto de las aflatoxinas en la salud de los animales domésticos, en los cuales se ha detectado baja ganancia de peso, desarrollo lento, problemas en la reproducción, diarrea, desórdenes respiratorios, hemorragias, disminución en la producción de carne y huevos; así como la alteración del sistema inmunológico, con el consecuente incremento en el desarrollo de infecciones por bacterias, virus, y otros agentes causantes de enfermedades, lo cual incluso ocasiona la muerte de los animales. (9, 31, 48, 82)

Químicamente las aflatoxinas son difuranocumarinas (11), estos compuestos están formados por anillos heterocíclicos, los furanos relacionados a la toxicidad y un anillo de lactona responsable de la fluorescencia y el cual también hace posible que estos metabolitos sean susceptibles a la hidrólisis alcalina. (53) (FIGURA 1.2)

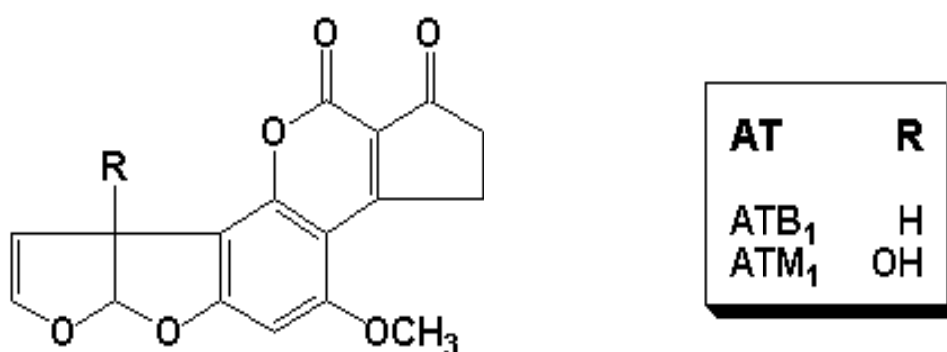


Fig. 1.2. Estructura Química de Aflatoxina B1 y M1.

Hasta el momento, se han aislado 18 diferentes tipos de aflatoxinas, de las cuales las más importantes son: AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂

Las letras B y G se refieren a los colores azul (blue) y verde (green) de fluorescencia observados bajo luz ultravioleta de onda larga; esta propiedad de fluorescencia de las aflatoxinas ha llegado a ser la base para la cuantificación por métodos fisicoquímicos (4); y los números se refieren a los patrones de separación de estos compuestos al utilizar el método de cromatografía de capa fina. (12) (FIGURA 1.3)

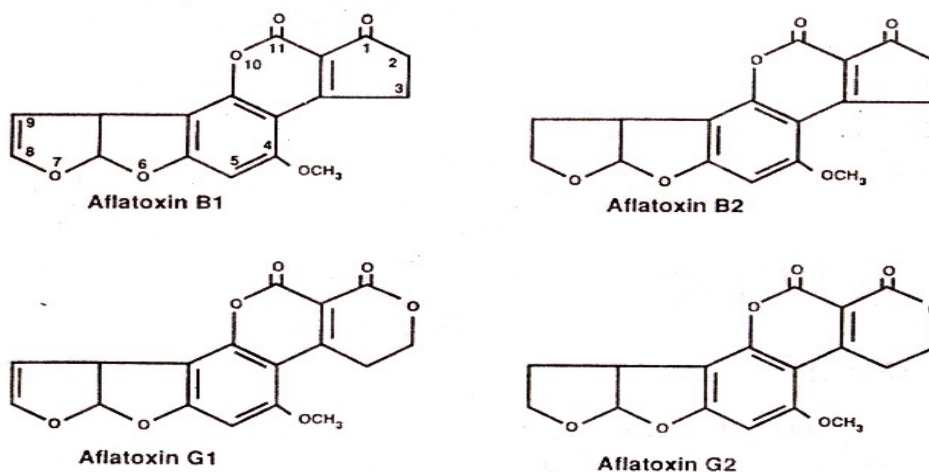


Fig. 1.3 Estructura Química de AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂

Dentro del grupo de las aflatoxinas, la más importante es la aflatoxina B1 (C₁₇ H₁₂ O₆), por ser la más tóxica y tener efectos carcinogénicos (30, 45, 55, 77); es el carcinógeno más potente conocido en la naturaleza. (35)

En las aves, en orden decreciente, las especies más susceptibles son: patos, pavos, gansos, faisanes, pollos (30); los animales jóvenes son más susceptibles que los animales adultos. (30, 44, 45, 46)

Desde el punto de vista bioquímico, las aflatoxinas son consideradas como inhibidores biosintéticos y en el caso de la AFB₁ se ha encontrado que su actividad biológica tiene varias fases: 1) Interacción con el ADN e inhibición de las polimerasas responsables de la síntesis tanto

de ADN como ARN; 2) Supresión de la síntesis del ADN; 3) Reducción de la síntesis del ARN e inhibición del ARN mensajero; 4) Alteraciones en la morfología del nucleolo y 5) Reducción de la síntesis de proteínas. (19)

La toxicidad de las aflatoxinas está ampliamente investigada, esto obedece directamente a la repercusión en la salud humana, así como a las pérdidas materiales y económicas que puede ocasionar una intoxicación aguda. (70)

La **toxicocinética de la aflatoxina** se divide en cinco pasos, los cuales son:
(FIGURA 1.4)

- 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. (30)

- 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. En una prueba realizada por Truex et al. (1983), los análisis de tejidos realizados después de 7 días de administración de aflatoxinas, revelaron que el hígado tenía dos veces más concentración 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 aflatoxina y por tanto, los más afectados son el hígado y el riñón. (30)

- c) **Biotransformación:** la transformación de las aflatoxinas dentro del organismo se divide en dos fases. (30)
 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.
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. (81) Las aves pueden metabolizar la mayoría de las aflatoxinas B1 cuando estas son administradas en pequeñas cantidades.

La **hidroxilación** se encarga de producir un derivado menos tóxico que el compuesto original, la aflatoxina M1.

La **dimetilación** se realiza en el hígado y produce un derivado fecológico llamado aflatoxina P1.

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 principal 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. (30)

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**. (30)

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% 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. (30)

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. (30)

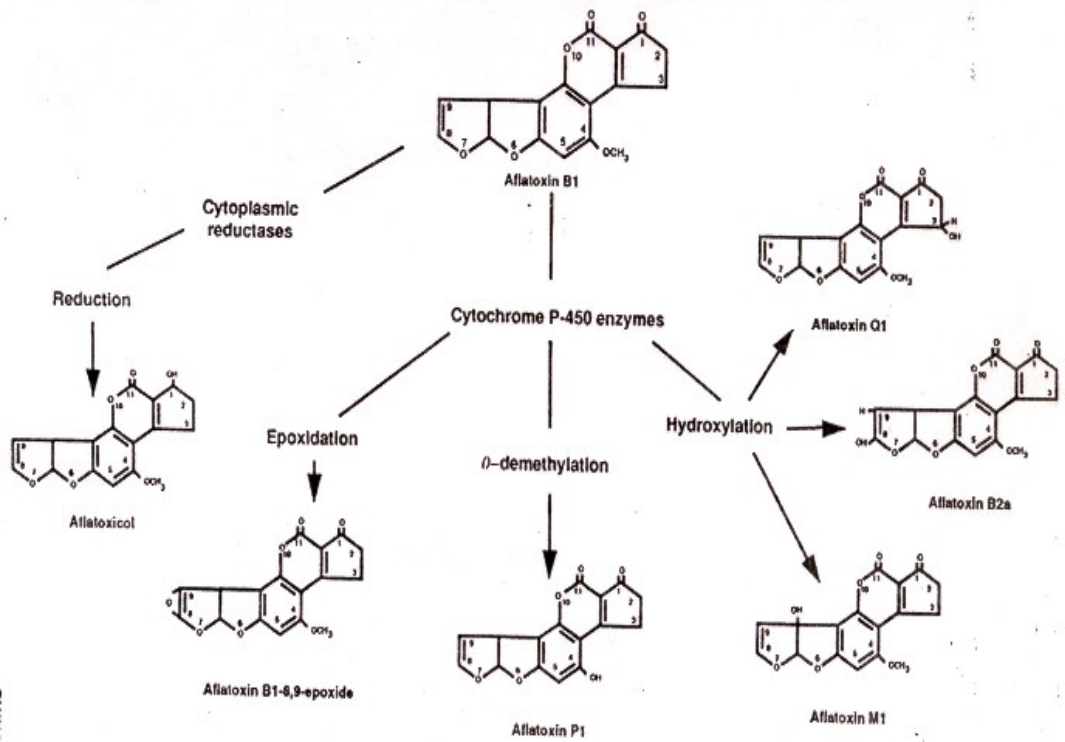


Fig. 1.4 Toxicocinética de AFB₁

Aflatoxicosis en Pollos.

La enfermedad producida por aflatoxinas se llama aflatoxicosis, de la cual hay dos presentaciones según el curso, y éste 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 incluyen de presión, 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. (30, 44)

Además en la fase aguda de la enfermedad se asocia un incremento en la susceptibilidad para adquirir enfermedades como coccidiosis cecal, la enfermedad de Marek, salmonelosis, hepatitis con cuerpos de inclusión y la enfermedad infecciosa de la bolsa de Fabricio (Gumboro). (77)

Se han reportado fallas en la vacunación ligadas a la aflatoxicosis en pollos y respuestas dispares en la vacunación demostradas para la enfermedad de Newcastle, bronquitis infecciosa, enfermedad de Gumboro y cólera aviar. (30)

La inmunosupresión se explica por la atrofia en la bolsa de Fabricio, donde se dan los primeros cambios (30); en el timo y el bazo, existe una depleción linfoide y una respuesta mitogénica reducida de linfocitos T y B, disminuyendo la respuesta inmune mediada por células en gran medida y la inmunidad humoral en menor cantidad. (77) La aflatoxina se une a los polirribosomas de los linfocitos T, provocando en ellos trastornos irreversibles e interfiriendo así con la síntesis de proteínas (44) y secundariamente, actúan disminuyendo la síntesis del DNA, generando cambios y pérdidas en la actividad enzimática, en el metabolismo y ciclos celulares, que pueden resultar en necrosis y apoptosis, por lo que suprime la función inmune. (35)

También hay reducción en la actividad del complemento (77) debido a la escasa producción del mismo por parte del hígado (44); 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. (35)

b) Crónico:

Forma más usual de la enfermedad, resultado de la exposición a dosis bajas de aflatoxinas en un periodo de tiempo largo. Los 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 debido a que 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 y debido a que el órgano específico afectado por los metabolitos es el núcleo del hepatocito, al ser expuesto un individuo con la toxina de manera crónica se le relaciona con el carcinoma hepatocelular; (81) también existe proliferación de ductos biliares en lóbulos hepáticos periféricos, cambios en hepatocitos que incluyen degeneración grasa, inflamación y necrosis. A medida que el proceso avanza, el tejido conectivo proliferando 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 (30, 44), incluso llegando en el último estadio a producir neoplasias normalmente en el hígado, pero el páncreas, vesícula, huesos y el tracto urinario pueden también presentarlas. (77)

La susceptibilidad que tienen los pollos ante la enfermedad depende de:

- a) Edad: Los animales jóvenes y viejos suelen ser más vulnerables que los adultos. (30, 44, 46)
- b) Sexo: Los machos suelen ser más vulnerables que las hembras (30, 33, 44), mientras que las hembras tienden a acumular por más tiempo las aflatoxinas que los machos debido a la liposolubilidad de las micotoxinas (77).

Los principales signos que presentan los pollos en aflatoxicosis dependen de la cantidad de aflatoxina administrada y estos son:

- La mayoría de los signos se manifiestan a dosis mayores de 1 mg de AFB1/kg de alimento. (45)
- A dosis mayores de 0.5 mg de AFB1/kg de alimento existe una disminución en la resistencia a enfermedades como salmonelosis, coccidiosis, enfermedad de Gumboro y candidiasis, se dan fallas en la pigmentación normal de la piel y músculos debido al decremento en el transporte y la deposición de los carotenos. (45)
- Con dosis de 0.75 mg de AFB1/kg de alimento, se observa anorexia, vocalizaciones anormales, caída de la pluma, decoloración de las patas, ataxia y miopatía esquelética. (77)

- A dosis de 2.5 mg de AFB1/kg de alimento se observa un crecimiento retardado, una pobre conversión alimenticia, algunas veces, convulsiones y opistótonos que preceden a la muerte. (44, 46, 62, 77)
- Con dosis de 10 mg de AFB1/kg de alimento, los animales pueden llegar a presentar signos nerviosos entre los cuales se incluyen debilidad en las piernas y caída de las alas e inclusive la muerte directa. (30)

Patogenia.

Se menciona que la vía de entrada más lógica de las aflatoxinas al organismo animal es la vía oral, a través del alimento contaminado. Las aflatoxinas se difunden por todos los tejidos corporales, indicando rápida absorción pero lenta eliminación.

En primer lugar, los órganos reproductores, el hígado y los riñones tienen una elevada concentración de aflatoxinas, debido al papel de las vías hepática y renal para la eliminación de las mismas.

La médula ósea concentra más aflatoxinas que el encéfalo, el tejido muscular y la grasa corporal, en donde la concentración es menor. (72)

Se llega a concentrar cierta cantidad de aflatoxinas en los órganos del sistema inmunológico, produciendo depleción de los mismos y en algunos casos necrosis y/o atrofia. (58)

(FIGURA 1.5)

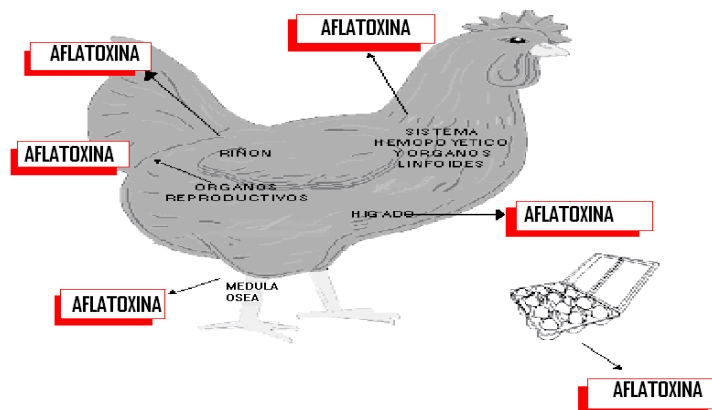


Fig. 1.5 Principales órganos donde la concentración de AFB1 es mayor.

Además del hígado, la exposición respiratoria del polvo contaminado con AFB1 se asocia a tumores del tracto respiratorio. 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. (30)

Las rutas biliar y fecal son las de mayor excreción de las aflatoxinas puras o de sus derivados; estas vías de eliminación, representan el 65% del total excretado, el resto se elimina por orina. (72)

Cambios Morfológicos.

Macroscópicos.

Las lesiones que se presentan en los pollos durante la aflatoxicosis también son variables y dependen de la dosis y del tiempo de exposición.

El hígado es el principal órgano afectado, y su peso relativo aumenta significativamente aún con dosis bajas de aflatoxina, el incremento en el peso relativo es debido a una acumulación progresiva de lípidos. (68)

Huff *et al*, 1986, (38) mencionan que la atrofia hepática y no la hepatomegalia es el cambio inicial en etapas tempranas de la intoxicación. Además de la hepatomegalia el hígado puede presentar palidez, coloración amarillenta, friabilidad, congestión, áreas hemorrágicas, y zonas puntiformes de color gris blanquecino. (77) Puede encontrarse también edema en la vesícula biliar, menor viscosidad del líquido biliar y ascitis teñida con bilis en los casos más severos. (46)

Los riñones presentan aumento de tamaño, congestión, palidez y edema perirrenal. (68)

El agrandamiento de los riñones va relacionado a un efecto compensatorio fisiológico por la acción de las aflatoxinas. (68)

El corazón puede verse aumentado de tamaño, con congestión o con excesiva cantidad de líquido pericárdico. (23)

La Bolsa de Fabricio llega a presentar reducción en su peso relativo y distintos grados de atrofia, al igual que el timo y testículos. (45, 77)

El bazo tiende a observarse aumentado de tamaño y congestionado. (45, 77)

Se ha observado una disminución en la fuerza de los huesos, (37) en el aparato digestivo hay inflamación de proventrículo y molleja por un efecto irritante directo de las toxinas, (36) el páncreas puede estar aumentado de tamaño y edematosos y en el intestino se observa enteritis mucosa a nivel del duodeno. (69)

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 a sí las vías extrínseca e intrínseca de la coagulación. (41, 45, 77)

Microscópicos.

Histológicamente se ha observado tumefacción de los hepatocitos, variación en el tamaño de hepatocitos y de sus núcleos. En los casos crónicos se observa degeneración vacuolar en el hígado correspondiente a cambio de grasa, necrosis focal acompañada a menudo por hemorragias multifocales, congestión en los sinusoides hepáticos y proliferación irregular y progresiva de ductos biliares y cálculos biliares. A medida que va progresando, se encuentra cariomegalia, numerosas figuras mitóticas, nucleolos evidentes, aumenta la proliferación de ductos biliares en los cuales se acumulan los pigmentos biliares en gran medida y fibrosis, con depósitos de reticulina y colágena; estos cambios pueden acompañarse de hepatocitos regenerados en forma nodular (hiperplasia regenerativa nodular) (44, 46) e inflamación por heterófilos y células mononucleares en las zonas portales (30, 77). 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. (77)

Algunos autores (23), reportan en pollos alimentados a dosis de 2.5 mg de AFB1/kg de alimento durante 4 semanas los siguientes cambios patológicos en el hígado: en la primera semana, congestión de sinusoides, hemorragias focales, vacuolización grasa del citoplasma de los hepatocitos centrolobulillares e infiltración nodular de células linfoides; en la segunda, tercera y cuarta semanas, cambios progresivos consistentes en tumefacción y vacuolización de los hepatocitos centrolobulillares, necrosis de algunos hepatocitos y ocasionalmente proliferación de ductos biliares, infiltración linfocitaria nodular y congestión; en uno de los animales sacrificados durante la tercera semana se observó que la hiperplasia biliar estuvo acompañada por infiltración de fibroblastos. (23)

En el riñón se encuentran zonas multifocales de congestión, edema perirenal, degeneración albuminosa, hidrónica y necrosis en el epitelio de los túbulos renales (30), lesiones glomerulares membranosas, dilatación de las células de los túbulos contorneados proximales y distales, además que pueden contener pigmentos biliares, hialinos y lípidos, 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. (46, 77)

En algunos trabajos se reporta que en pollos alimentados a dosis de 2.5 mg de AFB1/kg de alimento durante 4 semanas, se observa una vacuolización del epitelio tubular renal, infiltración linfocítica en glomérulos e intersticio, y la presencia de un material hialino homogéneo en la luz de algunos túbulos. (23)

En el bazo, se encuentra una disminución en la cantidad de linfocitos (depleción linfocítica), sobre todo en la zona periarteriolar, generalmente sin zonas de inflamación aparentes. (35)

En la bolsa de Fabricio se observa depleción linfocítica en los centros germinativos de los folículos linfocíticos, siendo las primeras lesiones histopatológicas halladas en la aflatoxicosis (30).

En corazón se observa infiltración linfocítica entre las fibras musculares. (23)

Patología Clínica.

Las aflatoxinas tienen un efecto depresor sobre los tejidos hematopoyéticos y esto se ve reflejado en la sangre, tanto en el suero como en los elementos celulares. (56)

Proteínas:

La concentración sérica de proteínas en pollos es más baja que en los mamíferos, siendo entre 3.5 y 6 g/100 ml. La hipoproteïnemia se presenta con la enfermedad hepática y renal grave, así como con desnutrición, mala absorción y en hemorragias crónicas.

Cysewsky 1997, menciona que el hígado es considerado como órgano blanco primario para aflatoxinas, con un consecuente daño sobre la actividad metabólica y capacidad secretora de éste

órgano, por lo que la hipoproteïnemia es debida a una reducción de la síntesis proteica y una mayor fragilidad capilar, lo que permite la fuga de proteínas al intersticio. (21)

El efecto más notable hallado al estudiar animales que han consumido bajas dosis de AFB1 (1.25 - 2.5 mg/kg de alimento) en largo tiempo continuamente es una alteración del perfil proteico sérico. La cantidad total de proteínas séricas sufre un decremento debido a una baja en α y γ globulinas principalmente.

Los resultados de Ogguz *et al.*, (2000) mencionan que a dosis de 2.5 mg de AFB/kg de alimento, del día 1 al 21, causa una disminución significativa ($p < 0.05$) en los niveles de proteína sérica total. (59)

Es decir, en dosis de 2.5 mg de AFB/kg de alimento, hubo un descenso significativo del 41.17%, mientras que a 1 mg de AFB1/kg de alimento (dosis utilizada en el presente trabajo), el descenso fue de 26.44%; diferencia debida a las dosis de AFB1 usadas en los experimentos. (TABLA 1.2)

TABLA 1.2

COMPARACIÓN DE TRABAJOS PARA MEDIR CONCENTRACIÓN PROTÉICA SÉRICA EN g/dl REALIZADOS A DIFERENTES DOSIS Y MISMOS DIAS DE EXPERIMENTACIÓN

Tratamiento	Ogguz <i>et al.</i> , 2000 Llevado a 21 días	Trabajo presente 2007 Llevado a 21 días
	<i>Dosis 2.5 g/kg</i>	<i>Dosis 1 g/kg</i>
	g/dl	g/dl
C	2.21 +/- 0.12 ^a	2.95 +/- 1.07 ^a
AFB	1.30 +/- 0.14 ^b	2.17 +/- 0.34 ^b

*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

C=Control; AFB=Aflatoxina

Fuente: Ogguz, H., Kececi, T., Birdane, T.O., Onder, F. y Kurtoglu, V. 2000. "Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characterers of broiler chicken during experimental aflatoxicosis". (59) y el presente trabajo.

En los estudios de Jindal *et al.* 1994, (43) y Raju y Devegowda 2000, (66) se menciona que a dosis igual o mayores a 300 μ g de AFB1/kg de alimento, el suero bioquímico se afecta

significativamente y la concentración de proteína sérica total, albúmina y colesterol descienden significativamente.

Una consecuencia importante de la hipoproteïnemia es la hipocoagulabilidad sanguínea y la presencia de hemorragias espontáneas cutáneas, sobretodo en la membrana interdigital.

Albúmina.

La albúmina es la más abundante de las proteínas plasmáticas, sintetizada por el hígado y es liberada al torrente sanguíneo de forma más o menos continua.

La hipoproteïnemia es debida a una reducción en la síntesis proteica y a una mayor fragilidad capilar, lo que permite la fuga de proteínas al intersticio. (58, 79)

El descenso en la concentración de albúmina es causado por la inhibición de síntesis de proteínas en hígado durante aflatoxicosis. (1, 43, 49, 50, 59, 82)

Quezada *et al.* 2000, mencionan que a dosis de 2 mg de AFB1 /kg de alimento, las proteínas plasmáticas y albúmina mostraron un descenso significativo, siendo más severo para albúmina en un 80%. (65)

Concentración Enzimática:

Otra forma de evaluar el daño hepático es a través de pruebas de laboratorio, como la determinación de enzimas hepáticas entre las cuales están: alaninaminotransferasa (ALT), aspartatoaminotransferasa (AST) y lactatodeshidrogenasa (LDH).

En las dos últimas décadas se ha estado empleando reacciones enzimáticas para el diagnóstico de las enfermedades en todas las especies animales comunes. Cuando se alteran las concentraciones de una enzima, ya sea en el suero o en un tejido, ello indica uno o más de los siguientes procesos: 1) necrosis de las células, 2) alteración de la permeabilidad de la membrana celular, 3) dificultad orgánica para la eliminación de la enzima, 4) incapacidad de las células para sintetizar la enzima y 5) un aumento en la producción de la enzima. (65)

Con respecto a la cuantificación enzimática del suero, aún a dosis bajas de aflatoxinas se observa un incremento en los niveles de Aspartato amino transferasa (AST/TGO), Alanin amino transferasa (ALT/TGP), fosfatasa alcalina sérica (FAS), deshidrogenasa láctica (DHL), lipasa, amilasa pancreática, de la sorbitol deshidrogenasa (SDH) y de la deshidrogenasa glutámica (DHG). (23)

La aflatoxicosis crónica puede ser diagnosticada por la determinación de suero bioquímico y alteraciones hematológicas antes de que se hagan evidentes los signos clínicos. (47)

Aspartato Amino Transferasa (AST/TGO):

La aspartato aminotransferasa (AST o TGO) está presente en muchas células, sin embargo ésta es útil en la evaluación de lesiones que se presentan en hígado y músculo, por ser la de mayor actividad en estos tejidos. La evaluación de AST es más específica que la ALT en lesiones hepatocelulares en la mayoría de las especies animales. (23, 27, 67, 85)

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 (20). 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). (30)

Alanin Amino Transferasa (ALT/TGP):

La enzima alanin aminotransferasa (ALT o TGP) se considera específica de lesión hepática en perros y gatos, la vida media en plasma en estas especies es de 60 Hrs.

El incremento sérico es paralelo a la lesión hepática en procesos agudos, días después a la lesión estos niveles pueden ser bajos. Esta enzima también se puede elevar por tratamientos con

corticosteroides. La ALT no es usualmente utilizada para evaluar lesión hepática en equinos, bovinos, ovinos, caprinos o porcinos. (23, 27, 67, 85)

La actividad de la ALT en los diferentes tejidos se da en el pollo en orden decreciente primero en músculo cardíaco, 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. (20)

Ogguz *et al.*, 2002, reporta que dosis de 0.1 mg de AFB1/kg de alimento llevado a 42 días, hubo un incremento significativo en la concentración sérica tanto de la AST como de la ALT, sin embargo, la concentración sérica de ALT no aumento con dosis de 0.05 mg de AFB1/kg de alimento. (59)

Da Fal la *et. al.*, 1987, administraron 0.5 ppm de AFB1 por 4 semanas, habiendo actividad significativamente mayor en SDH (succinato deshidrogenasa) y GDH (glutamato deshidrogenasa), un aumento en la concentración sérica de LDH (lactato deshidrogenasa), FAS (fosfatasa alcalina sérica), Fosfatasa ácida, sin embargo, para que la concentración de AST y ALT tuvieran un aumento significativo fue necesario administrar dosis de AFB1 de 3 – 6 ppm durante 42 días. (23) 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 éstos.

La situación ideal sería, desde el punto de vista diagnóstico, encontrar una enzima específica para cada tejido, sin embargo, varias de estas enzimas se pueden encontrar en varios tejidos. Del mismo modo la concentración enzimática varía dependiendo de la especie animal.

Bilirrubinas.

Una importante función excretora del hígado, relacionada con la secreción de bilis, es la eliminación de bilirrubina de la sangre.

Este pigmento tóxico y de coloración verdosa se origina de la degradación de la hemoglobina contenida en los eritrocitos envejecidos que son eliminados de la circulación por las células de Kupffer hepáticas y por otras células con capacidad fagocitaria del bazo.

La bilirrubina, es un producto terminal e importante de la degradación de la hemoglobina; constituye una importante herramienta muy valiosa para el diagnóstico tanto de las enfermedades hemolíticas como de algunas enfermedades del hígado.

Una vez que el eritrocito ha alcanzado la plenitud de su vida, la membrana celular se rompe y la hemoglobina liberada la fagocitan los macrófagos tisulares del organismo (sistema reticuloendotelial). La hemoglobina se escinde primero en globina y hemo y el anillo hemo se abre para dar: 1) hierro libre que la transferrina transporta en la sangre, y 2) una cadena recta de cuatro anillos pirrólicos, que constituye el sustrato final de la bilirrubina.

La primera sustancia que se forma es la *biliverdina*, aunque en seguida se reduce hacia *bilirrubina libre* o *bilirrubina indirecta*, que va liberándose poco a poco de los macrófagos hacia el plasma.

La bilirrubina libre se une de manera inmediata a la albúmina del plasma, que la transporta por la sangre y los líquidos intersticiales. Esta bilirrubina, aún ligada a la albúmina, sigue denominándose bilirrubina libre.

En muy pocas horas, la bilirrubina libre se absorbe por la membrana del hepatocito. Al entrar dentro del hepatocito, se desliga de la albúmina y muy pronto se conjuga, en un 80%, con el ácido glucorónico para dar el glucorónido de bilirrubina, en un 10% con el ácido sulfúrico para formar sulfato de bilirrubina y en un 10% final con multitud de otras sustancias. De esta manera la bilirrubina sale del hepatocito a través de un mecanismo de transporte activo y se excreta a los canalículos biliares y, desde aquí, hacia el intestino.

De manera que en una afección hepática, la tasa de síntesis de bilirrubina es normal, pero la bilirrubina formada no puede pasar de la sangre al intestino. La bilirrubina libre suele entrar al hepatocito y se conjuga de manera habitual. Esta bilirrubina conjugada regresa luego a la sangre, quizá por la rotura de los canalículos biliares congestionados o por modificación del mecanismo de excreción del hepatocito y por el vertido directo de la bilis a la linfa que drena el hígado. Por

consiguiente, casi toda la bilirrubina del plasma, presente en una afección hepática es *directa o conjugada*, en lugar de *libre o indirecta*. (32)

Bilirrubinas en aves:

Métodos: muchos métodos para medir bilirrubinas se basan en la diazoreacción. El ácido sulfinílico diazotizado reacciona con la bilirrubina produciendo 2 azodipyrroles. Estos productos son de color morado-rojizos bajo pH neutro y de color azul bajo un pH mayor o menor.

Fisiología: en aves el mayor pigmento biliar es la biliverdina, ya que dicha especie carece de la enzima biliverdinreductasa, la cual convierte la biliverdina en bilirrubina.

Cambios patológicos: la bilirrubina no puede ser normalmente detectada en plasma de los psitácidos. Bajo enfermedades hepáticas severas (Clamydiosis) las concentraciones se aumentan hasta 44.5 $\mu\text{mol/l}$. se puede percibir una coloración de color amarillo (ictericia) en la piel de la cara de algunas aves cuando la concentración excede de 40 $\mu\text{mol/l}$. (10)

Hematocrito.

En lo que respecta a los cambios en los elementos celulares de la sangre, varios autores mencionan que las aflatoxinas producen anemia caracterizada por una disminución en los valores de hematocrito (ht), del número total de glóbulos y de la concentración de hemoglobina (Hb), aún en dosis muy bajas. (38, 41, 79)

La determinación del origen de la anemia es 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 significativamente con dosis de 0.625 a 10 mg de AFB1/kg de alimento. (77)

Tung *et al.*, 1975, utilizando dosis graduales de aflatoxinas, observaron una disminución en los valores de hematocrito, hemoglobina con hiperplasia mieloide y disminución en el tejido adiposo

de la médula ósea, además de esplenomegalia y una leve respuesta macrocítica en aquellas dosis bajas que disminuyeron el conteo de eritrocitos pero no provocaron cambios en hematocrito y hemoglobina. (82)

Así, se postula una posible inhibición de la hematopoyesis, una hematopoyesis anormal, un incremento en la destrucción de glóbulos rojos, o bien una combinación de los tres mecanismos.

Los factores de coagulación, sobre todo los factores VII, V y el fibrinógeno se ven reducidos considerablemente a dosis de 2.5 mg de AFB1/kg de alimento. La protrombina se ve afectada a dosis de 0.625 mg de AFB1/kg de alimento, siendo la más sensible a la aflatoxicosis. (30)

Otros.

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, sodio, ácido glucolítico y el potasio. (77)

Mientras que a dosis de AFB1 de 10 mg/kg de alimento, los niveles plasmáticos de testosterona y hormona luteinizante (LH) se reducen significativamente. (18)

Diagnóstico.

El diagnóstico de la aflatoxicosis es difícil, sin embargo, se puede llegar a él por medio de una historia clínica bien realizada, medición de los parámetros reproductivos, signos clínicos y los hallazgos de los estudios de necropsias e histopatología. El diagnóstico definitivo de la aflatoxicosis se determina realizando pruebas de laboratorio, tanto químicas como biológicas, para la detección de las toxinas en el alimento.

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 más sensible y confiable el HPLC, si el análisis es para medir la calidad de los granos, y el resultado tiene que ser rápido, el más utilizado es el Aflatest que es un método de diagnóstico que está aceptado oficialmente por la AOAC (Association of Analytical 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.

Existen diversos métodos para constatar que un alimento está contaminado por aflatoxinas. Existen métodos presuntivos, cualitativos, semicuantitativos y confirmatorios, como los inmunoenzimáticos. (62)

a) **Presuntivos:**

Se basan en la fluorescencia característica bajo luz ultravioleta de onda larga asociada con la presencia de *A. flavus* y *A. parasiticus*. 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.

Cuando los hongos crecen sobre los granos producen un compuesto químico conocido como ácido kójico, y además, quizá produzcan aflatoxinas. El ácido kójico reacciona con ciertos componentes naturales de los granos teniendo como resultado la formación de un complejo químico que produce fluorescencia de color verde amarillento. (62)

En consecuencia, una prueba positiva es simplemente indicativa de que puede haber aflatoxinas presentes, así esta prueba se clasifica como preliminar, y a que las muestras positivas deberán someterse a un método de análisis más preciso con el objeto de confirmar los resultados. (62)

b) **Cualitativos:**

Se encuentran los métodos de minicolumna de Velasco (1972), Shannon (1972), Holaday (1975) y Romer (1986), como los más utilizados, ya que están aprobados por la AOAC. Estas minicolumnas detectan concentraciones arriba de 10 ppb de aflatoxinas. (62)

El uso de pequeñas columnas cromatográficas para la detección de toxinas en alimento fue introducido por Holiday en 1968.

Ha sido de uso general en gran número de laboratorios, sus principales ventajas son la disminución del tiempo de desarrollo, equipo, operación simple y bajo costo por muestra. Sólo indica la presencia de las toxinas, mas no su tipo, por otra parte, al trabajar sobre extractos de alimento se incrementa la sensibilidad, el manejo y el tiempo de la prueba. (80)

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 (62). 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. (29)

d) **Cuantitativos:**

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de capa fina más 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. (29)

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. (62)

Detoxificación.

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. (17)

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. (17)

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. (87)

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. (74)

c) 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. (6)

Prevención

Es reconocido que el mejor método de control de la presencia de hongos productores de aflatoxinas en los granos y alimentos, es la prevención de la formación de aflatoxinas, pero también es cierto que esto no siempre es posible.

Cuando las condiciones climáticas predisponen en las cosechas a la formación de aflatoxinas o el daño realizado por insectos, permiten que niveles críticos de hongos y toxinas se desarrollen, el control es casi imposible.

Los procedimientos de prevención y control de la formación de las aflatoxinas deben realizarse en los diferentes pasos de los procesos de elaboración de los alimentos. Por ejemplo, las tolvas de almacenamiento para los ingredientes deben limpiarse periódicamente, sólo deben comprarse materias primas de buena calidad y se deben mantener condiciones de almacén adecuadas, sin almacenar cantidades excesivas o ingredientes con alto contenido de humedad; también es recomendable el análisis periódico de materias primas y alimentos terminados para detectar el crecimiento de microorganismos y la formación de toxinas.

Las pérdidas económicas causadas por el rechazo de granos contaminados son considerables. Pero son más importantes las pérdidas no detectadas, debido a la reducción de la productividad en la explotación de animales. (63)

JUSTIFICACIÓN.

Los cereales utilizados para la elaboración de alimento balanceado generalmente presentan contaminación con aflatoxina en concentraciones bajas, que ocasiona retraso del crecimiento, menor conversión alimenticia e incremento de la mortalidad entre otras manifestaciones, lo que merma el potencial productivo, reproductivo y la ganancia económica en la industria avícola. El diagnóstico de enfermedad por micotoxicosis es difícil de realizar y éste se dificulta si los cambios morfológicos no son aparentes en la inspección del cadáver, como los que se presentan por ingestión de concentraciones bajas de micotoxinas, por lo que es importante utilizar herramientas de laboratorio, como lo es la valoración bioquímica enzimática para detectar alteraciones funcionales tempranas que sean sugestivas de micotoxicosis (aflatoxina). Por este motivo es importante generar datos a nivel experimental (condiciones controladas) y de laboratorio que sirvan de referencia a los médicos veterinarios o profesionales involucrados con la industria avícola.

HIPÓTESIS.

La presencia de aflatoxinas en alimento utilizado para aves, provocará la elevación sérica de enzimas como aspartato aminotransferasa (AST), alanin aminotransferasa (ALT), así como bilirrubinas, y niveles séricos de proteínas por ingestión de alimento contaminado con aflatoxina durante un período de consumo de 21 días.

OBJETIVO.

Observar la variación en los parámetros bioquímicos y morfológicos que nos permitan obtener un marco de referencias sugestivo de las alteraciones hepáticas que se dan como respuesta a la aflatoxicosis en las aves, aún en ausencia de alteraciones morfológicas macroscópicas y microscópicas.

*** Objetivos particulares.**

- 1.- Evaluar el efecto sobre el peso corporal y de órganos internos (hígado, riñón) de las aves que consumieron alimento con aflatoxina (1 ppm).
- 2.- Evaluar las alteraciones en el hematocrito, las transaminasas y bilirrubinas séricas de las aves que consumieron alimento con aflatoxina (1 ppm).
- 3.- Correlacionar las alteraciones morfológicas y bioquímicas de las aves que consumieron alimento con aflatoxina (1 ppm).

MATERIALES Y METODOLOGÍA.

a) Biológicos: Para la realización del experimento se utilizaron:

- 72 pollos de engorda obtenidos de una casa comercial ubicada en Tepetzotlán, Estado de México, los cuales son de estirpe Ross, de ambos sexos.
- cepa *Aspergillus flavus* Link productora de aflatoxina B1 y B2, obtenida de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS), de la FES Cuautitlán, UNAM.
- alimento comercial balanceado de iniciación, con 23% de proteína, para pollo de engorda.

b) Reactivos: Kit Comercial de marca Wiener lab. para de terminación en suero de Proteínas totales, Albúmina, Alanin amino transferasa (ALT o TGP), Asp artato amino transferasa (AST o TGO) y Bilirrubinas.

c) Equipo: flurómetro, espectrofotómetro, balanza electrónica, comederos y bebederos de acero inoxidable.

d) Otros: tubos capilares, tubos de vidrio de 12x10, gradilla, jeringas, lector de hematocrito, centrífuga y refractómetro de Golberte

Lugar donde se desarrolló la tesis. Las aves se mantuvieron en la unidad de aislamiento de la sala de necropsias del área de Patología en el campo 4 de la FES-Cuautitlán UNAM, y en la Unidad de Investigación en Granos y Semillas de la FES-Cuautitlán, ubicado en el Centro de Asimilación Tecnológica, en Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Diseño experimental.

Para la realización del experimento se utilizaron 72 pollos estirpe Ross de engorda de 1 día de edad sin sexar, los cuales fueron divididos aleatoriamente en 2 tratamientos de 36 aves cada tratamiento (Grupo Control y Grupo Experimental AFB1) y cada tratamiento con 3 repeticiones. Los pollos de los diferentes tratamientos fueron colocados en jaulas independientes con comedero y bebedero individual, los cuales fueron alimentados de la siguiente manera:

1. Grupo Control: alimento comercial + 0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Aflatoxinas B.
2. Grupo Experimental AFB1: alimento comercial + 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Aflatoxinas B.

El alimento balanceado de iniciación para el Grupo Control, fue analizado para descartar la presencia de aflatoxinas utilizando columnas de inmunoafinidad AF LATEST. El alimento utilizado para las aves del Grupo Experimental 1 fue analizado de la misma manera y se le añadió arroz contaminado con *Aspergillus flavus* Link para lograr las dosis de 1 mg de AFB1/kg de alimento. El consumo de agua y alimento fue *ad libitum*.

Variables a medir:

- Peso y Consumo Individual Semanal.

Los animales fueron pesados al iniciar el experimento, así como en los días 7, 14, y 21 de experimentación. Los pollitos eran revisados 2 veces por día, registrando signos y mortalidad en caso de que los hubiera. Se les alimentó cada día y se medía el consumo individual. Los parámetros productivos de consumo individual semanal (CIS) y mortalidad (M) fueron calculados de la siguiente manera:

$CIS = \text{consumo total semanal de la jaula} / \# \text{ aves vivas de la jaula a los 7 días}$

$M = (\# \text{ aves muertas} / \# \text{ aves iniciales}) 100$

Por un periodo de 21 días, consumieron el alimento propuesto desde un principio; del día 21 al día 28 todas las aves recibieron alimento libre de micotoxinas para poder evaluar el efecto residual. El consumo de alimento y el peso de las aves fueron registrados semanalmente.

- Peso Relativo de órganos:

Se sacrificaron aproximadamente 6 aves por repetición a través de dislocación cervical al día 21 y 28 de edad para la realización de la necropsia y la toma de muestras de hígado, riñón, bolsa de Fabricio y bazo para su fijación y conservación en formalina amortiguada al 10% y su posterior observación histológica.

Además, se midió el peso real de los órganos con una balanza electrónica y posteriormente se realizaron los siguientes cálculos para determinar el peso relativo: peso en g. del órgano x 100 / peso en g. del ave.

- Niveles séricos de Proteínas, Albúmina, TGO, TGP y Bilirrubinas:

Al momento del sacrificio se tomaron muestras de sangre (sin anticoagulante) to mando aproximadamente 6 aves por repetición. Del suero obtenido se desarrolló la cuantificación de proteínas, concentración enzimática (TGO y TGP), así como de bilirrubinas, según lo describe el Kit Comercial Wiener lab.

Para la realización del experimento se utilizó un Kit Comercial específico para mamíferos, ya que éste fue también utilizado por trabajos previos, mostrando una excelente eficacia lo que se reflejó con buenos resultados, por lo tanto, también se siguió parte de la metodología que éstos presentaron. (7, 15, 28, 34, 64)

Proteínas. Son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo y esenciales para la vida. Actúan como elementos estructurales y de transporte y aparecen bajo la forma de enzimas, hormonas, anticuerpos, factores de coagulación, etc.

En condiciones patológicas como pérdidas renales, desnutrición, infecciones prolongadas, etc., suelen presentarse hipoproteinemias, mientras que en otras como mieloma múltiple, endocarditis bacteriana y hemoconcentraciones de diversos orígines, se observan hiperproteinemias.

Fundamento del método. Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ión cúprico, en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra.

Albúmina. La proteína más abundante en el plasma es la albúmina. Una de sus funciones más importantes es la de permitir el transporte de ácidos grasos, hormonas esteroides, bilirrubina, catecolaminas, que en forma libre son insolubles en medio acuoso. La concentración de albúmina en plasma influye notablemente en el mantenimiento de la

presión coloidosmótica, lo que estaría relacionado con su relativamente bajo peso molecular y su gran carga neta. En condiciones patológicas como las mencionadas anteriormente, se ven acompañadas de hipoalbumemias. Los aumentos anormales de la albúmina son ocasionales y se relacionan casi siempre con deshidratación.

Fundamento del método. La albúmina reacciona específicamente –sin separación previa– con la forma aniónica de la 3, 3', 5, 5' –tetrabromocresolsulfonftaleína (BCF), en presencia de un exceso de colorante, en medio tamponado a pH 3,8. El aumento de absorbancia a 625 nm respecto del Blanco de reactivo, es proporcional a la cantidad de albúmina presente en la muestra.

TGO y TGP. Las transaminasas TGO y TGP son enzimas ampliamente difundidas en el organismo con alta concentración en corazón, hígado, músculo esquelético, riñón y eritrocito. La actividad sérica en condiciones normales es baja o nula. Un daño o enfermedad en cualquiera de estos tejidos conduce un aumento en los niveles séricos.

Así, luego de un infarto en miocardio, se produce en suero un marcado aumento de la actividad de TGO (abundante en músculo cardíaco). En hepatitis virales y otras formas de enfermedad hepática que involucren necrosis tisular, predominará la actividad sérica de TGP (abundante en tejido hepático). Una elevada actividad de transaminasas puede detectarse también en traumas accidentales o quirúrgicos y en distrofias musculares o miositis.

Fundamento del método. La TGO cataliza la siguiente reacción.

L-aspartato + α -cetoglutarato \longrightarrow TGO glutamato + oxalacetato

La TGP cataliza la siguiente reacción:

L-alanina + α -cetoglutarato \longrightarrow TGP glutamato + piruvato

El piruvato formado (el oxalacetato es inestable y se forma piruvato), reacciona con la 2, 4-dinitrofenilhidracina produciéndose, en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm.

Bilirrubinas. La bilirrubina, compuesto de degradación de la hemoglobina, es captada por el hígado para su conjugación y excreción en la bilis. Las alteraciones hepatocelulares u obstrucciones biliares pueden provocar hiperbilirrubinemias.

La eritroblastosis fetal o anemia hemolítica del recién nacido es una patología provocada por incompatibilidad materno-fetal en la que se produce una destrucción excesiva de

glóbulos rojos. Esto resulta en un severo aumento de la bilirrubina sérica con el consecuente riesgo de difusión del pigmento al sistema nervioso central.

Fundamento del método. La bilirrubina reacciona específicamente con el ácido sulfanílico diazotado produciendo un pigmento color rojo-violáceo (azobilirrubina) que se mide fotocolorimétricamente a 530 nm. Si bien la bilirrubina conjugada (directa) reacciona directamente con el diazorreactivo, la bilirrubina no conjugada (indirecta) requiere la presencia de un desarrollador acuoso que posibilite su reacción. De forma tal que, para que reaccione la bilirrubina total (conjugada y no conjugada) presente en la muestra, debe agregarse benzonato de cafeína al medio de reacción.

- Porcentaje de Hematocrito:

Al momento del sacrificio se tomaron muestras de sangre con EDTA (ácido etildiaminotetracético). Se recolectó sangre en tubos capilares en $\frac{3}{4}$ partes de su longitud y se sellaron con fuego, se colocaron en la centrífuga a una velocidad de 5,000 rpm durante 5 minutos, verificando que el extremo cerrado del capilar quedara hacia el aro exterior de la centrífuga. Después de los 5 minutos, se colocaron los tubos en el surco del lector del hematocrito, de modo que la capa flogística coincidiera con la línea perpendicular que cruza el surco; dirigiendo el paquete celular hacia el indicador rojo, se giró el disco hasta que el ángulo de 90° de las líneas del disco toquen los extremos de la muestra total, hasta el plasma. 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.

Análisis Estadístico:

Se utilizó un ANOVA de una vía, para el análisis estadístico en las variables de peso, CIS, hematocrito, TGO, TGP, Bilirrubinas, Proteínas totales, Albúmina y los pesos relativos de hígado, riñones, bazo y bolsa de Fabricio. 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:

Se pesaron individualmente 72 pollos de 1 día de edad y se repartieron al azar, creando dos grupos uniformes, el primer grupo denominado C (control) y el segundo grupo denominado AFB (alimentado con aflatoxina).

La mortalidad que presentó el grupo C fue de 5.5%, y ésta se presentó en los días 7 y 12 todos por Infección Saco Vitelino; mientras que para el grupo AFB se presentó en los días 3 y 4 de iniciado el experimento debido a aplastamiento de las aves, con un porcentaje del 5.5%.

Peso:

Al primer día de iniciado el experimento, el grupo C y el grupo AFB presentaron un peso vivo de 50.7 g y 50.8 g, respectivamente; para el día 7 del experimental, los pollos del grupo C mostraron un peso vivo de 137.58 g y los del grupo AFB un peso vivo de 125.47 g; mientras que en el día 14 el grupo C presentó un peso de 282.14 g y el grupo AFB un peso de 267.32 g sin haber diferencia estadística entre ellos en estos días. ($p > 0.05$). (Tabla 2.1)

Después de 21 días, los pollos del grupo C presentaron un peso de 495.82 g y los del grupo AFB un peso de 424.39 g, habiendo diferencia estadística significativa en el peso promedio entre los dos grupos. ($p < 0.05$). (Tabla 2.1)

Cabe mencionar que al día 21 se retiró el alimento contaminado con aflatoxina para ver el efecto residual de la micotoxina durante 1 semana.

Así en el día 28 observamos que las aves del grupo C presentaron un peso mayor, de 751.2 g respecto al grupo AFB con un peso de 670.0 ($p > 0.05$). (Tabla 2.1)

Consumo de alimento.

Durante los días 7, 14 y 21 de experimentación, no se observó diferencia estadística entre los tratamientos. ($p > 0.05$)

Sin embargo, en estos días se observó que el mayor consumo lo obtuvo el grupo C, respecto al grupo AFB ($p>0.05$), como se observa en la Tabla 2.2.

Para el día 28 éste parámetro se comportó de manera contraria, teniendo más consumo de alimento por parte del grupo AFB, por sustracción de alimento contaminado y adición de alimento sin aflatoxina, con un consumo de 123.52 g mientras que el grupo C tuvo un consumo individual de 110.02 g, habiendo diferencia estadística significativa ($p<0.05$). (Tabla 2.2)

Aspartatoaminotransferasa (AST o TGO).

La elevada concentración de dicha enzima se ha relacionado con daño hepatocelular en los pollos, siendo la causa más frecuente en el aumento de su actividad, la enfermedad hepática por aflatoxicosis.

Para el primer muestreo llevado a cabo en el día 21, el grupo AFB presentó una mayor concentración sérica, respecto al grupo C. siendo de 51.25 UI y de 45.35 UI, respectivamente ($p<0.05$).

En el segundo muestreo, los niveles enzimáticos de AST/ TGO, no presentaron diferencia estadística significativa entre los dos grupos ($p>0.05$); sin embargo, el grupo AFB mostró una concentración enzimática más alta (50.29 UI), mientras que el grupo C presentó una concentración de 47.7 UI. (Tabla 2.3) (Gráfica 2.1)

Alanin aminotransferasa (ALT o TGP).

El incremento sérico de la enzima ALT/TGP, es paralelo a la lesión hepática en procesos agudos, días después a la lesión estos niveles pueden ser bajos.

Se realizó el mismo procedimiento para determinar la concentración de la enzima alanin aminotransferasa (ALT/TGP), que para la AST, y se obtuvo lo siguiente:

Al día 21 de iniciado el trabajo, la mayor concentración enzimática fue para las aves que consumieron alimento libre de aflatoxinas en comparación con aquellas que consumieron alimento contaminado con éstas; sin embargo, ésta diferencia no tiene significancia estadística ($p>0.05$), como se muestra en la Tabla 2.4.

En el segundo muestreo la concentración enzimática de la enzima ALT, para los dos grupos, fue inferior en comparación con el primer muestreo, siendo relativamente superior el grupo C con 4.11 UI, mientras que el grupo AFB presentó una concentración enzimática de 3.97 UI ($p>0.05$). (Gráfica 2.2)

Proteínas Totales y Albúmina.

Tanto las proteínas totales como la albúmina, presentaron diferencia estadística significativa en el primer muestreo ($p<0.05$) entre los dos tratamientos, siendo el grupo C el que presentó una mayor concentración, en comparación con el grupo que consumió alimento contaminado con aflatoxinas. Así, la diferencia entre grupos, tanto para proteínas totales como para albúmina fue de: 0.78 g/dl para proteínas totales y 1.04 g/dl para albúmina. (Tabla 2.5 y 2.6)

Para el segundo muestreo no se presentó diferencia estadística significativa ($p>0.05$) entre los dos tratamientos, tanto para proteínas totales como para albúmina.

La concentración sérica de proteínas totales quedó de la siguiente forma: el grupo AFB, reveló una concentración de 1.37 g/dl, mientras el grupo C una concentración de 1.35 g/dl.

En cuanto a la concentración de albúmina, las aves que consumieron alimento contaminado con aflatoxinas, mostraron una concentración de 1.78 g/dl, y las aves libres de aflatoxina, una concentración de 1.76 g/dl. Las diferencias se pueden observar en las Tablas 2.5 y 2.6 y/o Gráficas 2.3 y 2.4.

Hematocrito.

Las aves a las cuales se les suministró alimento contaminado con aflatoxina durante 21 días consecutivos, mostraron un hematocrito de 24.95%, inferior al hematocrito que presentó el grupo libre de aflatoxinas, el cual fue de 26.89% ($p<0.05$).

Una vez suspendido el alimento contaminado con aflatoxina y dar a los dos grupos el mismo sustrato, el porcentaje de hematocrito fue de 26.3% para el grupo AFB y de 25.66% para el grupo C ($p>0.05$).

Estas diferencias se pueden observar en la Tabla 2.7 y/o Gráfica 2.5.

Bilirrubinas.

En lo que respecta a las bilirrubinas se observó lo siguiente:

En los dos muestreos realizados en la experimentación, la concentración sérica de las bilirrubinas fue mayor en las aves del grupo AFB, que para las aves que consumieron alimento libre de éstas; sin embargo, sólo la B. T. y la B. D. mostraron diferencia estadística ($p < 0.05$) después de 21 días de iniciado el trabajo y ésta diferencia fue de 0.1338 mg/l para B.T. y de 0.82975 mg/l para B.D.

En el segundo muestreo, las aves que estuvieron en contacto con las aflatoxinas mostraron una concentración sérica de B.T. de 0.5872 mg/l y de B.D. de 0.1147 mg/l, mientras que las aves que no tuvieron contacto con el alimento contaminado presentaron una concentración sérica B.T. de 0.5483 mg/l y de B.D. de 0.102 mg/l ($p > 0.05$).

En B.I., las diferencias existentes tanto para el primer muestreo como para el segundo, fueron de 0.0502 mg/l y de 0.0594 mg/l, respectivamente ($p > 0.05$).

Estas diferencias, tanto estadísticamente significativas como las no significativas se pueden observar de manera más clara en la Tabla 2.8. y en las Gráficas 2.6, 2.7 y 2.8.

Peso Relativo de Órganos (hígado, riñón, bazo, bolsa de Fabricio).

Durante los dos muestreos realizados en la experimentación, los órganos que no presentaron diferencia estadística significativa entre los dos tratamientos, fueron el hígado, el riñón y la bolsa de Fabricio. ($p > 0.05$)

Sin embargo, al día 21 el peso relativo del hígado muestra un ligero aumento en las aves que estuvieron en contacto con aflatoxinas con respecto al grupo C, con una diferencia de 0.05%, y para el segundo muestreo, una diferencia de 0.36%, también siendo mayor el grupo AFB.

Los porcentajes se muestran en la Tabla 2.9

El peso relativo del riñón al primer muestreo, manifestó un mayor peso relativo para el grupo C que para el grupo AFB, con una diferencia de 0.06%; mientras que para el segundo muestreo se observó una diferencia de 0.21% siendo mayor el grupo AFB, como se muestra en la Tabla 2.10.

Durante los días 21 y 28 del experimento, se observó un mayor peso relativo de la B. de Fabricio para el grupo alimentado con aflatoxinas que para el grupo C, mostrando una diferencia al primer muestreo de 0.02% y al segundo muestreo de 0.06%. (Tabla 2.11)

A diferencia de los otros órganos, el bazo presentó, en el primer muestreo, diferencia estadística entre los grupos ($p < 0.05$), siendo mayor el porcentaje de las aves del grupo C con un 0.09%, que las aves que tuvieron contacto con aflatoxinas con un 0.07%; sin embargo, esto no se observó en el segundo muestreo ya que hubo un crecimiento en el peso del bazo en las aves que consumieron aflatoxinas una vez que se les retiró el alimento contaminado, por lo que el peso promedio del bazo del grupo AFB a hora fue mayor con un 0.8%, respecto al grupo C con un 0.066%, sin reflejar diferencia estadística significativa ($p > 0.05$). (Tabla 2.12)

Los cambios en contrados en la morfología de los órganos para el grupo AFB, se enuncian enseguida: (FOTOS 1.1)

- ✓ el hígado se observó demasiado grasoso, de aspecto friable, amarillento y con bordes redondeados; (FOTO 1.2)
- ✓ los riñones presentaron aumento de tamaño pero no de peso, color rojizo, de forma irregular, con presencia de líquido y de aspecto friable; (FOTO 1.4)
- ✓ el bazo presentó una disminución de tamaño considerable, de color rojo intenso, de superficie lisa, sin presencia de líquido; (FOTO 1.3 (B))
- ✓ la bolsa de Fabricio, presentó un color blanquecino, de aspecto friable, de superficie rugosa con presencia de líquido. (FOTO 1.3 (A))

DISCUSIÓN.

Peso.

La intoxicación por aflatoxinas lleva a un cuadro patológico con importantes efectos sobre los parámetros productivos, entre ellos el peso.

En los cálculos estadísticos realizados, para analizar el peso de las aves se encontró diferencia significativa entre el grupo tratado con aflatoxinas a dosis de 1 mg/kg de alimento y el grupo control, hasta el día 21. Sin embargo, después de 7 días de consumo de alimento contaminado se aprecia una ligera reducción en el peso del grupo AFB la cual persiste hasta el día 28.

Los resultados obtenidos coinciden con los trabajos de investigación de Quezada *et al.*, (2000), acerca de la afección de los parámetros productivos en los pollos de engorda, los cuales observaron que a dosis de 2 mg de AFB/kg de alimento, hay una disminución notable en peso en las aves que consumieron alimento contaminado con aflatoxinas. Estos mismo investigadores y (65) mencionan pérdida de peso a los 14 días de tratamiento y se incrementa la pérdida a los 28 días, con una disminución del 20% de peso respecto a las aves del grupo control; en el presente estudio se estimó una disminución del 10.8% de peso, tomando en cuenta que la dosis utilizada fue de 1 mg de AFB /kg de alimento.

Este hecho tiene sus bases en la interferencia que las aflatoxinas causan sobre los procesos de digestión, metabolismo y transporte de los nutrientes, lo cual es una consecuencia directa de la acción adversa de estas toxinas sobre la síntesis proteica a nivel celular, especialmente a nivel hepático, interfiriendo con el metabolismo de las grasas, así como de minerales (zinc) y vitaminas (B6, B12) (77). Los signos más frecuentes de aflatoxicosis crónica son la disminución de peso de las aves y por consiguiente un pobre desarrollo. (43, 50), aunque esto también depende de la especie, sexo y edad (2). La especie más susceptible es el pato, los animales jóvenes y viejos suelen ser más vulnerables (30, 44, 46), así como los machos lo son, sobre las hembras, ya que consumen una mayor cantidad de alimento (mayor dosis) (30, 33, 44), mientras que las hembras tienden a acumular por más tiempo las aflatoxinas que los machos debido a la liposolubilidad de las micotoxinas, específicamente de las aflatoxinas (77).

Consumo de Alimento.

El consumo de alimento se ve afectado desde la semana 1 hasta la 4, ya que las aves que consumieron menor cantidad promedio de alimento fueron las del grupo AFB, con respecto a las aves del grupo Control, sin embargo, al día 28 el grupo Experimental aumento su consumo de alimento con respecto al grupo Control y esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Esto es similar a los estudios realizados por Reddy *et al.*, (1984), los cual es observaron una reducción en la ganancia de peso y en el consumo de alimento en pollos aún con dosis menores (750 μg de AFB /kg de alimento) durante 28 días, del mismo modo Da Falla *et al.*, (1987) con una dosis de 700 μg de AFB/kg de alimento y en un periodo de 2 semanas, también describieron éste efecto sobre el consumo de alimento, no obstante, éste efecto no fue observado en la investigación realizada por Maurice *et al.*, (1982), sin embargo, hay que destacar que este grupo de investigadores utilizaron concentraciones por debajo de las utilizadas por De Falla *et al* (1987), Reddy *et al* (1984) y las utilizadas en este proyecto, la cual fue de 50 y 100 μg de AFB/kg de alimento. (23, 54, 68)

Así por los estudios realizados previamente y por los resultados obtenidos en este trabajo, podemos enunciar que las aves al ver afectado el consumo de alimento, se ve reflejado en el peso corporal, y que es necesario una concentración de aflatoxinas en el alimento por arriba de 100 ppb, causando en los animales que han consumido alimento contaminado anorexia e inapetencia debido a que se altera la palatabilidad del alimento, así como de sordenes en la absorción, distribución y metabolismo de los nutrientes (68).

Aspartato Amino Transferasa (AST/TGO).

Se ha descrito que la aspartato aminotransferasa (AST o TGO) está presente en muchas células, sin embargo ésta es útil en la evaluación de lesiones que se presentan en hígado y músculo, por ser una de las enzimas de mayor actividad en estos tejidos. (23, 24, 27, 67, 85). Sin embargo, la mayor concentración de 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. (23, 24, 27, 67, 85)

En el presente trabajo se observó una concentración enzimática mayor para el grupo AFB que para el grupo C ($p < 0.05$) al día 21 de iniciado el experimento. Una vez retirado el alimento contaminado con aflatoxina, las concentraciones de AST son similares en ambos tratamientos.

En estudios realizados por Ogguz *et al.*, (2002), donde se utilizaron dos dosis de AFB, a 50 y 100 ppb, durante 42 días; a 50 ppb se observa una disminución en la concentración enzimática (28.01 UI), mientras que a 100 ppb aumenta (36.84 UI), con respecto al grupo Control (32.5 UI) ($p < 0.05$). En comparación con el presente trabajo en donde hubo aumento en el grupo alimentado con AFB, es importante mencionar que la concentración fue mayor a la utilizada por Ogguz *et al.*, (2002). Por lo que se pudo observar una elevación significativa desde el día 21.

El mismo efecto reportado en este estudio, fue descrito por Jindal *et al.* (1994), refiriendo que arriba de 300 μg de AFB/kg de alimento, los niveles enzimáticos de AST se incrementan en el torrente sanguíneo. Por el contrario Raju y Devegowda (2000), indican que a dosis de AFB de 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de alimento, no hay alteración en la concentración sanguínea de AST.

Este resulta ser un dato útil en el diagnóstico de aflatoxicosis aviar y que es un recurso poco utilizado por los médicos dedicados a esta especie animal indicando un daño funcional, (3, 78) ya que en muchas ocasiones no se aprecia cambio morfológico macroscópico ni microscópico en hígados de aves que consumen alimento con aflatoxinas.

Al retirar las aflatoxinas, las alteraciones, tales como el daño hepático disminuyeron, permitiendo encontrar una concentración enzimática de AST similar a la presentada por el grupo control. Ya se ha descrito la gran capacidad de destoxicación del hígado en aves, en las cuales se ha observado una eliminación de hasta el 70% de aflatoxina y sus metabolitos después de 72 hrs (30).

Alanin aminotransferasa (ALT o TGP).

Respecto a la concentración sérica de ALT del grupo AFB fue menor en comparación con el grupo C siendo estadísticamente significativos ($p > 0.05$), tanto en el día 21 como después de retirado el alimento contaminado.

La actividad de la ALT en los diferentes tejidos se da en el pollo en orden decreciente primero en músculo cardíaco, tejido pulmonar y por último en el hígado. No existe una gran actividad de esta enzima en el plasma de pollos sanos. Algunos autores como Ogguz *et al* (2002) (79) informan de un aumento en la ALT en pollos que recibieron 50 y 100 µg de AFB/kg de alimento por un periodo de 42 días. Otros investigadores consideran que este indicador no es una prueba diagnóstica útil para evaluar alteración funcional hepática en las aves (20), similar a lo que se observó en este estudio.

Proteínas Séricas Totales.

Las proteínas séricas son otros de los componentes que se afectan por un mal funcionamiento hepático o alteración en la síntesis proteica celular. En el presente estudio se observó un decremento en la concentración de proteínas séricas en las aves del grupo AFB ($p < 0.05$) al día 21; mientras que para el segundo muestreo, no se observa efecto residual al suspender el alimento con AFB.

En base a lo observado se puede proponer que la valoración de la concentración de proteína sérica, es un indicador temprano de intoxicación por aflatoxinas.

Coincide con lo presentado en la literatura la cual menciona que la determinación de los efectos bioquímicos tóxicos de aflatoxinas es importante para diagnosticar aflatoxicosis en pollos (71), observando alteraciones bioquímicas en el suero y en la sangre, antes de que se hagan evidentes los signos clínicos y las alteraciones morfológicas. (47)

La toxicidad de AFB en pollos puede ser manifestada por un descenso en la concentración sérica de Proteínas Totales, (51, 60) afectando la síntesis de RNA mensajero, por lo que se inhibe la síntesis de proteínas en el hígado, y manifestándose con una disminución en la concentración de proteínas plasmáticas (1, 5, 43, 49, 77, 82)

Este efecto es reforzado por el estudio realizado por Cysewsky (1997), en el cual menciona que el hígado es considerado como órgano blanco primario para aflatoxinas, con un consecuente daño sobre la actividad metabólica y capacidad secretora de este órgano (21). Ogguz *et al.*, (2000)

mencionan que a dosis de 2.5 mg de AFB/kg de alimento, del día 1 al 21, se causa una disminución significativa ($p < 0.05$) en los niveles de proteína sérica total. (59)

Albúmina.

En el primer muestreo se observó una disminución en la concentración de albúmina para el grupo AFB comparado con el grupo C, siendo estadísticamente significativo ($p < 0.05$), a diferencia del segundo muestreo en el que no hay manifestación negativa.

Se explica de manera clara, ya que la albúmina es la más abundante de las proteínas plasmáticas, sintetizada por el hígado y liberada al torrente sanguíneo de forma más o menos continua, por lo que un descenso en las concentraciones séricas son sus gestivas de daño por sus sustancias tóxicas, entre ellas las aflatoxinas. (1, 30, 43, 49, 50, 59)

Quezada *et al.*, (2000), mencionan que a dosis de AFB de 2 mg/kg de alimento, las proteínas plasmáticas y albúmina mostraron un descenso del 80%. Mientras que en este estudio se observó un descenso del 47.27%, lo que correlaciona significativamente con Quezada *et al.*, al utilizar en este estudio una dosis de 1 mg de AFB/kg de alimento. Sin embargo Ogguz *et al* (2002) no describen este fenómeno con concentraciones de aflatoxina en alimento de 50 y 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. (60)

Porcentaje de Hematocrito.

Para el primer muestreo, se observó una disminución en el porcentaje de hematocrito, para el grupo expuesto con AFB mientras que para el segundo muestreo, este efecto negativo no se manifiesta; esto indica que no hubo lesión permanente sobre la médula ósea, simplemente existió un efecto depresor sobre la misma (38, 47, 49). Algunos autores 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, como es el caso de la médula ósea. (30, 45, 73, 77)

Lastra, M. J. 2000, menciona que el rango normal del hematocrito en aves, es de 27 a 32 %, lo que indica que hay un descenso en los niveles normales cuando se le suplementa aflatoxinas a dosis de 1 mg/kg de alimento a las aves, ya que se observó un porcentaje de 24.95 al día 21.

Ogguz *et al.*, (2000), demostraron que a dosis de 2.5 mg/kg de alimento, durante 21 días, hubo un descenso significativo del hematocrito ($p < 0.05$); el grupo Control mostró un porcentaje de 32.40, mientras que el grupo AFB, un porcentaje de 22.7, mientras que a dosis de 1 mg/kg de alimento, también durante 21 días, hubo diferencia significativa ($p < 0.05$); el grupo Control con 26.89 de porcentaje, y el grupo AFB con 24.95.

Bilirrubinas.

Al día 21 de iniciado el experimento, se observó diferencia significativa en la concentración sérica de bilirrubinas directas y totales, incrementándose en las aves del grupo AFB. El mismo patrón de comportamiento que se observó para AST al retirar el alimento con aflatoxina por una semana, se observó al medir las bilirrubinas.

Las aflatoxinas así como sus metabolitos se excretan principalmente por la bilis y en menor cantidad en el riñón. El 28% se eliminan por las excretas en 24 horas, mientras el 71% 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 días (30)

Cabe recordar que las bilirrubinas se originan de la degradación de la hemoglobina contenida en los eritrocitos, la cual es fagocitada por macrófagos tisulares; esta hemoglobina escinde en globina y hemo; y el anillo hemo se abre para dar: hierro libre que la transferrina transporta en la sangre, y una cadena recta de cuatro anillos pirrólicos, que constituye el sustrato final de la bilirrubina. (32). La primera sustancia que se forma es la *biliverdina*, aunque en seguida se reduce hacia *bilirrubina libre* o *bilirrubina indirecta*, que va liberándose poco a poco de los macrófagos hacia el plasma. La bilirrubina libre se une de manera inmediata a la albúmina del plasma, que la transporta por la

sangre. Esta bilirrubina, aún ligada a la albúmina, sigue denominándose bilirrubina libre. En muy pocas horas, la bilirrubina libre se absorbe por la membrana del hepatocito. Al entrar al hepatocito, se desliza de la albúmina y se conjuga en un 80%, con el ácido glucorónico para dar el glucorónido de bilirrubina, un 10% se combina con el ácido sulfúrico para formar sulfato de bilirrubina y en un 10% restante se une a una variedad de compuestos. De esta manera la bilirrubina sale del hepatocito a través de un mecanismo de transporte activo y se excreta a los canalículos biliares y desde aquí, hacia el intestino. De manera que en una afección hepática, la tasa de síntesis de bilirrubina es normal, pero la bilirrubina formada no puede pasar de la sangre al intestino. La bilirrubina libre sufre al entrar al hepatocito y se conjuga de manera habitual. Esta bilirrubina conjugada regresa luego a la sangre, quiza por la rotura de los canalículos biliares congestionados o por modificación del mecanismo de excreción del hepatocito y por el vertido directo de la bilis a la linfa que drena el hígado. Por consiguiente, casi toda la bilirrubina del plasma, presente en una afección hepática es *directa o conjugada*, en lugar de *libre*, como lo ocasionado por las aflatoxinas en los hepatocitos la cual ocasiona cambios en la permeabilidad celular y de los canalículos biliares, así como necrosis del tejido.

Peso Relativo del Hígado.

Como se mencionó en los resultados, en los dos muestreos no se observó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre los grupos.

En estudios realizados por Quezada *et al.*, (2000), se demostró que el peso relativo del hígado de pollos tratados con dosis de AFB de 2 mg/kg de alimento durante 21 días, no se incrementó significativamente ($p < 0.05$), como lo ocurrido en éste trabajo.

Lo anterior no concuerda con otros investigadores, ya que ellos mencionan que el hígado es el principal órgano afectado, y su peso relativo aumenta significativamente aún con dosis bajas de aflatoxinas, y éste aumento es debido a una acumulación progresiva de lípidos (39, 50)

La afección del hígado se explica ya que es un órgano involucrado en la biotransformación de AFB1, y por lo tanto, donde se encuentra la mayor acumulación de ésta, 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; éste 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. (30, 45, 46, 55, 65, 77)

En éste trabajo, no hubo incremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$), en ninguno de los dos muestreos, a diferencia de los resultados de Ortatli y Ogguz (2001), en los cuales al usar una dosis de AFB de 2.5 mg/kg de alimento durante 21 días, se muestra una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el grupo AFB y el grupo Control.

Por esto último, y lo descrito previamente se concluye que a dosis de AFB no mayores a 2 mg/kg de alimento durante 21 días, no hay un incremento significativo.

Peso Relativo del Riñón.

Lo visto en el peso relativo del hígado fue también observado en el peso relativo del riñón, por lo que en ningún muestreo hubo incremento o disminución significativa ($p < 0.05$).

Tampoco se observó alteraciones en el peso del riñón en los trabajos de Ortatli *et al.*, (2001), y Quezada *et al.*, (2000) al utilizar dosis de AFB de 2 mg/kg de alimento durante 28 días.

Peso Relativo del Bazo.

A diferencia de los otros órganos, en el bazo sí presentó una disminución significativa ($p < 0.05$) en el peso relativo para el grupo AFB en comparación con el grupo C, todo esto sólo en el primer muestreo.

Los órganos linfoides resultan ser también blanco del efecto de las aflatoxinas por lo que se ven afectados de manera importante la Bolsa de Fabricio y el Bazo. Se menciona que el peso absoluto del bazo se reduce a partir de dosis de AFB a 3 mg/kg de alimento, (31) sin embargo, en éste caso solo se necesitó de 1 ppm para observar este fenómeno

El que no se encuentre el aumento y sí una disminución en el peso relativo del bazo, nos indica que hubo un efecto dañino de las aflatoxinas sobre el bazo en los grupos experimentales, encontrándose histopatológicamente una depleción linfocítica.

Dicho daño al bazo es generado gracias a la toxicidad que producen las aflatoxinas sobre los linfocitos, sobre todo los tipo B, (77) 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 (45) y por último una necrosis de la 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. (30, 45)

Pero, estos resultados no concuerdan con los de Ortatli y Ogguz (2001), los cuales muestran un incremento significativo ($p < 0.05$) para el grupo alimentado con aflatoxina a dosis de 2.5 mg/kg de alimento, en comparación con el grupo C durante 21 días. (61)

Tung *et al.*, (1975), indica que a dosis graduales de aflatoxina se observa una marcada esplenomegalia. (82)

Peso Relativo de la Bolsa de Fabricio

En ninguno de los dos muestreos hubo diferencia estadística significativa, ($p < 0.05$), entre los dos grupos. Lo presentado en éste trabajo coincide con lo presentado por Ortatli y Ogguz (2001), ellos reportan que a dosis de AFB de 2.5 mg/kg de alimento por 21 días, no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) así como Reddy *et al.*, (1984), reportan que a dosis de 6 mg/kg de alimento durante 28 días no hay alteración en el peso relativo de la Bolsa de Fabricio, coincidiendo con los resultados expuestos en ésta investigación.

Opuesto a lo que menciona Ubosi *et al.*, (1985), ya que reportaron que a dosis de AFB de 996 µg/kg de alimento durante seis semanas, causó una disminución en el peso relativo de la Bolsa de Fabricio. (83) Se menciona que la Bolsa de Fabricio llega a presentar reducción en su peso relativo

y esto es debido a distintos grados de atrofia, que dan la apariencia de un incremento en el número de folículos linfoides. (23, 58, 73, 81)

CONCLUSIONES.

La presencia de aflatoxinas en el alimento ocasiona grandes problemas en los parámetros productivos de las aves de engorda y por lo tanto, también grandes pérdidas económicas a los productores. Dicho esto, es importante establecer cuales fueron esos parámetros, ya que algunos de estos pueden servir como prueba diagnóstica temprana, y así poder establecer medidas correctivas que conlleven a pérdidas económicas menores o nulas.

- El peso de las aves mostró afectación en los animales del Grupo Experimental, mermando éste parámetro, sin embargo, insuficiente para afectar de manera constante hasta el día 28, debido al tiempo de exposición y a la dosis de la aflatoxina.
- El consumo individual semanal, no reveló datos importantes para el trabajo.
- Los valores de Proteínas totales y albúmina, disminuyeron en el día 21 para el Grupo Experimental y no así en el día 28, lo cual indica un efecto residual nulo sobre este parámetro, indicador que a dosis bajas no hay afectación suprema en dichos parámetros.
- El efecto en el hematocrito por la adición de aflatoxinas en el alimento, se observó en los animales del Grupo Experimental AFB₁, debido a que el tiempo de exposición fue suficiente para causar daño a la médula ósea y así disminuir la producción eritrocítica en 21 días de la médula ósea.
- Se observó aumento en la concentración sérica de la enzima hepática TGO, la cual se encuentra dentro de los hepatocitos y se libera en gran cantidad en la fase aguda y subaguda del daño hepático. Dicha enzima fue estadísticamente diferente al Grupo Control en el día veintiuno, dato que hace notar que ésta enzima es indicador temprano y muy sensible a cualquier lesión hepática.
- Todo lo contrario con los valores de TGP, y esto nos revela que la medición de ésta enzima no es una prueba diagnóstica para aflatoxicosis temprana en pollos de engorda.

- En una afección hepática, la síntesis de bilirrubina es normal, pero ésta no pasa de la sangre al intestino, por lo que esta bilirrubina conjugada se queda en la sangre, por consiguiente, casi toda la bilirrubina del plasma, presente en una afección hepática es *directa o conjugada* en lugar de *libre*, como lo ocasionado por las aflatoxinas en los hepatocitos, es así como se evidencia que dicha medición si es un buen indicador temprano de aflatoxicosis, ya que los datos obtenidos en éste trabajo, coinciden con lo explicado anteriormente, es decir, a los 21 días de experimentación la bilirrubina directa y la total se observaron aumentadas, mientras que la indirecta se mantuvo en valores basales con respecto al Grupo control.
- En lo que respecta a los pesos relativos, sólo se observó afectación en el bazo, aumentando su valor del Grupo Experimental AFB en el día 21, lo que generó algo inesperado, puesto que normalmente se observa una disminución en todos los valores, lo cual hace nos hace creer que el tiempo de exposición para que este efecto se de, debe ser mayor a los 21 días.

Finalmente, se concluye que la presencia de alimento contaminado con aflatoxinas a dosis de 1 mg/kg de alimento provocó elevación sérica de la enzima TGO o AST, bilirrubina directa y bilirrubina total, coincidiendo con la hipótesis, sin embargo los niveles séricos de proteínas así como los de la enzima TGP o ALT, no presentaron dicho aumento.

BIBLIOGRAFIA.

1. Abo-Norag M, Edrington TS, Kubena LF, Harvey RB. "Influence of a hydrated sodium calcium aluminosilicate and virginiamycin on aflatoxicosis in broiler chickens". *Journal Poultry Science*: 1995; 74: 626–632.
2. Adav SS, Godinwar SP. "Effects of aflatoxin B1 on liver microsomal enzymes in different strains of chickens". *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. endocrinol.*: 1997; 118: 185-189
3. Amer AM, Fahim EM, Ibrahim RK. "Effect of aflatoxicosis on the kinetic behaviour of ceftiofur in chickens". *Research in Veterinary Science*: 1998; 65: 115–118
4. Asao T, Buche G, Abbel-Kader MM, Chang SB, Wick EL, Wogan GN. "Aflatoxins B and G". *J. Am. Chem. Soc.*: 1963; 87: 1076-1077.
5. Bailey RH, Kubena LF, Harvey RB, Buckley SA, Rottinghaus GE. "Efficacy of various inorganic sorbents to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens". *Poultry Science*: 1998; 77: 1623–1630.
6. Bata A, Lászity R. "Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms". *Trends in Food Science & Technology*: 1999; 10: 223 – 228.
7. Berinstain BM. Evaluación de los parámetros enzimáticos hepáticos por la acción de aflatoxina en el pollo de engorde (tesis de licenciatura). Cuautitlán (Estado de México) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2005.
8. Bhatnagar D, Cleveland TE, Cotter PJ. "Mycological aspects of aflatoxin formation. In: The toxicology of aflatoxin formation. Human Health, Veterinary and Agricultural Significance". New York, E.U.A.: Eaton DL, Groopman JD. (Eds.). Academic Press. New York, 1994.
9. Bodine AB, Mertens DR. "Toxicology, metabolism, and physiological effects of aflatoxin in the bovine. In: Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn". Alabama: Diener UL, Asquith RL, Dickens JW, Alabama Agriculture Experimental Station, Auburn University, Alabama. 1983
10. Ritchie WB, Harrison JG, Harrison RL. *Avian Medicine. Principles and Application*. Estados Unidos: Wingers Publishing, Inc, 1994.

11. Buchi G, Ra e ID. 1969. "The structure and chemistry of the aflatoxi n. In: Aflatoxins". New York: Goldblatt, L. A. Academic press. 1969.
12. Bullerman L B. "Methods of detecting micotoxins in foods and beverages. In: Food and Beverage Micology". 2ª edición, New York: Beuchat, L. R. Ed. AVI, 1987: 571.
13. Burke AJ. "Chemical contaminants in foods: Some analytical considerations". J. Assoc. Off. Anal. Chem.: 1985: 68(6): 1069 – 1073.
14. Caballero J. "Niveles críticos de aflatoxina en muestras de maíz para consumo animal en lima metropolitana". Rev. Inv. Veterinaria: 2001: 12 (1).
15. Canela HA. Evaluación de la pigmentación en pollo de engorde por medio de la cromatografía de líquidos a alta presión (plc), alimentado con dietas con taminadas con aflatoxinas (tesis de licenciatura). Cuautitlán (Estado de México) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2005.
16. Carrillo L. 2002. "Orientación Biológica". UNAS: 2002: 16 (5): 987.
17. Castaing J. "Uso de las Arcillas en Alimentación Animal". XIV Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. FEDNA. Pau, Francia.1998
18. Clarke RN, Doerr JA, Ott inger MA. "Relative importance of dietary aflatoxin and feed restriction on reproductive changes associated with aflatoxicosis in the maturing White Leghorn male". J. Poultry Science: 1986: 65: 2239-2245.
19. Clifford JI, Rees KR. "Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell". Nature: 1966: 209: 312 – 315.
20. Coles E H. "Diagnóstico y Patología en Veterinaria". 4ª Edición. México: Editorial Interamericana McGraw-Hill, 1999: 285-299.
21. "Clinical Pathologicc features of acute aflatoxicosis of swine" Am. J. Vet. Res.: 1977: 29: 1577 – 1580.
22. Deborah C. "Micotoxicosis". Revista Plan Agropecuario.: 2000: Enero-Febrero: 45-50.
23. Defalla A, Yabi A, Adam S. "Experimental aflatoxicosis in hybro-type chicks: secuential changes in growth and serum constituents and hisopathological changes". Vet. Hum. Toxicol.: 1987: 29: 222 - 225.
24. Edrington T S, Kubena LF, Harvey RB, Rottinghaus GE. "Influence of a superactivated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or T-2 toxin in growin broilers". J. Poultry Science: 1977: 76: 1205-1211.

25. Ellis WO, Smith JP, Simpson BK. "Aflatoxins in food: Occurrence, Biosynthesis, Effects on Organisms, detection and Methods of Control". *Critical reviews in Food Science and Nutrition*: 1991: 30(3): 403 – 439
26. Esqueda VM, Villegas OR. "Efecto de la producción de Aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en maíz, sus métodos de degradación y su posible control con lectinas". *Revista Vinculación*: 1991: 3(20): 44-47
27. Fernández A, Verde MT, Gascón M, Ramos J, Gómez JD, Chávez G. "Variation of clinical biochemical parameters of laying hens and chicken fed aflatoxin-containing feed". *Avian Path.*: 1994: 23: 37-47
28. Garrido BI. Efecto de los oligomananos como secuestrante de aflatoxinas en pollos de engorda (tesis de licenciatura). Cuautitlán (Estado de México) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2005.
29. Gimeno A, Martins ML. "Métodos de Análisis de Micotoxinas en piensos compuestos y materias primas". Revisión 1. II Conferencia – Salón de Fabricantes de Piensos de l Mediterráneo, Tarragona, España: 1998
30. Groopman JD, Eaton DL. 1994. "Aflatoxins" 1ª Edición. Estados Unidos: Editorial Elsevier, 1994: 250-267.
31. Guthrie LD. "Effects of aflatoxin in corn on production and reproduction in dairy cattle". *Journal Dairy Science*: 1979: 62: 134 – 135.
32. Guyton AC, Hall JE. "Tratado de Fisiología Médica" 10ª Edición. México: Editorial Interamericana McGraw-Hill, 2001: 964-966.
33. Guzmán de Peña D. "Mitos y Realidades de las Micotoxinas". *Revista Avance y Perspectiva*: 2001: 20: 415 – 420.
34. Hernández RJ. Uso de un hepatoprotector y *echinacea angustifolia* en pollos suplementados con alimento contaminado con aflatoxina de *Aspergillus flavus* Link (tesis de licenciatura). Cuautitlán (Estado de México) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2005.
35. Hinton DM, Myers MJ, Raybourne RA, Francke-Carroll S, Sotomayor RE, Shaddock J, Warbritton A, Chou MW. "Immunotoxicology" *Toxicology Sciences*: 2003: 73: 362 – 377.
36. Hofstad MS. "Diseases of Poultry". 7ª edición. Estados Unidos: Iowa State University, 1978.

37. Huff WE, Doerr JA, Webeck CJ, Chaloupka GW, May JD, Merkley JW. "The individual and combined effects on aflatoxin and ochratoxin on various processing parameters of broiler chicken". *Poultry Science*: 1984; 63: 2153 – 2161.
38. Huff WE, Kubena LF, Harvey RB, Carrier DE, Mollenhaver HH. "Progression of aflatoxicosis in broiler chickens". *J. Poultry Science*: 1986; 65: 1891-1899.
39. Ibrahim IK, Shareef AM, Al-Joubory KM. "Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis and Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis". *Research in Veterinary Science*: 2000; 69: 119–122.
40. Ihekweumere R. "Physiological Responses of Broiler Chickens to Quantitative Water Restrictions: Haematology and Serum Biochemistry". *International Journal of Poultry Science*: 2003; 2: 117-119.
41. Jaimez J, Fente CA, Vazquez BI, Franco CM, Cepeda A, Mahuzier G, Prognon P. "Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescent detection in food analysis" *Journal of Chromatography A*: 2000; 882: 1 – 10.
42. Jayashree T, Subramanyam C. "Oxidative stress as a prerequisite for aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*". *Free Radical Biology & Medicine*: 2000; 29 (10): 981 – 985
43. Jindal N, Mahipal SK, Mahajan NK. "Toxicity of aflatoxin B1 in broiler chickens and its reduction by activated charcoal". *Res. Vet. Science*: 1994; 56: 37–40.
44. Jones TC, Duncan R, King NW. "Veterinary Pathology" 6^a Edición. E.U.A.: Editorial Lippincott, Williams & Wilkins, 1997: 539-541.
45. Jordan ET, Pattison M. "Poultry Diseases". 5a Edición. E.U.A.: W.B. Saunders, 2002: 394, 395.
46. Jubb KV, Kennedy PC, Palmer N. "Patología de los Animales Domésticos". Vol.2. 3^a Edición, México: Editorial Hemisferio Sur Mundi-Prensa AEDOS, 1991: 339-340.
47. Kececi T, Oguz H, Kurtoglu V, Demet O. "Effects of polyvinylpyrrolidone, synthetic zeolite, and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis". *British Poultry Science*: 1998; 39: 452-458.
48. Keyl AC, Booth AN. "Aflatoxin effects in livestock". *Journal of American Oil Chemistry Society*: 1971; 48: 599 – 604.
49. Kubena LF, Huff WE, Harvey RB, Yersin AG, Elassalde MH, Wittel DA, Giroir LE, Phillips TD, Peterson HD. "Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate on growing turkey poults during aflatoxicosis". *J. Poultry Science*: 1991; 70: 1823–1830.

50. Kubena LF, Harvey RB, Huff WE, Elissalde MH, Yersin AG, Phillips TD, Rottinghaus GE. "Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol". *J. Poult. Sci.*: 1993; 72: 51–59.
51. Kubena LF, Harvey RB, Bailey RH, Buckley SA, Rottinghaus GE. "Effects of hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens". *Poultry Science*: 1998; 77: 1502–1509.
52. Lastra MJ. "La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000". Dirección general de ganadería o del centro de estadística agropecuaria: <http://www.sagar.gob.mx>: 2000
53. Lillehoj EB. "Effect of environmental and cultural factors on aflatoxin contamination of developing corn kernels. In Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn" Southern Cooperative Series Bulletin 279 for Southern Regional Project S-132; Diener UL, Aspquith RL, Dickens JW, Eds, Auburn University: Opelika AL: 1983.
54. Maurice DV, Bodine AB, Rehner NJ. "Metabolic Effects of low Aflatoxin B1 levels on Broiler". *Poultry Science*, Clemson University, Clemson, South Carolina,: 1982: 980-984
55. Mc. Donald, MG, Carlton WW, Zachari JF. "Thomson's Special Pathology". 3^a Edición. E.U.A.: Editorial Mosby, 2001: 110, 111, 149.
56. Mohiuddin SM, Vikram RM, Madhava RM, Ramakrishna K. "Studies of phagocytic activity and haematological changes in aflatoxicosis in poultry". *Indian. Vet. J.*: 1986: 63: 442 – 445.
57. Moreno ME. "El maíz y las aflatoxinas en: La industria de la masa y la tortilla: desarrollo y tecnología". Torres F, Chong I, Quintanilla J. PUAL-UNAM.: 1996: 139-145.
58. Morilla GA. "Efecto de las Micotoxinas sobre los mecanismos de inmunidad de los animales". *AVIRAMA*: 1986: 2: 19-27
59. Ogguz H, Kececi T, Birdane TO, Onder F, Kurtoglu V. "Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chicken during experimental aflatoxicosis". *Res. in Veterinary Science*: 2000: 69: 89-93.
60. Ogguz H, Kurtoglu K, Kurtoglu V, Birdane YO. "Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure". *Res. in Veterinary Science*: 2000: 73: 101-103.

61. Ortatli M, Ogguz H. “Ameliorative effects of dietary clinoptilolite on pathological changes in broiler chickens during aflatoxicosis”. *Research in Veterinary Science*: 2001: 71: 59–66
62. Peña BS. “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
63. Pier AC. “Mycotoxins and animal health”. *Ad. Veterinary Science. Comp. Med.*: 1981: 25: 186-240.
64. Ponce SJ. Desintoxicación con ácido cítrico de alimento contaminado con aflatoxina en patos Pekín (tesis de licenciatura). Cuautitlán (Estado de México) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2005.
65. Quezada T, Cuéllar H, Jaramillo JF, Valdivia AG, Reyes JL. “Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development”. *Comparative Biochemistry and Physiology part C*: 2000: 125: 265 – 272.
66. Raju MV, Devegowda G. “Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry, and hematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (AF, ochratoxin and T-2 toxin)”. *British Poultry Science*: 2000: 41: 640-650.
67. Rao VN, Joshi HC. “Effect of certain drugs on acute induced aflatoxicosis in chicken /4 mg aflatoxina B1/kg bwt)”. *Indian Vet. J.*: 1993: 70: 344-347.
68. Reedy DN, Rao PV, Reddy VR, Yadgiri B. 1984. “Effect of selected levels of dietary aflatoxin on the performance of broiler chicken”. *Indian Journal Animal Science*: 1984: 54: 68 – 73.
69. Richardson KE, Hamilton PB. “Enhanced production of pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis in egg-type chickens”. *Poultry Science*: 1987: 66: 640 – 644.
70. Roebuck BD, Maxuitenko YY. “Biochemical mechanisms and biological implication of the toxicity of aflatoxins and related to aflatoxin carcinogenesis. Chap 2, in: The toxicology of aflatoxins”. E.U.A.: Eaton DL, Groopman JD. (eds.). Academic Press, San Diego, 1994: 27 – 43.
71. Rosa CA, Miazzo R, Magnoli C, Salvano M, Chiac SM, Ferrero S, Saenz M, Carvalho EC, Dalcero A. “Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of AF in broilers”. *Poultry Science*: 2001: 80: 139–144.

72. Rosiles RM. "Consideraciones sobre algunas micotoxinas". Memorias del 1er. Curso de Toxicología Veterinaria. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM: 1977.
73. Roy SK, Kulkarni AP. "Aflatoxin B1 Epoxidation catalysed by partially purified human liver lipoxygenase". *Xenobiotica*: 27 (2): 231 – 241.
74. Rustom IY. "Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods". *Food Chemistry Gran Bretaña*: 1997: 59 (1): 57 – 67.
75. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural. Centro de Estadística Agropecuaria. "Situación actual y perspectivas de la producción de carne de pollo para el 2002". México (DF): SAGARPA, 2002.
76. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural. Centro de Estadística Agropecuaria. "Situación actual y perspectiva de la producción de carne de pollo en México en 2003". México (DF): SAGARPA, 2003.
77. Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. "Calnek's Diseases of Poultry" 11ª Edición. E.U.A.: Iowa State Press, 2003: 1109-1113.
78. Santuario JM, Mallmann CA, Rosa AP, Appel G, Heer A, Dageforde S, Bottcher M. "Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxin". *British Poultry Science*: 1999: 40: 115–119.
79. Smith JW, Hamilton PB. "Aflatoxicosis in the broiler chicken". *Poultry Science*: 1970: 40: 207 – 215.
80. Sotomayor RE, Washington M, Nguyen L, Nyang'anyi R, Hinton DM, Chou M. "Effects of Intermittent Exposure to Aflatoxin B1 on DNA and RNA Adduct Formation in Rat Liver: Dose-Response and Temporal Patterns". *Toxicological Sciences*: 2003: 73: 329-338
81. Stubblefield RD, Lyon RL, Richard JL, Pedersen WM, Thurston JR, Rimler RB. "Distribution and clearance of aflatoxins B1 and M1 in turkeys fed diets containing 50 or 150 ppb aflatoxin from naturally contaminated diet". *Avian Diseases*: 1986: 30: 788-793.
82. Thaxton JP, Tung HT, Hamilton PB. "Immunosuppression in chickens by aflatoxin". *Poultry Science*: 1974: 53: 721-725
83. Tung HT, Cook FW, Wyatt RD, Hamilton PB. "The anemia caused by aflatoxin". *Poultry Science*: 1975: 54: 1962 – 1969.
84. Ubosi CO, Hamilton PB, Dunnington EA, Siegel PB. "Aflatoxin affects in White Leghorn chickens selected for response to sheep erythrocyte antigen, 1, body weight, feed conversion and temperature responses". *Poultry science*: 1985: 64: 1065-1070

85. Velásquez E. “Estudio control y prevención de micotoxinas en alimentos concentrados para aves y cerdos”. CENIAP-FONAIAP.: 2000.
86. Voigt MN, Tye TM, Park LE, Wright JM, Hall DE. “Influence of avian aflatoxicosis on the synthesis of polyamines”. Poultry Science: 1987; 66: 1217-1223.
87. Watts CM, Chen YC, Ledoux DR, Brookhead JN, Bermudez AJ, Rottinghaus GE. “Effects of Multiple Mycotoxins and a Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate in Poultry”. International Journal of Poultry Science: 2003; 2 (6): 372 – 378

APÉNDICE.

TABLA 1.1

CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS EN BASE A SU CRECIMIENTO

Tipo de Hongo	Humedad Relativa	Temperatura de Proliferación	O ₂ / CO ₂	Sustrato	Hongo
Campo	>95%	Baja	Aerobia	Fitopatógeno plantas vivas	<i>Fusarium</i> <i>Alternaria</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Cladosporium</i> <i>Helminthosporium</i>
Almacén	<95%	20 – 25 °C	Anaerobia facultativa	Material fisiológicamente inactivo	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>

Fuente: Carrillo L. 2002. "Orientación Biológica". UNAS.

TABLA 1.2

COMPARACIÓN DE TRABAJOS PARA MEDIR CONCENTRACIÓN PROTÉICA SÉRICA EN g/dl REALIZADOS A DIFERENTES DOSIS Y MISMOS DIAS DE EXPERIMENTACIÓN

Tratamiento	Ogguz <i>et al.</i> , 2000 Llevado a 21 días <i>Dosis 2.5 g/kg</i> <i>g/dl</i>	Trabajo presente 2007 Llevado a 21 días <i>Dosis 1 g/kg</i> <i>g/dl</i>
C	2.21 +/- 0.12 ^a	2.95 +/- 1.07 ^a
AFB	1.30 +/- 0.14 ^b	2.17 +/- 0.34 ^b

*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

C=Control; AFB=Aflatoxina

Fuente: Ogguz, H., Kececi, T., Birdane, T.O., Onder, F. y Kurtoglu, V. 2000. "Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characterers of broiler chicken during experimental aflatoxicosis". (59) y el presente trabajo.

TABLA 2.1

PESO VIVO PROMEDIO EN GRAMOS

Tto.	Días				
	<i>Día 1</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>	<i>Día 28</i>
	g	g	g	g	g
C	50.7 +/- 5.01 ^a	137.58 +/- 22.6 ^a	282.14 +/- 47.8 ^a	495.82 +/- 45.8 ^a	751.2 +/- 83.84 ^a
AFB	50.8 +/- 5.3 ^a	125.47 +/- 27.18 ^a	267.32 +/- 64.1 ^a	424.39 +/- 68.6 ^b	670.0 +/- 83.89 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de p<0.05.*

C=Control; AFB=Aflatoxina; g=Gramos

TABLA 2.2

CONSUMO DE ALIMENTO PROMEDIO INDIVIDUAL EN GRAMOS

Tratamiento	Días experimentales				
	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>	<i>Día 28</i>	
	g	g	g	g	
C	22.24 +/- 0.64 ^a	43.06 +/- 2.78 ^a	66.66 +/- 7.21 ^a	110.02 +/- 4.36 ^a	
AFB	19.79 +/- 0.92 ^a	42.69 +/- 2.41 ^a	63.15 +/- 4.58 ^a	123.52 +/- 5.04 ^b	

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de p<0.05.*

C=Control; AFB=Aflatoxina; g=Gramos

TABLA 2.3

CONCENTRACIÓN ENZIMÁTICA PROMEDIO DE AST/TGO EN UI

Tratamiento	Días de experimentación	
	<i>Día 21</i> UI	<i>Día 28</i> UI
C	45.35 +/- 4.93 ^a	47.7 +/- 3.03 ^a
AFB	51.25 +/- 1.45 ^b	50.29 +/- 2.74 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de p<0.05.*

C=Control; AFB=Aflatoxina; UI=Unidades Internacionales

TABLA 2.4

CONCENTRACIÓN ENZIMÁTICA PROMEDIO DE ALT/TGP EN UI

Tratamiento	Días de experimentación	
	<i>Día 21</i> UI	<i>Día 28</i> UI
C	7.67 +/- 0.056 ^a	4.11 +/- 1.07 ^a
AFB	6.78 +/- 0.98 ^a	3.97 +/- 0.81 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de p<0.05.*

C=Control; AFB=Aflatoxina; UI=Unidades Internacionales

TABLA 2.5

CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES EN g/dl

Tratamiento	Días de experimentación	
	<i>Día 21 g/dl</i>	<i>Día 28 g/dl</i>
C	2.95 +/- 1.07 ^a	1.35 +/- 0.048 ^a
AFB	2.17 +/- 0.34 ^b	1.37 +/- 0.021 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de p<0.05.*

C=Control; AFB=Aflatoxina

TABLA 2.6

CONCENTRACIÓN DE ALBÚMINA EN g/dl

Tratamiento	Días de experimentación	
	<i>Día 21 g/dl</i>	<i>Día 28 g/dl</i>
C	2.20 +/- 0.87 ^a	1.78 +/- 0.15 ^a
AFB	1.16 +/- 0.47 ^b	1.76 +/- 0.11 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de p<0.05.*

C=Control; AFB=Aflatoxina; g/dl=Gramos/Decilitro

TABLA 2.7

PORCENTAJE PROMEDIO DE HEMATOCRITO

Tratamiento	Días de experimentación	
	Día 21 %	Día 28 %
C	26.89 +/- 1.94 ^a	25.66 +/- 1.41 ^a
AFB	24.95 +/- 1.57 ^b	26.3 +/- 1.49 ^a

*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

C=Control; AFB=Aflatoxina;

TABLA 2.8

PROMEDIO DE BILIRRUBINAS EN SUERO (mg/l)

Tto.	B. T.		B. D.		B. I.	
	Día 21	Día 28	Día 21	Día 28	Día 21	Día 28
C	0.082 +/- 0.0481 ^a	0.5483 +/- 0.1120 ^a	0.07175 +/- 0.0675 ^a	0.102 +/- 0.0242 ^a	0.6355 +/- 0.0858 ^a	0.4117 +/- 0.1477 ^a
AFB	0.2158 +/- 0.0142 ^b	0.5872 +/- 0.1067 ^a	0.9015 +/- 0.0985 ^b	0.1147 +/- 0.0132 ^a	0.6857 +/- 0.1021 ^a	0.4711 +/- 0.1395 ^a

*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

C=Control; AFB=Aflatoxina; mg/l=Miligramo/Litro

TABLA 2.9

PESO RELATIVO DE HÍGADO EN %

Tratamiento	Días de experimentación	
	Día 21 %	Día 28 %
C	3.41 +/- 0.33 ^a	2.4 +/- 0.83 ^a
AFB	3.46 +/- 0.24 ^a	2.76 +/- 0.66 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de p<0.05.*

C=Control; AFB=Aflatoxina;

TABLA 2.10

PESO RELATIVO DEL RIÑÓN EN %

Tratamiento	Días de experimentación	
	Día 21 %	Día 28 %
C	1.16 +/- 0.18 ^a	0.81 +/- 0.20 ^a
AFB	1.10 +/- 0.13 ^a	1.02 +/- 0.23 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de p<0.05.*

C=Control; AFB=Aflatoxina;

TABLA 2.11

PESO RELATIVO DE LA BOLSA DE FABRICIO EN %

Tratamiento	Días de experimentación	
	Día 21 %	Día 28 %
C	0.26 +/- 0.06 ^a	0.19 +/- 0.08 ^a
AFB	0.28 +/- 0.07 ^a	0.25 +/- 0.11 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.*

C=Control; AFB=Aflatoxina;

TABLA 2.12

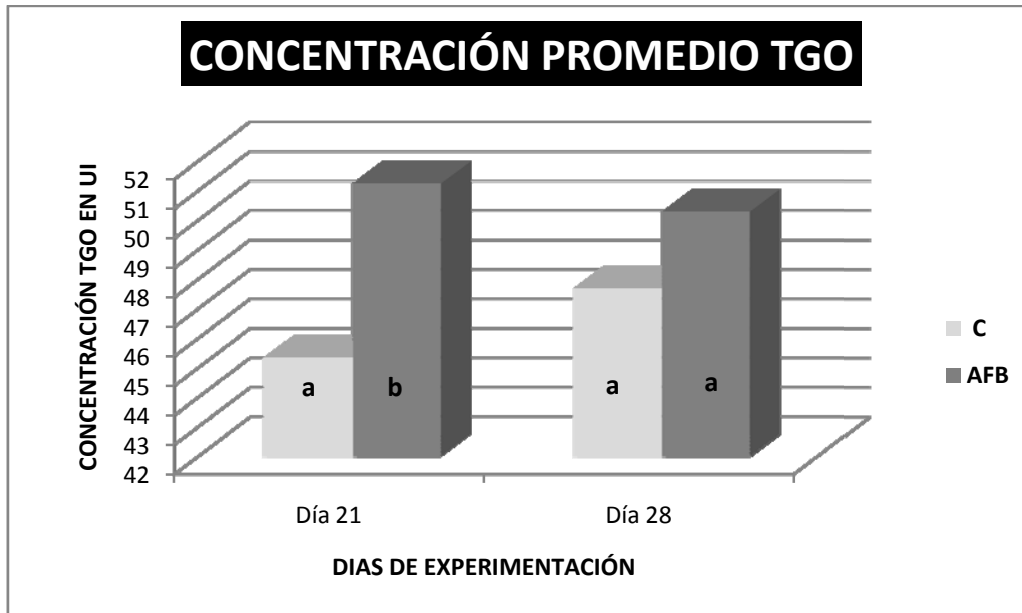
PESO RELATIVO DEL BAZO EN %

Tratamiento	Días de experimentación	
	Día 21 %	Día 28 %
C	0.092 +/- 0.02 ^a	0.06 +/- 0.02 ^a
AFB	0.074 +/- 0.02 ^b	0.08 +/- 0.03 ^a

**Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.*

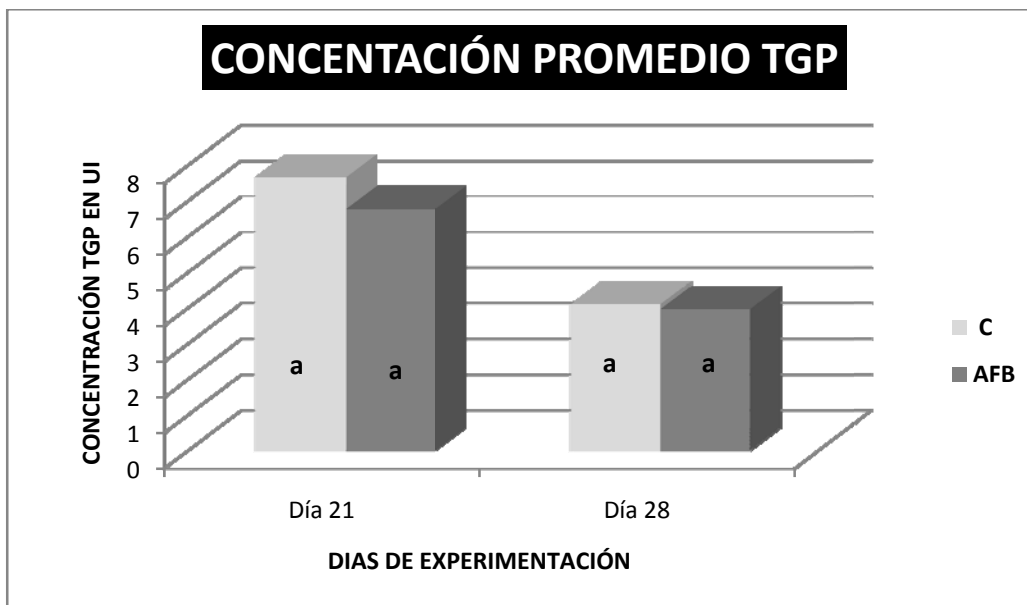
C=Control; AFB=Aflatoxina;

GRAFICA 2.1



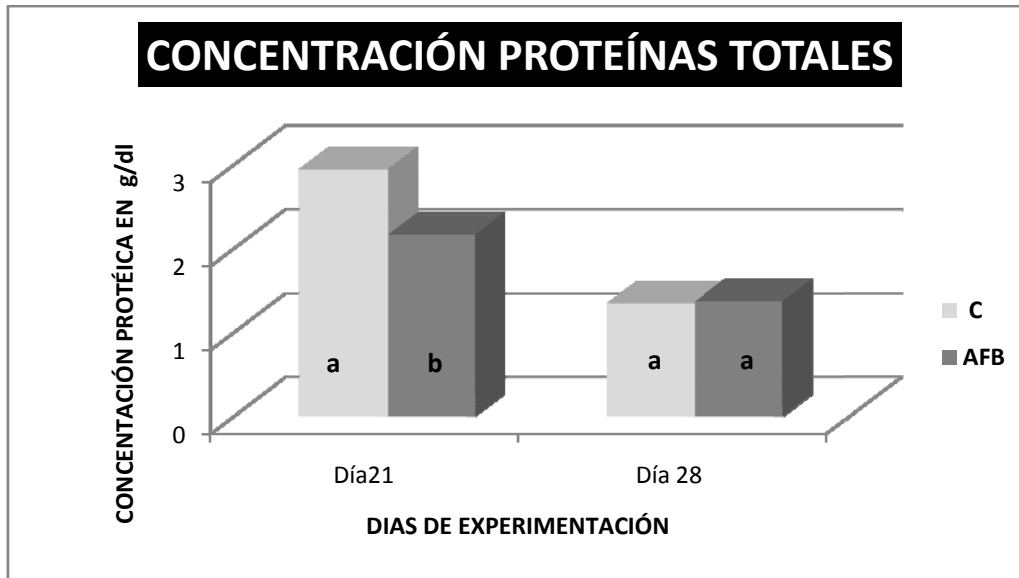
*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

GRÁFICA 2.2



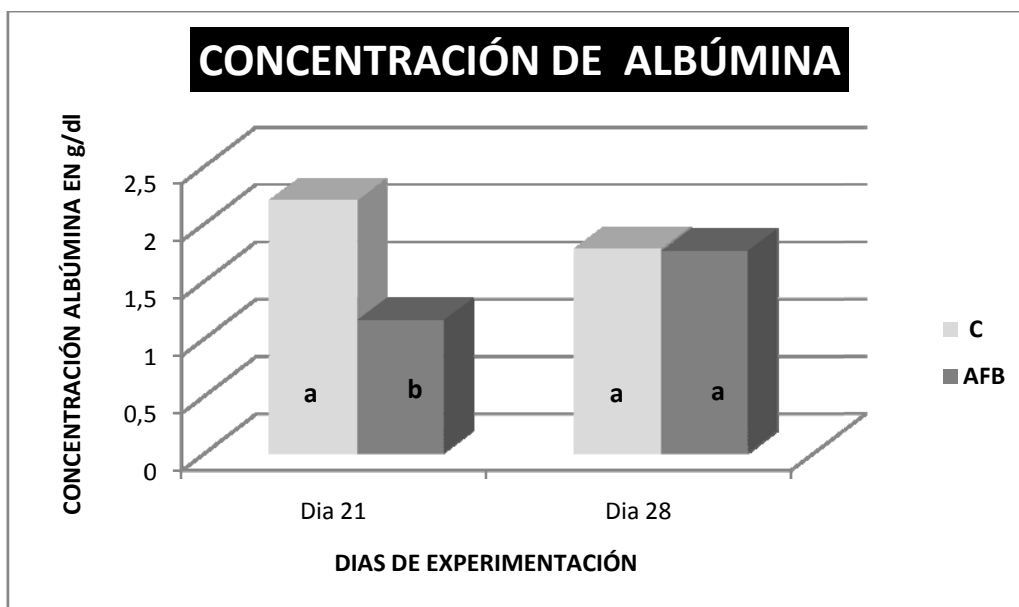
*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

GRÁFICA 2.3



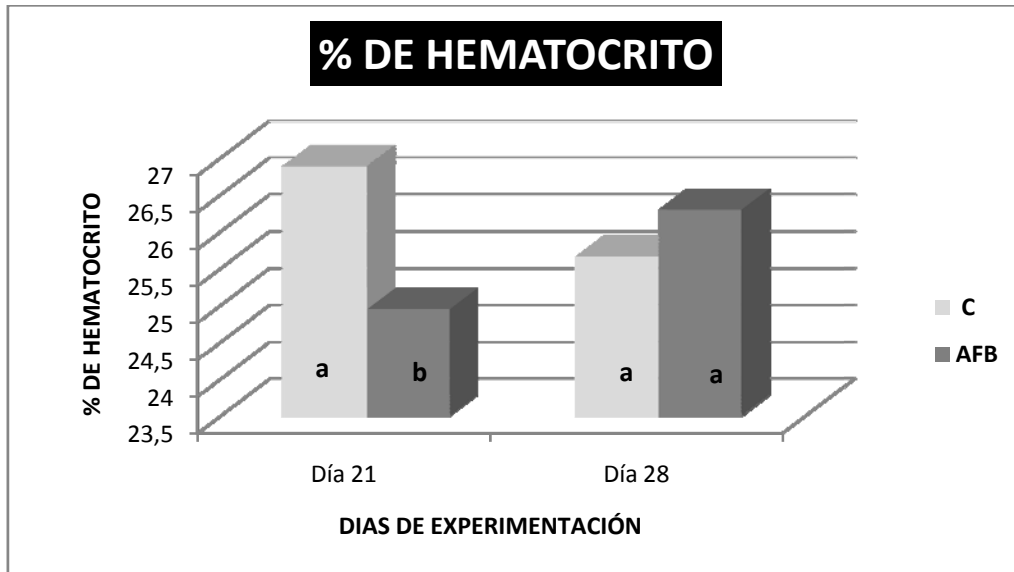
*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

GRÁFICA 2.4



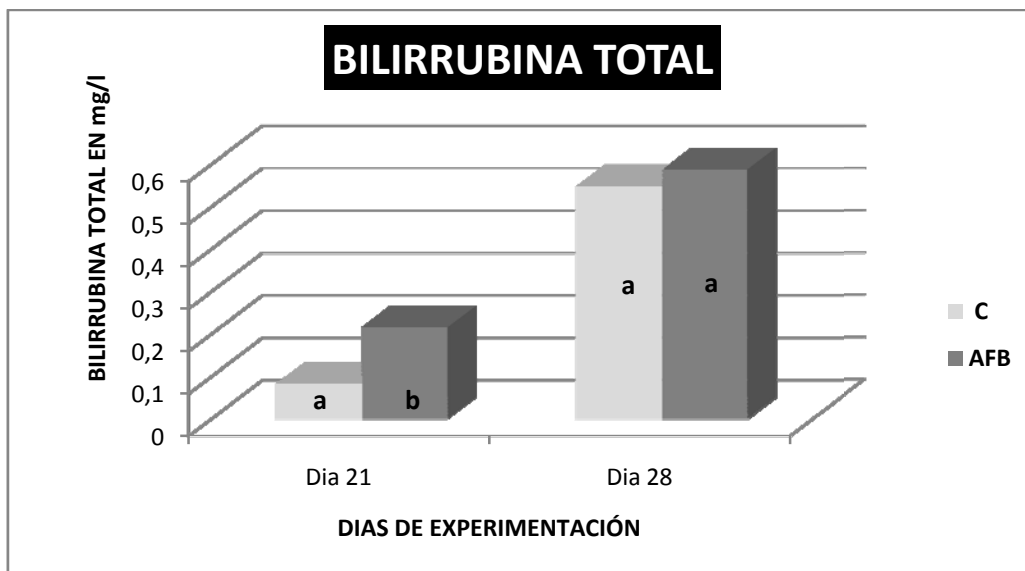
*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

GRÁFICA 2.5



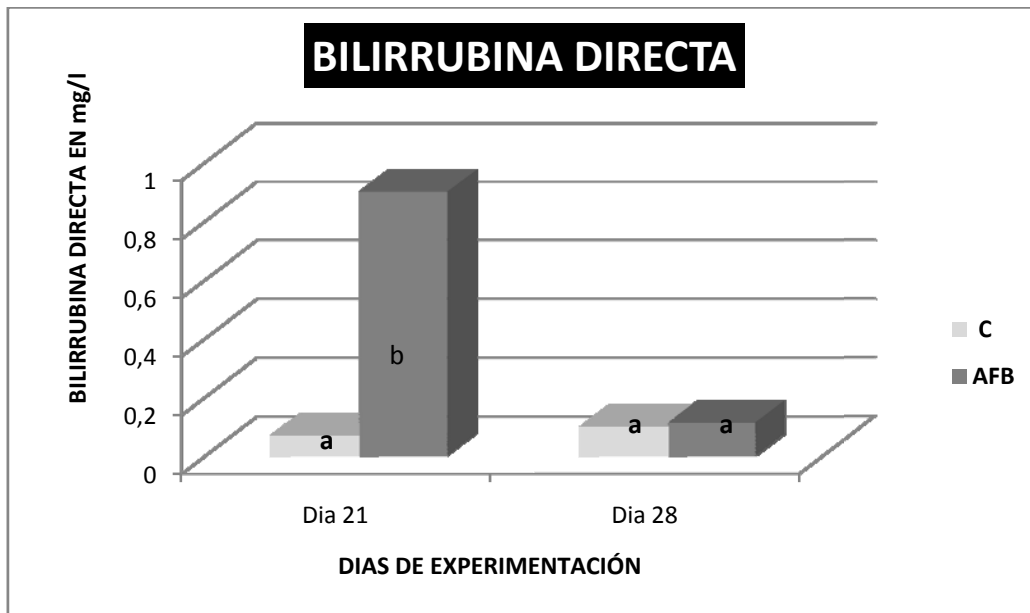
*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

GRÁFICA 2.6



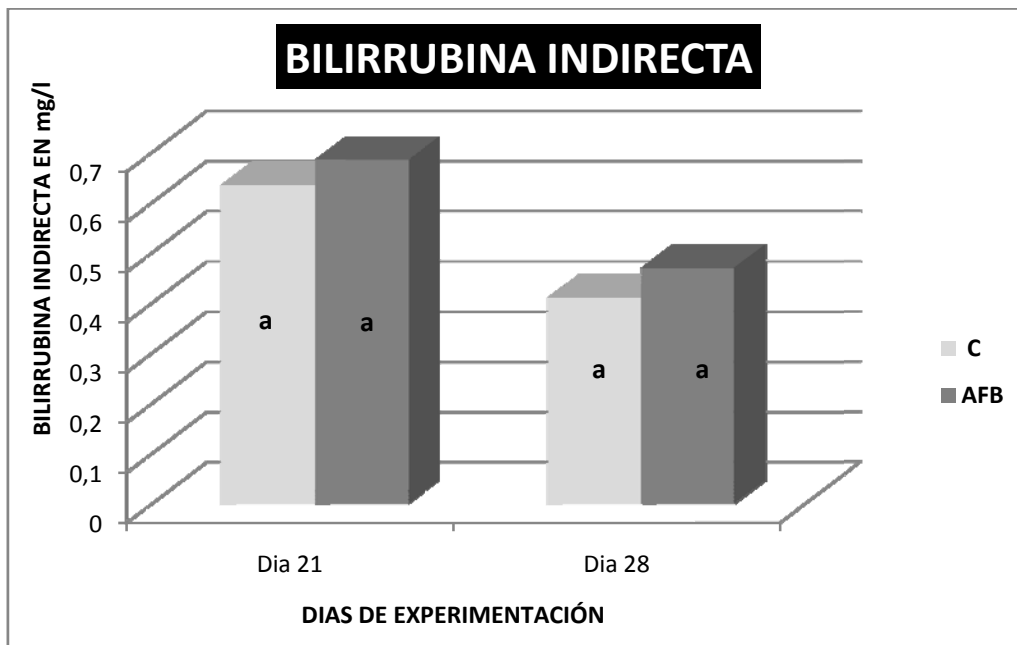
*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

GRÁFICA 2.7



*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

GRÁFICA 2.8



*Literales diferentes en cada columna Indica diferencia significativa al comparar las medidas utilizando la prueba de Tukey con una significancia de $p < 0.05$.

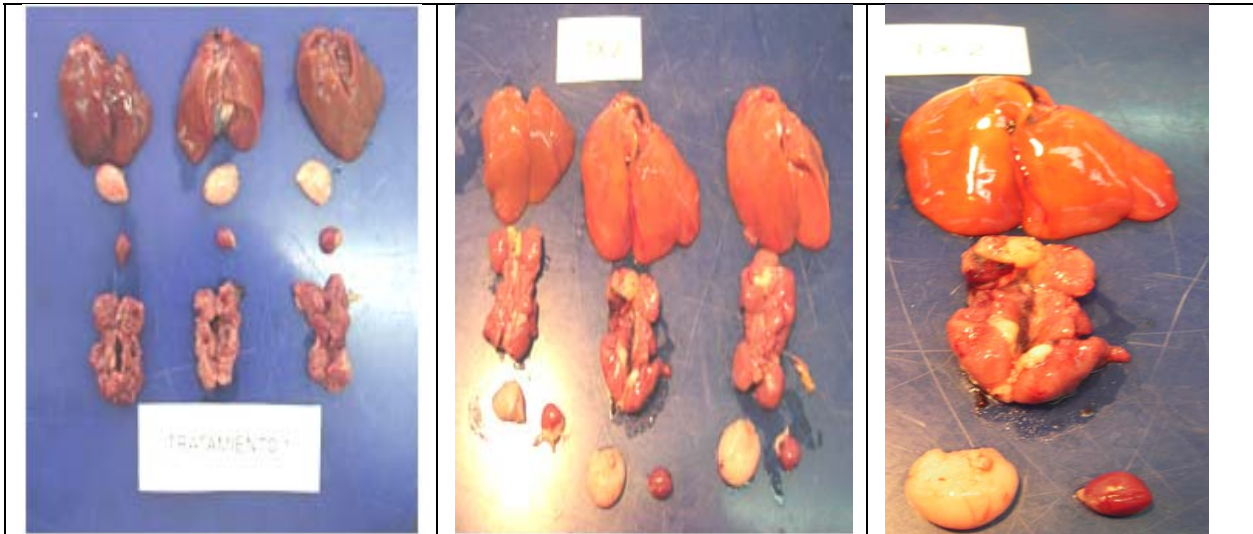


FOTO 1.1

Fotografía Izq. hígado, riñón, bazo y b. de F. del grupo control.

Fotografía Central y Derecha. hígado, riñón, bazo y b. de F. de aves del grupo con AFB1



FOTO 1.2

Hígado del grupo aflatoxina: Hepatosis grasa severa.

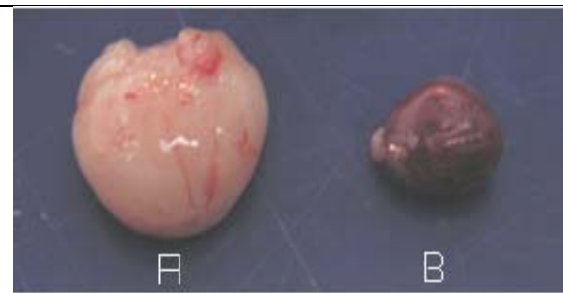


FOTO 1.3

Grupo aflatoxina: (A) Bolsa de Fabricio aumentada de volumen y edematizada. (B) Bazo con disminuido de tamaño.



FOTO 1.4

Riñón del grupo aflatoxina: Nefromegalia y congestionado.