



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**“EL USO DE SECUESTRANTES A BASE DE  
ARCILLA EN LA PROTECCIÓN CONTRA LA  
AFLATOXICOSIS AVIAR”.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.**

P R E S E N T A :

**MIGUEL ANGEL ORTIZ CID**

ASESOR: Dr. JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA

COASESOR: Dr. JESÚS ABRAHAM MÉNDEZ ALBORES



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.

## ÍNDICE

ÍNDICE	1
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
Características generales que deben conservar los granos	14
Características de los hongos con capacidad toxigénica	16
Clasificación taxonómica de <i>Aspergillus</i>	22
Características morfológicas generales del género <i>Aspergillus</i>	23
Características del crecimiento de <i>Aspergillus in vitro</i>	23
AFLATOXINAS	31
Biosíntesis de Aflatoxinas	32
Aflatoxicosis Aviar	38
Efectos biológicos de la Aflatoxicosis	39
Patogenia	41
Lesiones Morfológicas	42
Macroscópicas	42
Microscópicas	43
Patología Clínica	45
Diagnóstico	49
Prevención	49
ADSORVENTES Ó ALUMINOSILICATOS	50
JUSTIFICACIÓN	54
HIPÓTESIS	55
OBJETIVOS	56
MATERIALES Y MÉTODOS	57
Diseño Experimental	58
Variables a medir	59
Análisis Estadístico	60
RESULTADOS	61
Signología	61

Peso	61
Consumo semanal	62
Índice promedio de conversión alimenticia	63
Aspartato amino transferasa (AST/TGO)	64
Aspartato alanin amino transferasa (ALT/TGP)	64
Proteínas séricas	65
Peso Relativo Órganos	66
DISCUSIÓN	67
Signología	67
Peso	67
Consumo de Alimento	68
AST/TGO	69
ALT/TGP	70
Proteínas Séricas	71
Albúmina	72
Peso Relativo Órganos	73
CONCLUSIONES	76
BIBLIOGRAFIA	77
IMÁGENES	87

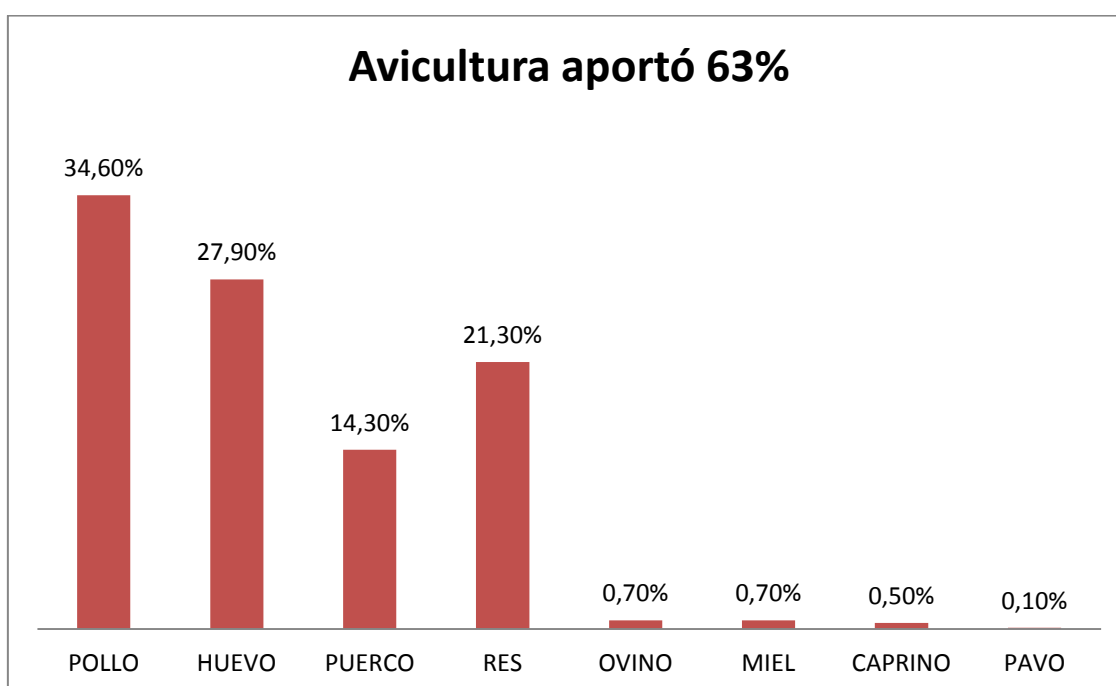
## RESUMEN

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos con capacidad genética toxigénica, de los cuales las aflatoxinas poseen propiedades tóxicas, mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas, siendo la aflatoxina B1 ( AFB1 ) la más potente. La presencia de aflatoxinas en el alimento balanceado terminado causa retardo del crecimiento, mala conversión alimenticia e incremento del consumo de alimento en pollos de engorda ( *Gallus domesticus* ). Los principales órganos afectados son hígado, riñón y órganos linfoides (bazo y la bolsa cloacal). Existen diversas medidas para el control de la aflatoxicosis, dentro de estas se encuentra el uso de secuestrantes a base de arcilla. El presente trabajo evaluó la efectividad de un secuestrante a base de arcilla comercial en aves que consumieron alimento contaminado con una concentración de 100µg aflatoxina B1 y B2 /kg de alimento. Las variables estudiadas fueron: el peso corporal, consumo de alimento, concentración en suero de proteínas totales, albúmina, concentración enzimática de Aspartato amino transferasa (AST ó TGO) y Alanin amino transferasa (ALT ó TGP), así como los pesos relativos de los órganos hígado, bazo y bolsa de Fabricio. En este estudio se puede observar el efecto benéfico de los secuestrantes (844.56 g), sobre el peso grupo AFB (698.48 g), el consumo grupo con secuestrante (2439.4 g y con AFB (2420.3 g), la conversión alimenticia (Grupo H con 2.3 y Grupo AFB con 2.5), así como determinar un menor daño hepático a través de la evaluación de las transaminasas (Grupo secuestrante con 26 U/I de AST y 3.5 U/I de ALT y Grupo AFB con 47 U/I de AST y 2 U/I de ALT) respecto a la concentración de proteínas el grupo con secuestrante obtuvo la mayor concentración (9.514 g/dl). (p<0.05).

## INTRODUCCIÓN

La avicultura mexicana en 2012, aportó el 0.77% en el PIB total, el 19.7% en el PIB agropecuario y el 40.9% en el PIB pecuario.

El sector avícola mexicano participa con el 63% de la producción pecuaria; 34.6% aporta la producción de pollo, 27.9% la producción de huevo y 0.10% la producción de pavo. (Véase Gráfica 1).



Gráfica 1. Fuente: [www.una.org.mx](http://www.una.org.mx)<sup>115</sup>

De 1994 al 2012 el consumo de insumos agrícolas, ha crecido a un ritmo anual de 2.8%, y cabe destacar que la avicultura es la principal industria transformadora de proteína vegetal en proteína animal.

Para el 2013, se proyecta que la avicultura generará 1 millón 188mil empleos, en 2012 la avicultura generó 1 millón 167mil empleos. Cabe mencionar que el 60 % de los empleos los genera la rama avícola de pollo, el 38% la de huevo y solo un 2% la de

pavo.

La parvada nacional avícola en México decreció 2.45% en 2012, respecto al crecimiento obtenido en 2011, por lo tanto la parvada es la siguiente: 466 millones de aves, 137 millones de gallinas ponedoras, 270 millones de pollos al ciclo y 512 mil pavos al ciclo.

### **Importaciones.**

México - Durante los seis primeros meses del 2013, el país elevó la importación de huevos un 464%. Antes de los sucesivos brotes de influenza aviar H7N3, el país era autosuficiente en la producción de huevo.

Al cierre del primer semestre de 2013, la importación de huevo se elevó 464 por ciento al llegar a 94 millones de dólares, en contraste con los 17 millones de dólares registrados en igual periodo del año pasado, indican las estadísticas sobre comercio exterior del Banco de México, pero no indican el monto de toneladas.

Según *NSS Oaxaca*, la cifra es inédita en la historia de México ya que hasta antes de la influenza aviar que estalló a mediados de 2012, México era autosuficiente en la producción de ese alimento, que es la principal fuente de proteína para la población y resultaban casi nulas las importaciones al respecto.

Las compras de huevo al extranjero apenas sumaban 20.4 millones de dólares en 2000; es decir, la cuarta parte de las realizadas entre enero y junio de este año.

Además esas importaciones de huevo fresco y en polvo para uso industrial en los primeros seis meses de este año superaron las correspondientes a todo 2012, cuyo monto fue de 64 millones de dólares, pese a que las autoridades federales han asegurado que los brotes de influenza aviar ocurridos desde febrero en Guanajuato y hasta mayo en Puebla (las vacunas tuvieron que aplicarse en 12 entidades), no afectaron tanto a la parvada nacional de gallinas ni la producción de huevo y su precio como ocurrió en la última etapa del sexenio del ex presidente Felipe Calderón.

Llama la atención que mayo fue el mes que registra la mayor importación de huevo en el último año con 31.5 millones de dólares, casi el doble de los 16.2 millones de dólares que se compraron al exterior en septiembre del año pasado, una cifra récord hasta entonces.

Las cifras del Banco de México arrojan que México pagó un promedio mensual de 15.3 millones de dólares por las importaciones de huevo entre enero y junio de este año, lo cual quintuplica la compra mensual de 2.8 millones de dólares en el mismo lapso de 2012 y es 10 veces superior al millón 600 mil dólares mensual erogado en 2000.

El pasado 9 de agosto se cumplió un año desde que la Secretaría de Economía (SE) autorizó las primeras importaciones de huevo, tanto fresco como en polvo, seco y congelado para consumo industrial (235.4 mil toneladas en total), como una medida para disuadir la especulación que se desató por la influenza aviar en granjas avícolas de Jalisco y que provocó que el precio del huevo se vendiera a más 40 pesos en promedio luego de un precio de 24 pesos por kilo.

En un año de importaciones de huevo, contabilizado desde julio de 2012, cuando la influenza aviar comenzó a causar estragos en Jalisco hasta junio de 2013, México invirtió 141,388,000 dólares.

Tal cantidad representa 3.63 veces o 263 por ciento más respecto de los 38,929,000 dólares que se erogaron por el mismo concepto 12 meses antes, es decir de julio de 2011 a junio de 2012, de acuerdo con los datos del Banco de México.

Entre 2000 y 2010 las importaciones mensuales oscilaron entre uno y 3 millones por mes, después superaron esa cantidad pero no fue una constante para todos los meses. Con la influenza aviar, en agosto del año pasado se llegó por primera vez a los 6 millones de dólares de importaciones, luego a los 16 millones en septiembre, bajó a 10 millones en octubre, descendió a 4.9 millones en diciembre y diciembre cerró con 6.8 millones.

En este el año el desempeño ha sido el siguiente: 7.5 millones de dólares en enero, 6.4 en febrero y 9 millones en marzo. Saltó a 18 en abril, 31 en mayo y en junio cerró con 20 millones de dólares de importaciones.



Las importaciones mexicanas de carne de ave, se han incrementado gradualmente. En 2012 se importó 14.2% más que el año anterior, pero lo doble de los últimos 15 años, lo que significa que la Tasa de Crecimiento Anual de 1996 al 2010 es de 10.2 por ciento.

Fuente: <http://www.elsitioavicola.com/poultrynews/> 19 de agosto del 2013.

### Producción.

En el 2013 se produjeron 2.907 millones de toneladas de carne de pollo, muy por encima de los demás cárnicos, la producción de huevo fue de 2.509 millones de toneladas y la de pavo 8 mil toneladas.

La producción de pollo en México, durante el periodo de 1994 a 2013 ha aumentado a un ritmo de crecimiento anual del 4.3 por ciento. (Véase imagen 1).

Imagen 1.

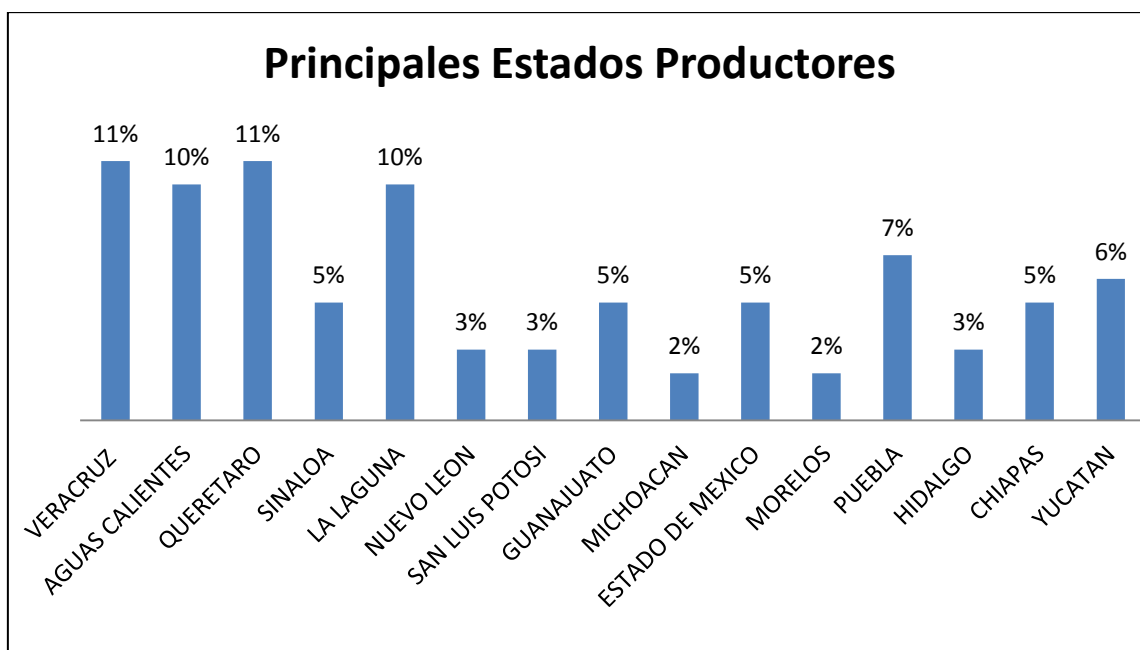
Producto	Volumen Toneladas	Valor de la Producción [Millones de Pesos]
Huevo - Eggs	2,509,350	55,942
Pollo - Chicken	2,907,394	71,754
Pavo - Turkey	8,214	460
Total	5,424,958	128,157

Fuente: [www.una.org.mx](http://www.una.org.mx)<sup>115</sup> Compendio de indicadores económicos del Sector Avícola 2013 (Martes 10 de Junio 2014).

## Principales Estados productores.

Durante el 2012, el 94% de la producción de carne de pollo en México se concentró en los siguientes estados y regiones de la República Mexicana: La Laguna, Veracruz, Querétaro, Jalisco, Aguascalientes, Nuevo León, Puebla, Chiapas, San Luis Potosí, Michoacán, Yucatán, Estado de México, Sinaloa, Guanajuato y Morelos. (Véase Gráfica 2)

Gráfica 2.



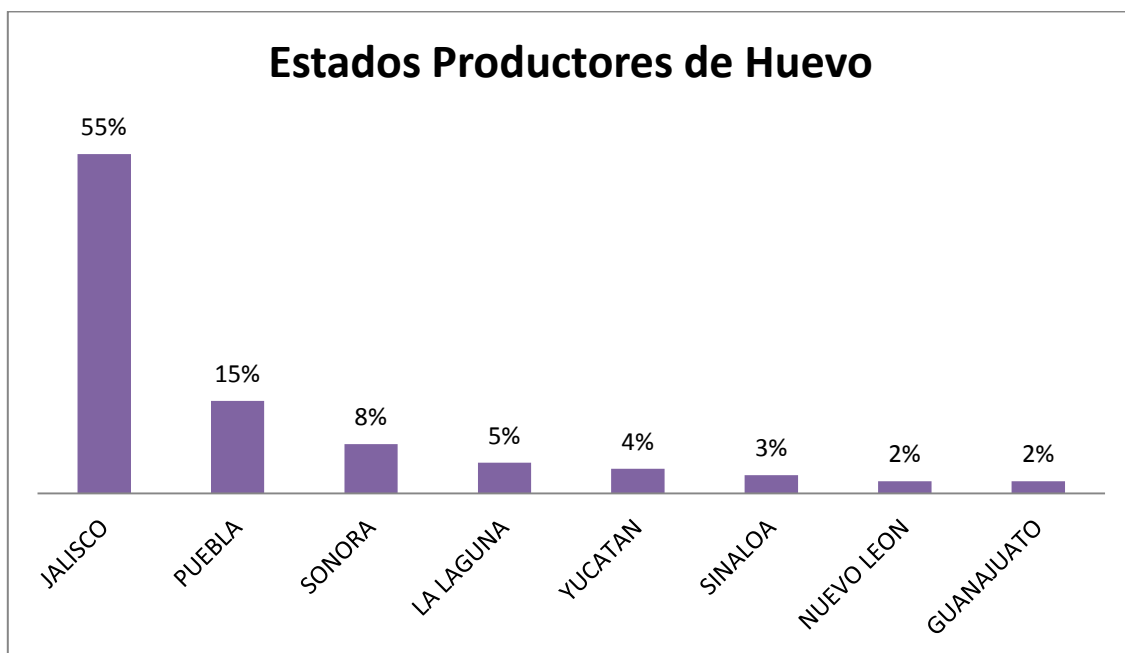
Fuente: [www.una.org.mx](http://www.una.org.mx)<sup>115</sup> Compendio de indicadores económicos del Sector Avícola 2013 (Sábado 15 de Marzo 2014).

La comercialización de pollo en México se lleva cabo de la siguiente manera: Vivo 33%, rosticero 26%, mercado público 19%, supermercado 15%, piezas 6% y productos de valor agregado 4 por ciento.

Por lo que se refiere a la producción de huevo, de 1994 a 2012 creció a un ritmo anual de 2.8%, lo que significa que en dicho lapso, su crecimiento fue de 63%.

Por otro lado, la producción de huevo en México durante 2012, se produjo fundamentalmente en los siguientes estados y regiones del país como: Jalisco, Puebla, Sonora, la Laguna, Nuevo León, Yucatán y Guanajuato. (Véase Gráfica 3).

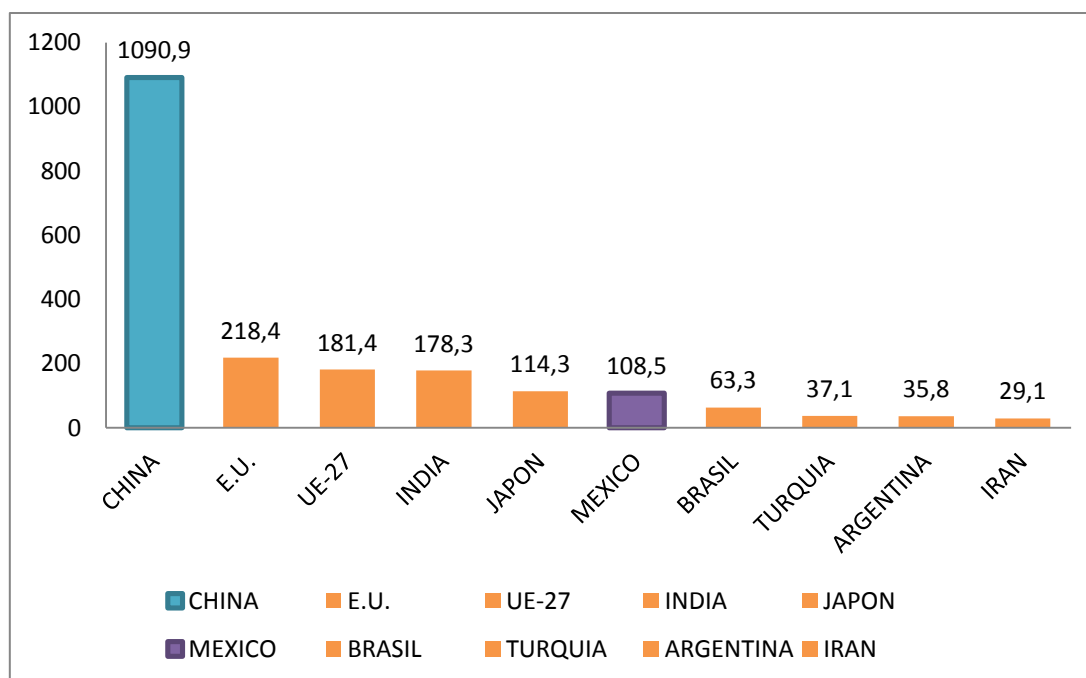
Gráfica 3.



Fuente: [www.una.org.mx](http://www.una.org.mx)<sup>115</sup> Compendio de indicadores económicos del Sector Avícola 2013 (Sábado 15 de Marzo 2014).

La producción de huevo en México durante el año 2012 fue de 2.38 millones de toneladas (108.5 millones de cajas anuales). México se ubicó como el sexto productor de huevo a nivel mundial, después de China (1,090 millones de cajas), EUA (218 millones de cajas), La Unión Europea (181 millones de cajas), India (178 millones de cajas) y Japón (114 millones de cajas). Cada caja de huevo consta de 360 unidades (30 docenas de huevos). (Véase Gráfica 4).

Gráfica 4.



Fuente: [www.una.org.mx](http://www.una.org.mx)<sup>115</sup> Compendio de indicadores económicos del Sector Avícola 2013 (Sábado 15 de Marzo 2014).

La comercialización del huevo para consumo humano, conocido también como huevo para plato\*, suele hacerse a través de tres vías principales: el 80% se comercializa a granel en los mercados tradicionales y centrales de abasto, el 14% en tiendas de autoservicio en envases cerrados y el 6% restante, se destina al uso industrial.

En los últimos años, los precios del huevo han estado por debajo de los índices de inflación.

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, 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 aun en condiciones adversas de clima que no permiten la práctica de otras actividades productivas.<sup>66</sup>

La producción de carne de 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).

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 producción de pollo de las de mayor importancia.<sup>99</sup>

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. A medida que aumenta el número de aves domésticas, el médico veterinario participa con más frecuencia en el cuidado de su salud y con el objeto de llegar a un diagnóstico más exacto y establecer un régimen de tratamiento razonable, el médico hace uso del laboratorio de diagnóstico. La problemática con que se enfrenta el médico 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.

Al igual que en otras ramas de la producción pecuaria, el aumento de los volúmenes de producción avícola lleva al crecimiento de consumo de alimentos balanceados y por tanto, de granos forrajeros, pastas y/o granos oleaginosas, los que conforman parte fundamental de las dietas aplicadas para obtener los mayores niveles

de productividad, aprovechando para ello el potencial productivo que la mejora genética confiere a las aves de engorda.<sup>66</sup>

### **Consumo.**

En la alimentación del mexicano, el sector avícola juega un papel importante, ya que 6 de cada 10 personas incluyen en su dieta productos avícolas (huevo y carne), esto se debe, en parte, a que los precios de huevo y carne se han reducido en términos reales en la última década, y también a que ambos son alimentos nutritivos y versátiles en su preparación.

En México el consumo per-cápita de pollo ha aumentado de 15.83 Kg. en 1994 a 25.8 kg. durante 2012, para el 2013, se estima que el consumo de pollo alcance los 25.9 kg.

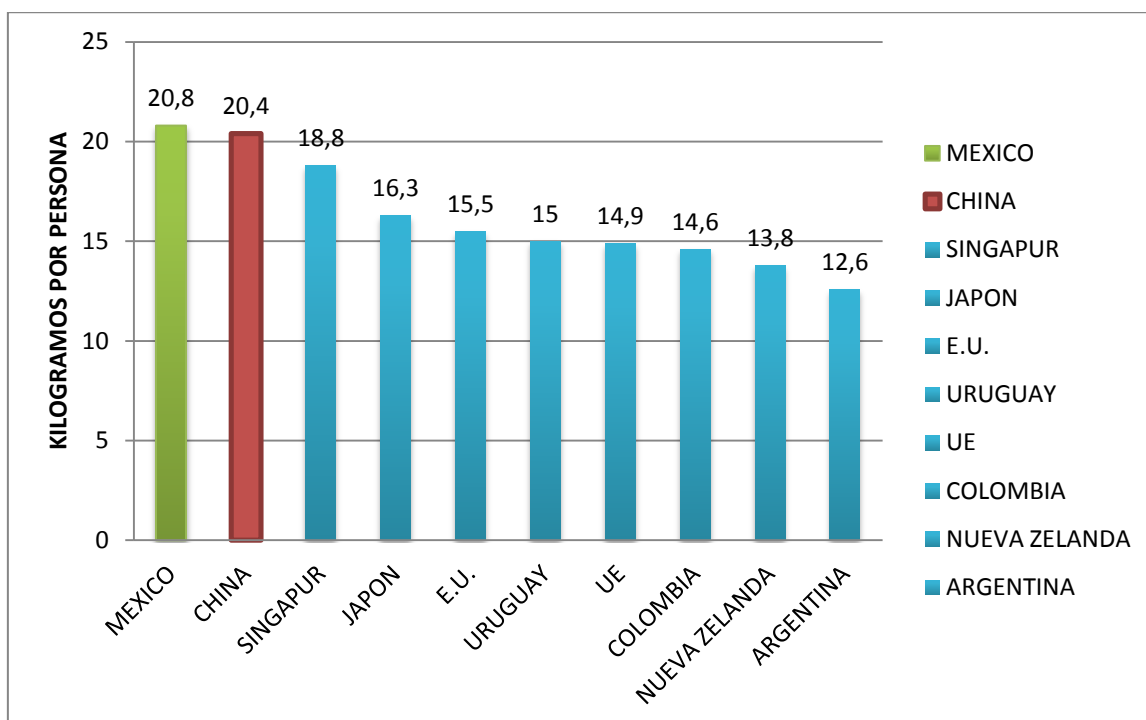
Fuente: <http://www.elsitioavicola.com/poultrynews/>19 de agosto del 2013<sup>115</sup>

Existen diversos factores que favorecen el consumo de carne de pollo en nuestro país:

- ✓ Más puntos de venta cada vez más cerca del consumidor.
- ✓ Confianza en la calidad de los productos (frescura).
- ✓ Incremento de restaurantes de comida rápida.
- ✓ Producto de alta calidad a precios accesibles.
- ✓ Tendencia de consumo hacia carnes con bajo contenido de grasa.
- ✓ Carne que permite diferentes variedades de preparación.

El principal consumidor de huevo a nivel mundial es México. El consumo per cápita del mexicano es de 20.8 Kg de huevo; casi un huevo diario. En segundo lugar se encuentra China con 20.4 Kg; en tercer lugar Singapur con 18,8 kg; Japón en cuarto lugar con 16.3 Kg, y en quinto Estados Unidos con 15.5 Kg. (Véase Gráfica 5).

Gráfica 5.



Fuente: [www.una.org.mx](http://www.una.org.mx)<sup>115</sup> Compendio de indicadores económicos del Sector Avícola 2013 (Sábado 15 de Marzo 2014).

### Alimentación e insumos en la producción animal.

De 1994 al 2012 el consumo de insumos agrícolas, ha crecido a un ritmo anual de 2.8%, y cabe destacar que la avicultura es la principal industria transformadora de proteína vegetal en proteína animal.

Para el 2013, se proyecta que la avicultura generará 1 millón 188mil empleos, en 2012 la avicultura generó 1 millón 167mil empleos. Cabe mencionar que el 60 % de los empleos los genera la rama avícola de pollo, el 38% la de huevo y solo un 2% la de pavo.

La parvada nacional avícola en México decreció 2.45% en 2012, respecto al crecimiento obtenido en 2011, por lo tanto la parvada es la siguiente: 466 millones de aves, 137 millones de gallinas ponedoras, 270 millones de pollos al ciclo y 512 mil pavos al ciclo.

La producción de carne de pollo continúa ubicándose como la rama de la ganadería con mayor consumo de granos forrajeros y oleaginosas, absorbiendo más del 25% del consumo pecuario de granos como maíz y sorgo, los que en conjunto representan el 95% del abasto de estos insumos para la ganadería.<sup>66</sup>

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 se 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.<sup>14</sup>

### **Características generales que deben conservar los granos:**

La contaminación de alimentos agrícolas y pecuarios por hongos constituye un problema higiénico sanitario a nivel mundial. Los hongos pueden invadir los alimentos desde el campo ó en el almacén, provocando una disminución en la calidad nutritiva y organoléptica en los alimentos invadidos, además, ciertos hongos poseen la capacidad de sintetizar micotoxinas, sustancias químicas altamente peligrosas para la salud humana y animal.<sup>114,14</sup>

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

Dentro de los microorganismos los hongos son los principales presentes en los granos almacenados y constituyen la más importante causa de pérdidas y 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.<sup>15</sup>

### **Hongos de campo.**

Así son llamados 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%.<sup>22</sup> Tabla (1.1).

### **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*, *Alternaria*. (Véase tabla 1.1).

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. 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.<sup>15</sup>

(TABLA 1.1 ) Clasificación de los hongos en base a su crecimiento

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

Fuente: Carrillo L. 2002 “Orientación Biológica” UNAS.

Una invasión fúngica descontrolada y desarrollada de las materias primas y alimentos, provoca: modificación de las características organolépticas del mismo, deterioro y reducción de las características nutritivas, así como segregación masiva de enzimas que provoca reacciones de lisis fuertemente exotérmicas y la presencia de micotoxinas.<sup>41</sup>

Se conocen unas 900 especies de *Aspergillus* que Harper y Fennell (1985) clasifican en 18 grupos. Los hongos 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.<sup>79</sup>

### **Características para que los hongos con capacidad toxigénica se desarrollen y produzcan micotoxinas.**

#### **Factores Físicos.**

- a) **Humedad y Agua disponible (AW).**

La cantidad de agua existente en el ambiente y en los sustratos es uno de los factores importantes para el desarrollo de los hongos y para la producción de micotoxinas.

Sin embargo no sólo influye la cantidad de agua sino también la forma de presentación de la misma, así pues, el agua se encuentra en forma libre y en forma combinada. El agua libre existe dentro y alrededor de los tejidos vegetales o de las células y puede ser eliminada sin interferir seriamente con los procesos vitales. La forma combinada está presente en los tejidos vegetales y animales, formando parte integrante de las células que lo componen y en unión con las proteínas y glúcidos. Para la germinación de las esporas de hongos, es necesario que el agua se encuentre de forma libre.<sup>69</sup>

Existen dos grandes unidades relacionadas con la cantidad de agua:

- ✓ **Humedad relativa de equilibrio (HRE):** es la cantidad de humedad de la que disponen los microorganismos una vez alcanzado el equilibrio entre la humedad libre del producto y el vapor de agua existente en el medio ambiente que lo rodea. La HRE se expresa en porcentaje y varía de unos alimentos a otros conformes a su riqueza en glúcidos o en materia grasa.
- ✓ **Agua disponible (AW):** es el grado de interacción del agua con los demás constituyentes.<sup>100</sup> La AW nos indica cual es la cantidad de agua disponible para el desarrollo de los microorganismos una vez se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema alimento/medio ambiente.

La AW se expresa como la relación existente entre la tensión del vapor de agua en el sustrato (P) y la del agua pura (P0) a la misma temperatura, ( $AW = P/P0$ ). Si la humedad del alimento está en equilibrio con la humedad relativa de equilibrio (HRE) de la atmósfera que lo rodea, la AW en el alimento es numéricamente equivalente a esta, ( $AW = HRE/100$ ). Tengamos en cuenta que la HRE se refiere a la atmósfera en equilibrio con el producto y el AW se refiere al propio producto. El agua pura tiene una AW de 1 y está en equilibrio con una atmósfera de 100% de HRE. La AW de un alimento es siempre menor que 1. Los valores de aw que los diversos grupos de hongos

necesitan varían de acuerdo con el sustrato y la temperatura. Veamos ahora algunos valores de AW necesarios para el desarrollo de algunos hongos y para la producción de micotoxinas, la mayoría de los hongos que contaminan cereales necesita valores por encima de los 0.7aw. <sup>69</sup> (Tabla 1.2.)

**Tabla 1.2. Valores de AW necesarios para el desarrollo de algunos hongos y para la producción de algunas micotoxinas.**

<i>Aspergillus flavus</i>	0,78	Aflatoxinas	0,83
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,70	Aflatoxinas	0,80
<i>Penicillium expansum</i>	0,85	Patulina	0,99
<i>Penicillium patulum</i>	0,83	Patulina	0,95
<i>Aspergillus clavatus</i>	0,85	Patulina	0,99
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,77	Ocratoxinas	0,88
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,77	Acido penicílico	0,90
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,82	Ocratoxinas	0,90
<i>Penicillium viridicatum</i>	0,83	Ocratoxinas	0,90
<i>Penicillium citrinum</i>	0,80	Citrinina	0,88
<i>Penicillium martensii</i>	0,79	Acido penicílico	0,99

Fuente: Gimeno 2002 (www.engormix.com).

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

Sin embargo la producción de micotoxinas es nula o muy baja con AW inferior a 0.85 y no obstante el crecimiento de hongos toxicogénicos ya se puede producir en un intervalo de AW de 0.70-0.85. Aunque el valor porcentual de humedad libre de un alimento solo nos da una orientación para juzgar las posibilidades de crecimiento y multiplicación de los hongos. Diremos que valores de humedad inferiores al 13% suelen presentar un crecimiento y proliferación fúngicas se aceleran, pudiendo ser de forma exagerada para valores de humedad del 16%. <sup>69</sup>

### **b) Temperatura.**

La temperatura óptima para el desarrollo de los hongos se encuentra entre los 25 y 30° C y el límite máximo entre los 40 y 45° C. Destacamos que la mayor parte de los hongos no crecen por debajo de 5° C y que sin embargo hay hongos como el *Aspergillus*

*flavus*, *Aspergillus candidus* y *Aspergillus fumigatus* que pueden crecer sin problemas hasta los 55° C y otros como el *Penicillium expansum* y el *Penicillium cyclopium* que son capaces de crecer a 0° C. tablas muestra ejemplos de temperatura y humedad para algunos hongos. Vemos pues que, en cierto modo, existe en algunos casos una proximidad entre la temperatura mínima necesaria para el crecimiento del moho y la que se precisa para la producción de la micotoxina y en general también sucede con la temperatura óptima.

Sin embargo hay algunas excepciones, así pues, *Aspergillus flavus* crece en el arroz entre 6-45°C con un óptimo a 37°C y la producción de aflatoxina se efectúa entre 11 y 36°C con un máximo de producción de 30°C. Así pues y tal como anteriormente ya indicamos, la HRE varía de semilla a semilla, conforme ésta sea amilácea o bien oleaginosa. Veamos con esto cual es la relación entre la humedad de varios cereales y semillas y las diferentes humedad relativa (HE) dentro de un mismo intervalo de temperatura. <sup>69</sup> (Tabla 1.3.)

**Tabla 1.3. Temperatura mínima necesaria para el desarrollo de algunos hongos y para la producción de algunas micotoxinas.**

<i>Aspergillus flavus</i>	10°	Aflatoxinas	10°
<i>Aspergillus clavatus</i>	10°	Patulina	12°
<i>Aspergillus ochraceus</i>	10-12°	Ocratoxina	12°
<i>Penicillium expansum</i>	0°	Patulina	0-24°
<i>Penicillium cyclopium</i>	0°	Ocratoxina	0-24°
<i>Penicillium cyclopium</i>	0°	Acido penicílico	4°
<i>Fusarium roseum</i>	15°	Zearalenona	10°

Fuente: [www.engormix.com](http://www.engormix.com)

Dentro de este intervalo de temperatura, los granos de cereales (maíz, trigo y sorgo) mantenidos en estado de equilibrio a un nivel de humedad de 13% o menos (lo que correspondería a una HRE del 65%), se pueden almacenar con seguridad durante un tiempo indefinido. Lo mismo no se puede decir para la soya integral es estas mismas condiciones y mucho menos para el girasol integral (semilla de girasol), donde un 13% de humedad en estado de equilibrio correspondería a una HRE de casi 85%. Cualquier

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

Cereales como el trigo, maíz y sorgo con niveles de humedad de 13.5-14% serán invadidos por hongos tales como *Aspergillus restrictus* y *Aspergillus halophilicus*. Si la humedad fuera de 15% o más, la invasión fúngica más común sería por *Aspergillus glaucus*. Los valores de humedad necesarios para la metabolización de la micotoxina aflatoxina B1 por el *Aspergillus flavus* cambian según el tipo de alimento. El trigo, maíz y sorgo necesitan un 18% de humedad. La soja necesita un 17-18% y el cacahuate necesita solo un 9-10% de humedad. En base a lo anterior se tendrá que tomar en cuenta que el almacenamiento de un cereal o de una semilla oleaginosa no puede ser efectuado con el mismo valor de humedad, para preservar el desarrollo fúngico y una posible producción de micotoxinas.<sup>69</sup>

#### **c) Zonas de microflora.**

En un silo pueden existir pequeñas zonas con alto contenido en humedad, susceptibles de desencadenar un desarrollo fúngico, lo cual puede después provocar un aumento general de humedad en el sustrato y consecuentemente una mayor contaminación fúngica y predisposición para la producción de micotoxinas.<sup>69</sup>

#### **d) Integridad física de los granos.**

Los tegumentos intactos del grano dificultan el acceso del hongo al almidón endospermico. Los granos partidos son más susceptibles de invasión y desarrollo fúngico, que los granos enteros.

Esencialmente esto es debido a un aumento de la superficie de cultivo y una mayor predisposición para que el hongo contacte con la parte interna del grano, la cual es más vulnerable que la cutícula o parte externa.<sup>69</sup>

### **Factores Químicos.**

#### **a) pH.**

Los hongos toleran un gran intervalo de pH (2.5 – 7.5), de un modo general soportan mejor el medio ácido que el alcalino. Debemos destacar que ellos mismos son capaces de alterar el pH, utilizando como fuente de energía los ácidos orgánicos del alimento o los excretados por bacterias acidificantes que pueden aparecer durante el periodo de deterioro del alimento.<sup>69</sup>

#### **b) Composición del sustrato.**

Los hongos no son exigentes desde el punto de vista nutricional y ellos se nutren de los macro y micro elementos existentes en el sustrato donde se desarrollan. Sin embargo la composición del sustrato está muy ligada a la producción de la micotoxina. Están descritos estudios en cereales y semillas de oleaginosas previamente esterilizadas en autoclave e inoculadas con estirpes toxicogénicas de *Aspergillus parasiticus*, el crecimiento de este en la soja fue excelente y la baja producción de aflatoxina fue solo debida a la composición del sustrato.<sup>69</sup>

#### **c) Nutrientes minerales.**

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

En un estudio se encontró que las concentraciones óptimas de ciertos minerales para la producción de ocratoxina A por el *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 fueron de: 0.055-2.2 mg/l de zinc., 0.004-0.04mg/l de cobre., 1.2-2.4mg/l de hierro (los valores de las concentraciones se refieren por litro de caldo de cultivo utilizado).

Cuando disminuyeron las concentraciones de zinc y cobre la producción de ocratoxina A fue casi nula. La falta de algunos de esos elementos da como resultado un pobre crecimiento fúngico y la no producción de la ocratoxina A. En el caso de aflatoxina, son necesarios sustratos ricos en zinc y ciertos aminoácidos para que el *Aspergillus flavus* metabolice la aflatoxina.<sup>69</sup>

#### **d) Potencial de oxi-reducción ( O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ).**

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

El anhídrido carbónico puede inhibir la formación de algunas micotoxinas, como las alfatoxinas. Una atmósfera con 20 a 40% de CO<sub>2</sub> en combinación con una temperatura reducida (17° C) o bien una humedad relativa reducida a ambos factores, previenen la producción de aflatoxina en cacahuates.<sup>69</sup>

### **Factores Biológicos.**

#### **a) Presencia de invertebrados.**

La presencia de insectos actúa como agente de diseminación de la microflora y por lo tanto contribuye al crecimiento y multiplicación de los hongos. El propio metabolismo del insecto eleva el contenido de humedad del sustrato y además la ruptura del pericarpio permite la infección del interior del grano.<sup>69</sup>

#### **b) Estirpes específicas.**

En una misma especie fúngica, no todas las estirpes se comportan de la misma forma. En un estudio se encontró la estirpe NRRL 1957 de *Aspergillus flavus* Link no produce aflatoxina, sin embargo ella es producida por otras estirpes como: NRRL 3251, NRRL 3357, NRRL 3517 y NRRL 3353.<sup>87,76,55,77</sup>

Dentro del principal contaminante fungal para los cereales se encuentra en un alto porcentaje el género *Aspergillus*: (Véase Foto 1).

Foto 1.

### **Clasificación Taxonómica de *Aspergillus* .**

- ✓ Reino : *Fungi*
- ✓ Filo: *Ascomicota*





- ✓ Orden: *Eutoriales*
- ✓ Familia: *Trichocomaceae*
- ✓ Género: *Aspergillus*
- ✓ Especie: *flavus*

### **Características morfológicas generales del género *Aspergillus*.**

El color del crecimiento micelial es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de *Aspergillus*. Poseen 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 métulas o células de soporte. Los *Aspergillus* poseen una o dos series de células sobre la vesícula o bien presentan simultáneamente cabezas de ambos tipos.<sup>85</sup>

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

### **Características del crecimiento de *Aspergillus in Vitro*.**

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

Para el aislamiento se usan medios selectivos con inhibidores del crecimiento bacteriano, así mismo para inhibir la implantación de algunos mohos dando oportunidad a todas las esporas de originar una colonia aunque restringida, si solamente interesa

determinar la presencia de *A. flavus* y *A. parasiticus* se suele sembrar sobre el medio malta sal agar que es selectivo para dichas especies. spp.

Con el fin de comprobar que los medios utilizados son adecuados para observar la velocidad de crecimiento y las características macro y microscópicas, es conveniente sembrar cepas obtenidas de una colección de referencia. La degeneración de las cepas pleomórficas es un problema de muchos hongos, los cuales sufren cambios morfológicos a colonias algodonosas, reducción de la espiración y modificaciones de los conidióforos, asociado a la pérdida de la capacidad de producir toxinas. *Aspergillus* spp.<sup>44</sup>

### **Aspergilosis.**

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

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

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

La infección por vía digestiva es de gran importancia ya que se puede originar por la ingestión de alimentos contaminados, donde los granos son los un importante sitio de implantación de hongos contaminantes, además de que puede ser continuación de la vía respiratoria dada por la inhalación de esporas procedentes de los piensos contaminados o esporas levantadas por el viento.<sup>35</sup>

Además es importante resaltar que la mayoría de los *Aspergillus* son oportunistas, varias especies de estos son capaces de producir metabolitos secundarios con carácter tóxico llamados micotoxinas.<sup>31, 103, 65, 74, 22, 64, 1, 37, 32</sup> (Véase foto 2).



Foto 2. [www.facmed.unam.mx](http://www.facmed.unam.mx) Departamento de Microbiología y Parasitología  
*Aspergillus fumigatus* bajo microscopio electrónico

### **Micotoxinas.**

#### **Historia de las micotoxinas.**

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

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

En 1934 en Illinois, Estados Unidos, murieron 5,000 caballos al consumir maíz mohoso. Para 1939 se aislaron dos toxinas del *Aspergillus fumigatus*, una hemolítica y otra pirógena.

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

Fue hasta 1962 cuando una serie de circunstancias hizo cambiar la actitud adoptada frente a los hongos en los alimentos humanos y animales: la aparición de una enfermedad en los pavos en Inglaterra, que llevó a la muerte a 100,000 pavitos denominada la enfermedad X (Turkey X disease).<sup>118, 68, 119, 22, 35, 64, 49, 73</sup>

La investigación permitió concluir que la causa de la muerte de las aves era una sustancia producida por el hongo *Aspergillus flavus*. Al poco tiempo hubo brotes similares que afectaron a otras aves de corral. El origen de la enfermedad se encontró en tortas de prensado de cacahuete mezclado en el alimento, con rapidez sorprendente se detectó el hongo responsable, el *Aspergillus flavus* y también fueron aislados sus metabolitos tóxicos, las aflatoxinas (acrónimo de *Aspergillus flavus toxin*). A partir de 1961, con el aislamiento evidenció la importancia de los hongos saprofitos en el desarrollo de procesos patológicos en animales y la posible conexión con enfermedades humanas.

A raíz de las observaciones anteriores, tanto la medicina humana como la medicina veterinaria han dado cada vez más importancia a las micotoxinas, sobre todo después de saber que, incluso concentraciones muy pequeñas de éstas pueden comprometer no sólo la salud de los animales, sino también la salud humana, causando grandes pérdidas económicas. Por lo anterior se ha fomentado la búsqueda sistemática de las micotoxinas; como resultado de estos estudios llevados a cabo durante 30 años, hoy se conocen más de 500, sus preferencias por los diversos sustratos, su composición, su estructura química y las diferentes especies de hongos que las producen.<sup>7</sup>

Evidencias actuales que se tienen sobre la importancia de los diferentes hongos toxígenos que invaden a granos indican que los géneros más importantes son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* se ha encontrado que estos tres géneros comprendían el 58% de 943 cepas de hongos, a los que probaron su toxicidad.<sup>32</sup>

La presencia de micotoxinas en los productos alimenticios, depende de cepas específicas de hongos y estas cepas están sujetas a la influencia de factores ambientales como la humedad y la temperatura. Por lo tanto, la contaminación micotóxica de los productos alimenticios puede variar según las condiciones geográficas, climáticas, métodos de producción, tipos de almacenamiento y también según el tipo de alimento.

Algunos productos alimenticios son sustratos más aptos que otros para el crecimiento de los hongos y producción de toxinas. Dentro de las micotoxinas más importantes tenemos la aflatoxina, ocratoxina, desoxinivalenol, fumonisinas, patulina y zearalenona por mencionar algunas. Carrillo (2002). Se ha estimado que existen aproximadamente 400 especies de hongos con capacidad toxigénica, los cuales producen una o más micotoxinas.<sup>6</sup>

En Canadá y Estados Unidos de Norteamérica las micotoxinas más frecuentes son la Ocratoxina, Vomitoxina, y Zearalenona, mientras que las aflatoxinas lo son para el Centro y Sudamérica.<sup>88</sup>

Actualmente se estima que el 25 % de los cereales del mundo están contaminados con micotoxinas conocidas, mientras que un porcentaje mayor podría estar contaminado por toxinas aún no identificadas. No existe región alguna en todo el mundo que escape a la contaminación por micotoxinas y a su impacto negativo en la producción animal y salud humana. Dentro de las micotoxinas de importancia económica se encuentran las aflatoxinas, zearalenona, vomitoxina, fumonisinas, ocratoxinas y la toxina T2.<sup>41</sup>

(Véase tabla 1.2 )

De la gran variedad de hongos existentes en los diversos ecosistemas, los principales géneros que producen micotoxinas son *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, siendo las especies más reconocidas *Aspergillus flavus link*, *Aspergillus parasiticus Speare*, *Aspergillus ocraceus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium niger*, que sintetizan toxinas altamente hepatotóxicas, nefrotóxicas, inmunodepresoras y cancerígenas para los animales domésticos, aves y seres humanos.<sup>41</sup>

Tabla 1.2 Micotoxinas de importancia económica .

Micotoxinas	Aves	Vacas	Cerdos	Caballos
Aflatoxina	++	+	+	+
Zearalenona	+	+	++	+
Vomitoxina	+	+	++	+
Ocratoxina	+	-	+	+
Fumonisinina	+	+	+	++
Toxina T-2	+	+	+	+

Fuente: Carrillo. 2002 “Orientación Biológica” UNAS.

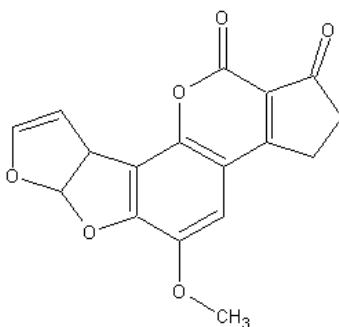
En México la contaminación por micotoxinas es común que se presente en el campo, durante la siembra, desarrollo y cosecha. Los hongos *Aspergillus* crecen bajo temperaturas entre los 25° a 37 °C y con una humedad relativa entre 65 a 80%. Además estos hongos se consideran oportunistas por lo que los insectos y la falta de agua hacen que la planta se debilite, lo cual aprovechan los hongos para entrar e iniciar su proliferación. La FAO a determinado que al menos el 25% de grano y cereales del mundo, están contaminados por hongos y sus micotoxinas. Las micotoxinas más estudiadas son las producidas por *Aspergillus flavus* y son conocidas como aflatoxinas.<sup>79</sup>

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.<sup>6</sup>

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.<sup>59,110,39,10</sup>

Químicamente las aflatoxinas son diafuranocumarinas,<sup>12</sup> 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.<sup>59,110,39,10</sup>



[www.fao.org.com](http://www.fao.org.com) Micotoxinas. Importancia en Nutrición Avícola Estructura química de la Aflatoxina B1

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 Asao et al (1963); y los números se refieren a los patrones de separación de estos compuestos al utilizar el método de cromatografía de capa fina.<sup>59,110,39,10</sup>

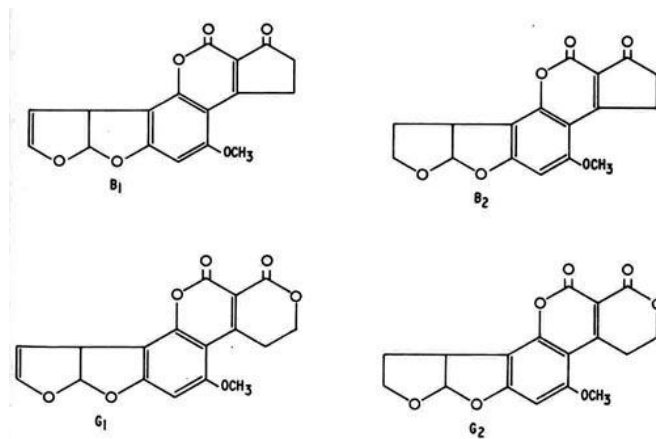


Fig. 1 Structures of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, and G<sub>2</sub>.

[www.fao.org.com](http://www.fao.org.com) Micotoxinas. Importancia en Nutrición Avícola Estructura química de la Aflatoxina B1

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; es el carcinógeno más potente conocido en la naturaleza.<sup>38, 43, 72, 57, 99</sup>

En las aves, en orden decreciente, las especies más susceptibles son: patos, pavos, gansos, faisanes, pollos, los animales jóvenes son más susceptibles que los animales adultos.

En climas cálidos existen una mayor cantidad de aflatoxinas y fumonisinas, mientras que en áreas más frías se presenta la vomitoxina, zearalenona, ocratoxina y toxina T2.

Las lesiones sugestivas de aflatoxicosis son, la necrosis hepática y cambios degenerativos (graso). La inducción de cáncer hepático es común en ratas, truchas y cerdos. En aves se producen diversas reacciones que van desde una mala absorción de nutrimentos, coagulopatía, desarrollo ineficiente, vulnerabilidad a las infecciones, incapacidad para reaccionar a las vacunas (inmunosupresión), problemas reproductivos, etc.<sup>58, 38, 56, 57</sup>



En mamíferos producen necrosis hepática y oral, disfunción hepática, y extensas lesiones hemorrágicas que resultan letales. Peña *et al* (1990). En el hombre, específicamente, los órganos más afectados son el hígado, riñones y cerebro, las intoxicaciones están asociadas con cáncer digestivo, hepatomegalias, hígado graso, cirrosis, además de producir diarreas, vómitos, y abortos son causantes de inmunodepresión y hemorragias internas.<sup>83</sup>

### **Aflatoxinas (AFB).**

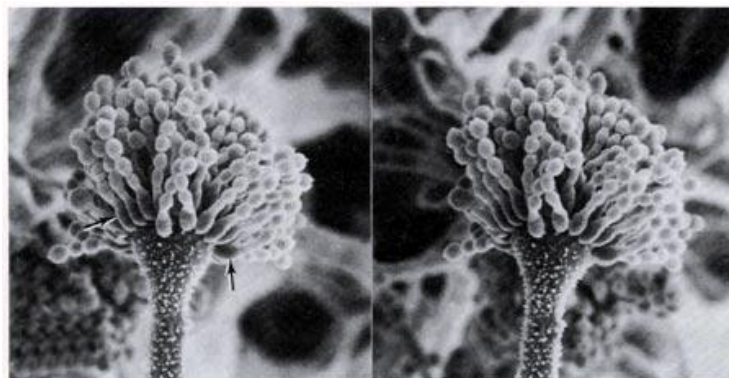
Las aflatoxinas son las más tóxicas y las más estudiadas, son producidas por algunas cepas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Se pueden encontrar en productos tales como la soya, maíz, cacahuete y otros granos, frutos secos y semillas oleaginosas.

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

En animales de granja, las aflatoxinas producen una disminución del crecimiento, disminuyen la eficiencia alimentaria, deprimen la respuesta inmunológica y eventualmente pueden llegar a causar la muerte. En definitiva, un descenso en la productividad.<sup>49</sup>

Las aflatoxinas son un grupo de metabolitos secundarios, producidos principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. (Véase foto 3).

Foto 3.



Porción terminal de un conidióforo de *A.flavus* mostrando su porción basal de la vesícula y distribución de las filidies. Acercamiento 1000x

Las principales aflatoxinas son cuatro: AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2. Generalmente AFB1 es encontrada en mayores concentraciones que las otras y es más potente, siendo carcinógena, teratógena y mutagénica, y el órgano que más afecta es al hígado, por lo que es considerada una hepatoxina.<sup>79</sup>

*Aspergillus flavus* produce además ácido aspergílico, ácido kójico, aspertoxina, esterigmatocistina, fisicota y flavotoxinas entre otros compuestos.<sup>29</sup>

En cuanto a su importancia, se sabe que prácticamente todos los seres vivos son susceptibles a las aflatoxinas. *A. flavus* está adaptado 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, dosis y frecuencia de exposición.<sup>9</sup>

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.<sup>51</sup>

### **Biosíntesis de aflatoxina.**

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

En el caso específico de *Aspergillus flavus* muy rara vez sintetiza G1, G2 (el mecanismo por el cual no lo hace todavía se encuentra bajo estudio).<sup>124</sup>

También existen sub-metabolitos como el Q1, P1 y Aflatoxicol, estos pueden estar presentes ya sea en hígado y orina de muchos mamíferos incluyendo al hombre.<sup>49</sup>

No se conoce el papel fisiológico del metabolito en el desarrollo del hongo, sin embargo; se ha establecido que existe una estrecha asociación entre la biosíntesis de aflatoxinas y la de los lípidos y que además en algunos casos, la síntesis de proteínas disminuye durante la fase de producción de aflatoxinas. Al crecer inicialmente el hongo existe muy poca o ninguna producción de aflatoxinas, pero al reducirse los niveles de fosfatos y nitrógeno en el medio, el metabolismo primario se desorganiza, se acumulan varios metabolitos y se empiezan a producir las aflatoxinas, además de que existen cepas en las que no existe la producción de estas toxinas, por lo que se asume que estos metabolitos no son esenciales para su desarrollo.

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

1. Farmacocinética: la cual abarca desde la absorción, distribución y eliminación de un agente y que este a su vez tendrá que biotransformarse y excretarse.
2. Farmacodinamia: el agente en su paso por el organismo genera mecanismos de acción de un fármaco o toxina, incluyendo la acción y cambios bioquímicos a nivel celular así como el efecto y sus consecuencias marcados en los órganos blancos.<sup>108</sup>

Existen tres vías de entrada al organismo en un segundo lugar de importancia, está el pulmón seguido por la piel, dado que las aflatoxinas son compuestos liposolubles y por esta característica es más fácil su absorción.

Hay que tomar en cuenta dado que *Aspergillus* es uno de los principales hongos contaminantes de los granos y estos son el principal sustento del sector pecuario es por hecho que la vía de entrada primaria al organismo sea vía digestiva, la absorción que sufre la aflatoxina en el lumen puede ser total o parcial y esto depende de la especie animal que esté involucrada aunque se sabe que a nivel intestinal la absorción se da por difusión pasiva y además dependiente de la composición lipídica que exista sobre el epitelio intestinal, posteriormente llega al torrente sanguíneo y de allí parte hacia los diferentes órganos blanco además de llegar a los depósitos de grasa, pero el mayor acumulo ocurre en los órganos involucrados con la biotransformación y eliminación de los desechos alimenticios como son por excelencia el hígado y el riñón.<sup>49</sup>

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

Otra de las vías de transformación de la aflatoxina es por medio de una epoxidación de la toxina, el sub-metabolito resultante es un epóxido conocido como aflatoxina 8, 9 epoxoide, el cual tiene una alta afinidad al DNA celular y promueve la formación de un compuesto denominado aducto ( complejo entre la molécula de DNA y un compuesto químico ajeno a la estructura polinucleotídica de la doble hélice, a través de un enlace covalente, causando distorsiones genéticas), que en las aflatoxinas será 8-9 dihidro-8-(N<sup>7</sup>- guanina) -9 hidroxí-AFB (AFB-N<sup>7</sup> -Gua) el cual va a modificar la secuencia del DNA celular y dando origen a mutaciones y problemas carcinogénicos.

101

Un sub-metabolito más es el aflatoxicol este compuesto es 18 veces menos inofensivo que AFB1, no se origina a partir de enzimas microsomales ya que depende de enzimas del citoplasma celular, si este compuesto sufre una oxidación por medio de

deshidrogenasas revirtiendo su estructura a AFB1, dado este proceso se considera como un reservorio de AFB1.<sup>34</sup>

La presencia de aductos AFB1- albúmina en sangre, es indicativo de que la toxina fue metabolizada hasta epóxido, ya sea en el lumen del intestino, en la pared de este o en sangre y su presencia es usada como biomarcador de exposición a AFB1.<sup>2</sup>

Desde el punto de vista bioquímico las aflatoxinas son consideradas como inhibidores biosintéticos y en el caso de la AFB1 se ha encontrado que su actividad biológica tiene varias fases en el huésped:<sup>18</sup>

1. Interacción con el DNA e inhibición de las polimerasas responsables de la síntesis tanto de DNA como RNA.
2. Supresión de la síntesis del DNA.
3. Reducción de la síntesis del RNA e inhibición del RNA mensajero.
4. Alteraciones en la morfología del nucléolo.
5. Reducción de la síntesis de proteínas.

Bioquímicamente las aflatoxinas pueden alterar el metabolismo de carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, así como el metabolismo energético.

Las aflatoxinas pueden ser consideradas como inhibidores biosintéticos tanto *in Vitro* como *in vivo*. Altas dosis pueden provocar una inhibición total de los sistemas bioquímicos y dosis bajas pueden afectar diferentes sistemas metabólicos.<sup>28</sup>

El metabolismo de los carbohidratos también se ve afectado, inhibe la síntesis de glicógeno a través de la acción sobre las enzimas glicógeno sintetasa y transglicosilasa. Otro de los problemas que ocasionan las aflatoxinas es el de incrementar el nivel citosólico del NADPH necesario para la síntesis de ácidos grasos, por lo que se produce una acumulación de lípidos en el hígado.<sup>8</sup>

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

- ✓ Intercalamiento de la toxina en la estructura helicoidal del DNA. <sup>55</sup>
- ✓ Oxidación de los carbonos no saturados (C<sub>8</sub> y C<sub>9</sub>) de la parte terminal furano de la molécula de AFB1 por el sistema microsomal de oxidasas de función mixta (organización compleja de enzimas de las células hepáticas NADPH dependientes, unidas al citocromo P-450) para formar un intermediario. <sup>65</sup>
- ✓ El ataque del C<sub>8</sub> de AFB1 sobre el N<sub>7</sub> de la guanina y la formación de una ligadura covalente en la interacción AFB1- N<sub>7</sub>- guanina. El daño en la molécula de DNA por esta interacción se manifiesta de varias maneras; el aducto es cortado de la molécula de DNA y se inducen errores en el mensaje o bien, el aducto no es cortado pero convertido en AFB1- formamidopirimidina que también es causante de errores en la transcripción. Como consecuencia en el daño del DNA se origina la mutagénesis y carcinogénesis y si se trata de un feto se presenta la teratogénesis. <sup>65</sup>
- ✓ Para ser eliminadas las aflatoxinas de manera general una vez que se hidroxilan, epoxidan o se O-demetilan se conjugan con ácido glutatión para posteriormente ser eliminadas por bilis y desecharse por vía digestiva o poder llegar a sangre y posteriormente a riñón para así excretarse en orina. Respecto al efecto residual, se tienen evidencias de que la AFB1 se elimine a través del huevo o leche. <sup>65</sup>

### **Interacciones micotoxinas-nutrientes en la digestión.**

En primer término, los efectos de las interacciones aflatoxinas-nutrientes han mostrado un deterioro de la digestión, acompañado de disminución de la actividad de las enzimas digestivas, lo cual ha constituido el eje de convergencia para tratar de explicar las interacciones micotoxinas-nutrientes que se producen en el proceso de digestión de los alimentos.

En este sentido, las interacciones micotoxinas-lípidos de la dieta son las responsables de ocasionar las principales manifestaciones de desorden digestivo que resultan como una consecuencia del efecto inhibitorio que tienen muchas micotoxinas sobre las enzimas digestivas a consecuencia de sus efectos adversos sobre la síntesis de proteína.

Estas manifestaciones son producto de la alteración del proceso de digestión de las grasas, lo cual se expresa en un síndrome de mala absorción, donde la presencia de lípidos en heces es la principal evidencia del mismo.<sup>50</sup>

### **Interacciones micotoxinas-lípidos.**

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

### **Interacciones micotoxinas-proteínas.**

Los resultados sobre este aspecto muestran que la acción adversa de las aflatoxinas sobre el crecimiento de las aves y letalidad en otras especies puede ser minimizada por un incremento en el contenido de proteína en la dieta lo que hace pensar que algún tipo de interacción micotoxina-proteína se sucede reduciendo la disponibilidad de las mismas.

Muy poco se conoce de las posibles interacciones micotoxinas-aminoácidos, no obstante se sabe que el efecto adverso se produce sobre la digestión de las proteínas y no así sobre la absorción de los aminoácidos; destacándose un aumento significativo en la velocidad de absorción de metionina en aves afectadas por aflatoxina.

Se conoce que la aflatoxina incrementa los requerimientos de metionina y siendo ésta el principal aminoácido limitante en las aves, es posible que al verse comprometida la digestión de proteínas se produzca un efecto aditivo con la aflatoxina deprimiéndose significativamente la tasa de crecimiento.

### **Interacción micotoxinas-carbohidratos.**

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

### **Interacciones micotoxinas-minerales.**

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

Existen evidencias que indican que la aflatoxina ocasiona la interacción aflatoxina-zinc y aflatoxina-cobre cuyos efectos se manifiestan en una disminución del zinc a nivel hepático y en un incremento del cobre en plasma, requiriéndose estudios profundos sobre la significancia clínica de estas interacciones.<sup>50</sup>

### **Aflatoxicosis aviar.**

Desde los acontecimientos sucedidos en Inglaterra en 1960 se ha desarrollado numerosas investigaciones acerca del efecto de las aflatoxinas tanto en el hombre como en los animales y en estos últimos es muy importante debido a que se ha detectado baja ganancia de peso y de conversión alimenticia por lo tanto se observa desarrollo lento, desordenes respiratorios, intestinales, inmunológicos, sanguíneos y titulares así mismo como infección por agentes oportunistas secundarios incluso muchos de estos pudiendo causar muerte en el individuo o los individuos que tengan contacto con estas toxinas.

Las aflatoxinas se consideran los contaminantes biológicos de los alimentos más extendidos a nivel mundial y está clasificada como uno de los más importantes tóxicos cuya dosis letal es de (DL<sub>50</sub> 1-50mg/kg) para muchas especies animales.



La toxicidad de dicho agente depende de un porcentaje alto del tipo de toxina involucrado así como la dosis y el tiempo de exposición de la misma, además de ser peligrosa ya que se conoce que poseen propiedades cancerígenas, mutagénicas y teratógenas.<sup>81</sup>

### **Efectos biológicos de las aflatoxinas.**

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

La exposición crónica a niveles bajos de aflatoxinas es muy probable que ocurra con mayor facilidad que una exposición aguda. En la literatura, existen evidencias de que una exposición crónica a AFB1 en animales de experimentación, produce cáncer e hipertrofia del hígado.<sup>104, 53, 2</sup>

Un efecto importante es la citotoxicidad, *in vitro* se ha probado la citotoxicidad causadas por las aflatoxinas. En general, los efectos se han estudiado en líneas celulares como células embrionarias de pato, células hepáticas de mono, de riñón, células hepáticas de embrión humano, células epiteliales de mono, etc. También está demostrado que la AFB1 puede afectar el ciclo celular y la mitosis de algunas células, especialmente de los hepatocitos.<sup>8</sup>

Existen diversos efectos siendo uno de los más importantes la inmunosupresión dado por aflatoxinas pueden afectar el sistema inmune celular y humoral, provocando un aumento en la susceptibilidad de los animales hacia enfermedades causadas por bacterias, hongos y parásitos. Además, pueden existir efectos considerados como inmunotóxicos sin observarse patologías clínicas aparentes.<sup>19</sup>

Existe un efecto mutagénico, dentro de los bioensayos empleados para medir mutagenicidad de las aflatoxinas se pueden citar: detección de aberraciones

cromosómicas en linfocitos humanos, en cultivos pulmonares embrionarios humanos, en células de riñón de rata y hámster, en células HeLa, mutaciones en microorganismos como *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Neuspora crassa*, *Salmonella typhimurium*, *Drosophyla melanogaster*, en células T de riñón humano, en cultivo de leucocitos humanos y en la inducción de fagos en bacterias lisógenas.<sup>89</sup>

La carcinogenicidad es otro efecto de las aflatoxinas, el desarrollo de un tumor canceroso se puede dividir en las siguientes etapas: iniciación, promoción y progresión. Además, las lesiones pre-neoplásicas y malignas en humanos están caracterizadas por la expresión de cambios enzimáticos, análogos a los observados en modelos animales con tumores en el colon, estómago, intestino delgado, esófago, cavidad oral, hígado, tejidos pulmonares y mamas.

La capacidad de las distintas aflatoxinas para inducir tumores en especies animales difiere considerablemente, siendo uno de los principales motivos la variabilidad en cuanto a su metabolismo, distribución y excreción, por lo que las cantidades mínimas necesarias para la inducción de cáncer son también dependientes de estas propiedades, sin perder de vista, además la susceptibilidad relativa de cada especie animal.

Los efectos teratogénicos de la AFB1 afectan más a algunas especies más que a otras. Puesto que es un potente inhibidor de la síntesis de proteínas en células eucarióticas, altera la diferenciación celular.

La susceptibilidad a teratógenos varía grandemente durante el curso de gestación, aunque el embrión es más susceptible durante los estadios tempranos de diferenciación morfológica.<sup>91, 31, 11, 65, 74, 40, 22, 65, 89, 69</sup>

### **Dosis para presentación de enfermedad.**

Pollitos de 1 día a 7 semanas de edad a dosis de 0.075 a 0.675 ppm de aflatoxina B1 se observa inhibición del desarrollo con las concentraciones más bajas y muerte con las concentraciones más altas; de 1 a 7 días de vida a dosis de 0.2 a 0.8 ppm inhibición

del desarrollo con las concentraciones más bajas, lesiones hepáticas graves y muertes en concentraciones altas. Pollitos de 1 día a 3 semanas a dosis de 0.5 ppm son causantes de atraso en crecimiento además de presentar hígado graso e hiperplasia del mismo.

Pollitos de 1 día a dosis de 0.25 a 0.5ppm provocan reducción de la ganancia de peso vivo, cambios macroscópicos en hígado y resistencia a la inmunización contra *Pasteurella multocida*. Pollitos de 1 día a 29 días y más 0.2 ppm causan susceptibilidad a la coccidiosis (*Eimeria tenella*) tendientes a muerte por dicha etiología.<sup>35</sup>

Gallinas ponedoras y reproductoras de 6 semanas 0.100ppm de aflatoxina B1 ocasiona cambios en el contenido de calcio y cenizas de la cáscara del huevo. Y hasta 33 semanas 0.610ppm lesiones hepáticas, bajas de puesta y muerte.<sup>35</sup>

### **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.<sup>98</sup>

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.<sup>80</sup>

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 P450, y por lo tanto son más susceptibles a la acción de la AFB1.<sup>38</sup>

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.<sup>98</sup>

## **Lesiones Morfológicas.**

### **Macroscópicas.**

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.<sup>96</sup>

Huff *et al.*, (1986)<sup>44</sup> 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.<sup>99</sup>. Puede encontrarse también edema en la vesícula biliar, menor viscosidad del líquido biliar y ascitis teñida con bilis en los casos más severos.<sup>58</sup>

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

El agrandamiento de los riñones va relacionado a un efecto compensatorio fisiológico por la acción de las aflatoxinas.<sup>96</sup>

Puede presentarse cardiomegalia, con congestión o con excesiva cantidad de líquido pericárdico.<sup>23</sup>

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

Tiende a observarse Esplenomegalia.<sup>57, 99</sup>

Se ha observado una disminución en la dureza de los huesos, en el aparato digestivo hay proventriculosis y molleja por un efecto irritante directo de las toxinas, el páncreas puede estar aumentado de tamaño y edematosos y en el intestino se observa enteritis a nivel del duodeno.<sup>44</sup>

También pueden encontrarse petequias y equimosis que hacen más evidentes los traumatismos externos en los animales afectados, ya que incrementan la fragilidad capilar interfiriendo con muchos componentes de la coagulación, notablemente la protrombina, afectando así las vías extrínseca e intrínseca de la coagulación.<sup>49, 57, 99</sup>

### **Microscópicas.**

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 graso, 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 colágena; estos cambios pueden acompañarse de hepatocitos regenerados en forma nodular (hiperplasia regenerativa nodular)<sup>58, 56</sup> e inflamación por heterófilos y células mononucleares en las zonas portales.<sup>38, 99</sup> 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.<sup>99</sup>

Algunos autores, reportan en pollos alimentados a dosis de 2.5mg 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 semana, cambios progresivos consistentes en tumefacción y vacuolización de los hepatocitos centrolobulillares, necrosis de algunos hepatocitos y ocasionalmente proliferación de ductos biliares, infiltración linfoide 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.<sup>23</sup>

En el riñón se encuentran zonas multifocales de congestión, edema perirrenal, degeneración albuminosa, hidrópica y necrosis en el epitelio de los túbulos renales,<sup>38</sup> lesiones glomerulares membranosas, dilatación de las células de los túmulos contorneados proximales y distales, además que pueden contener pigmentos biliares, hialinos y lípidos, necrosis del epitelio de los túmulos contorneados proximales y distales, con algunos núcleos grandes (megalocitosis) con formas aberrantes o nucleolos muy aparentes y fibrosis intersticial.<sup>58,99</sup>

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

En el bazo, se encuentra una disminución en la cantidad de linfocitos (depleción linfoide), sobre todo en la zona periarteriolar, generalmente sin zonas de inflamación aparentes.<sup>43</sup>

En la Bolsa de Fabricio se observa depleción linfoide en los centros germinativos de los folículos linfoides, siendo las primeras lesiones histopatológicas halladas en la aflatoxicosis.<sup>38</sup>

En el corazón se observa infiltración linfoide entre las fibras musculares.<sup>23</sup>

## 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.

### Proteínas:

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

Smith *et al.*, (1976)<sup>105</sup> menciona que el hígado es considerado como órgano blanco primario para aflatoxinas (AFB), con un consecuente daño sobre la actividad metabólica y capacidad secretora de éste órgano, por lo que la hipoproteinemia es debida a una reducción de la síntesis proteica y una mayor fragilidad capilar, lo que permite la fuga de proteínas al intersticio.<sup>105</sup>

El efecto más notable hallado al estudiar animales que han consumido bajas dosis de AFB1 (1.25-2.5mg/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 globulinas  $\alpha$  y  $\gamma$  principalmente.

En algunos trabajos se mencionan que a dosis de 2.5mg de AFB/kg de alimento, del día 1 al 21, causa una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en los niveles de proteína sérica total.<sup>82</sup>

En los estudios de Jindal *et al.*, (1994)<sup>54</sup> y Raju-Devegowda *et al* (2000)<sup>91</sup>, se menciona que a dosis igual o mayores a 300 $\mu$ g de AFB1/kg de alimento, el suero bioquímico se afecta significativamente y la concentración de proteína sérica total, albúmina y colesterol descienden significativamente.<sup>54, 91</sup>

Una consecuencia importante de la hipoproteinemia es la hipocoagulabilidad sanguínea y la presencia de hemorragias espontáneas y cutáneas, sobretudo en la membrana interdigital.<sup>91</sup>

### **Concentración enzimática.**

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, 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.
- 5) Un aumento en la producción de la enzima.<sup>89</sup>

La concentración sérica de Colesterol, Triglicéridos, Calcio, Fósforo, así como la actividad enzimática de la Aspartato Aminotransferasa (AST) y la Alanin Aminotransferasa (ALT), Lactato Dishidrogenasa (LDH) y Glutamil Aminotranspeptida (GGT), se ven afectados al utilizar concentraciones de .5 ppm, 2.5 y 5 ppm de Aflatoxina 1 (AFB1), en el alimento.<sup>89, 23</sup>

La aflatoxicosis crónica puede ser diagnosticada por la determinación de suero bioquímico y alteraciones hematológicas antes de que se hagan evidentes los signos clínicos.<sup>23</sup>

### **Aspartato amino transferasa (AST).**

La aspartato amino transferasa 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.<sup>23, 95, 117</sup>

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.<sup>102</sup>

En general, se consideran como animales anormales, las aves que tengan una AST mayor a 230U/L. Cuando se encuentran lesionados los tejidos blandos, se observa un aumento en la AST, mientras que cuando existe necrosis hepática, se encuentran elevaciones más notables. Los niveles más altos de elevación de la enzima se dan en los cursos agudos y subagudos de lesión hepática y su duración es relativamente corta (de 3 a 4 semanas).<sup>38</sup>

### **Alanin amino transferasa (ALT).**

Esta enzima 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 caballos, vacas, ovinos, cabras o cerdos.<sup>23, 95, 117</sup>

La actividad de la ALT en los diferentes tejidos se da en el pollo en orden decreciente primero en músculo cardiaco, tejido pulmonar y por último en el hígado. No existe una gran actividad de esta enzima en el plasma de pollos normales, por lo que no se considera esta medición como prueba diagnóstica útil para descubrir la enfermedad hepática en las aves.

Ogguz *et al.*, (2000)<sup>82</sup>, reporta que a dosis de 0.1mg de AFB1/kg de alimento llevado a 42 días, hubo un incremento significativo en la concentración sérica tanto de la AST como la ALT, sin embargo, la concentración sérica de ALT no aumento con dosis de 0.05mg de AFB1/kg de alimento.<sup>82</sup>

Da Falla *et al.*, (1994)<sup>23</sup>, administraron 0.5 ppm de AFB1 por 4 semanas, no habiendo diferencia significativa tanto para AST como para la ALT, sin embargo, para que la concentración de éstas tuvieran un aumento significativo fue necesario administrar dosis de AFB1 de 3-6 ppm durante 42 días. El incremento de las enzimas

séricas medidas fue interpretado como una consecuencia de la degeneración de los hepatocitos con una subsecuente salida de las enzimas de éstos.<sup>23</sup>

### **Cambios patológicos:**

Bajo enfermedades hepáticas severas (clamidiosis), las concentraciones se aumentan hasta 44.5 mmol/L, se puede percibir coloración amarillenta (ictericia), en la piel de la cara de algunas aves cuando la concentración excede de 40 mmol/l.<sup>75</sup>

### **Hematocrito.**

En lo que respecta a los cambios en los elementos celulares de la sangre como 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.<sup>105, 44, 49</sup>

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 10mg de AFB1/kg de alimento.<sup>99</sup>

Tung *et al.*, 1987<sup>113</sup>, utilizando dosis graduales de aflatoxinas de 0.625 mg de AFB1/kg de alimento a 2.5 mg de AFB1/kg de alimento, 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; también observaron reducción en factores de coagulación, sobre todo los factores VII, V y el fibrinógeno.<sup>110</sup>

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.

## **Diagnóstico.**

El diagnóstico de la aflatoxicosis es difícil, sin embargo, se puede llegar a el por medio de una historia clínica bien realizada, evaluación de las variables reproductivas, signos clínicos y los hallazgos a la necropsia e histopatología.<sup>88</sup>

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 el HPLC y la cromatografía.<sup>88</sup>

Aunque la norma oficial mexicana menciona que la prueba aceptada es el uso de minicolumnas aprobado por la OAC.

## **Prevención.**

Existen varios factores que favorecen el crecimiento de hongos toxigénicos, como es la concentración de humedad y la presencia de insectos.

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 en condiciones de almacén adecuadas, sin almacenar cantidades

excesivas o ingredientes con alto contenido de humedad; también es recomendable el análisis periódico de materia 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. El mejor método para disminuir la contaminación de granos con micotoxinas, es la adopción de métodos preventivos para el control de hongos, como son *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium graminearum* dentro de muchos otros.<sup>89</sup>

### **Silicatos aluminico sódico cálcico hidratados (HSCAS).**

Los silicatos aluminicos pertenecen al grupo de las arcillas, concretamente al grupo de los Phyllosilicatos y los Tectosilicatos entre los que se encuentra la bentonita, sepiolita, zeolita.

Estos compuestos poseen una estructura tridimensional básica formada por la unión de tetraedros de SiO<sub>4</sub>. Entre estos tetraedros se intercalan otros iones como el aluminio.

Los (HSCAS) a diferencia de los silicatos aluminico naturales poseen una mayor capacidad de adsorción al tratarse de productos más refinados. En su estructura además de iones aluminio se intercalan otros iones como el calcio o el sodio aumentando la distancia entre los iones silicio y mejorando la capacidad de adsorción.

### **Adsorventes o aluminosilicatos.**

Para disminuir y/o controlar la contaminación con micotoxinas de granos y alimentos balanceados, existe una serie de métodos dentro de los cuales encontramos el uso de arcillas, que actúan como secuestradores de micotoxinas.

La función principal es secuestrar las micotoxinas presentes en alimentos preparados con cereales contaminados con hongos, reduciendo el efecto negativo que ejercen éstos metabolitos en los animales, además de actuar como agentes aglutinantes de pellets.

Dentro de los secuestrantes tenemos a las arcillas minerales las cuales han sido probadas para secuestrar a las micotoxinas, pero sólo algunas han tenido éxito, y muy pocas son utilizadas comercialmente. Estas incluyen a las bentonitas, zeolitas y aluminosilicatos.

De los cuales, los aluminosilicatos han sido los más efectivos. Son activados *in vivo* y secuestran (absorben) a las micotoxinas. La superficie molecular de éstos aditivos, cuando son saturados con agua dentro del organismo, atraen la estructura atómica polar funcional de la micotoxina y la atrapan en su superficie.

- ✓ Micotoxinas Polares: del Hongo *Aspergillus* (Aflatoxinas), son hidrofílicas y con enlaces iónicos.
- ✓ Micotoxinas No polares: del Hongo *Fusarium*, Zearalenona, T2, DON, DAS, Fumonisina, son lipofílicas con enlaces Co-valentes.

### **Problemas de productividad y salud animal causados por Micotoxinas.**

#### **Toxinas polares del *Aspergillus*-Aflatoxinas.**

En aves: Reduce la habilidad de soportar el stress inhibiendo el sistema inmunológico.

1. En Ponedoras y Reproductoras causa reducción del tamaño del huevo, cascarón débil y una baja producción.
2. Contaminación de albúmina del huevo con metabolitos de aflatoxinas.
3. En pollos de engorda causa hígado graso, reducción de ganancia de peso, una elevada mortalidad, disminución en los índices productivos.
4. Mal emplume

#### **Toxinas No Polares del hongo *Fusarium*.**

1. La T2 causa lesiones de boca, lengua e intestino, afectando la habilidad para comer, digerir el alimento debidamente.
2. La DON está asociada con disminución de consumo de alimento en ponedoras, reproductoras y pollos de engorda.

3. La Fumonisina causa un débil sistema inmunológico, una disminución a la respuesta de antibióticos y vacunas, aumenta la susceptibilidad del animal a retos con patógenos predominantes en la especie.<sup>37, 102, 29</sup>

Esto aísla a la micotoxina del proceso digestivo y por lo tanto evita su entrada en la circulación. El aluminosilicato de calcio y sodio hidratado (HSCAS) a 0,5% (5 Kg / ton) de la dieta puede disminuir significativamente muchos de los efectos adversos de las aflatoxinas en aves.<sup>20, 75, 63</sup>

Actualmente los secuestrantes a base de arcilla han mejorado gracias al uso de nuevas tecnologías, mejorando la capacidad de absorción y adsorción, en pruebas *in vitro*<sup>25,90</sup>. Tomando en cuenta, que el principal componente de las dietas balanceadas son los granos y que éstos se encuentran comúnmente contaminados con micotoxinas (aflatoxina), nos vemos en la necesidad de evaluar *in vivo*, aquellos secuestrantes de recién innovación tecnológica, y que han demostrado ser efectivos en pruebas *in vitro*, sobre el desempeño productivo de los animales.

Recientemente los mayores esfuerzos se han dirigido a eliminar o reducir el impacto de las micotoxinas en los animales mediante el uso de diferentes productos adsorbentes.<sup>93</sup>

En la actualidad, la utilización de adsorbentes de micotoxinas en el contenido digestivo es el método considerado de elección en la protección de los animales frente al consumo de ingredientes contaminados. Los sustratos más utilizados son los aluminosilicatos (zeolitas naturales, montmorillonitas, clinoptilolita, aluminosilicatos de sodio y calcio hidratados ( HSCAS ), bentonitas naturales), seguidas por el carbón activo o diferentes polímeros especiales.<sup>45</sup>

La eficacia de los adsorbentes de micotoxinas depende principalmente de la estructura química del adsorbente y la toxina. Así muchos de estos adsorbentes tienen capacidad de adsorción para un pequeño grupo de micotoxinas pero no para todas. Por ejemplo el HSCAS tiene la capacidad de reducir los efectos negativos de la AFB, pero no es efectiva frente a las Fusarotoxinas.<sup>84</sup>

La bentonita puede ligar AFB y toxina T-2 pero no actúa sobre ZEN o el nivalenol. Algunos adsorbentes como la colestiramina y polivinilpolipirrolidona tienen capacidad de adhesión de AFB y OTA.

Sin embargo, debemos destacar también el riesgo de que algunos adsorbentes pueden fijar algunos micronutrientes y reducir la biodisponibilidad de algunos minerales y vitaminas.<sup>123</sup>

En consecuencia, la certificación de nuevos adsorbentes de micotoxinas pasa por su evaluación experimental, con especial atención en lo que se refiere a su efectividad y seguridad en animales sensibles, y a la posible interacción con diferentes micronutrientes.

## **ESTUDIOS DE EFICACIA DE LOS HSCAS.**

Desde 1988 existen numerosas publicaciones del uso de los HSCAS como adsorbentes en diferentes especies. Así por ejemplo:

- Kubena LF *et al.*, (1990)<sup>90</sup>, estudian la disminución de las aflatoxicosis mediante el empleo de HSCAS en pollos de engorde y comprueban que la presencia de un 5% de HSCAS respecto al total de la dieta previenen o reducen de forma significativa el efecto tóxico causado por las aflatoxinas (AF).<sup>90</sup>
- Harvey RB *et al.*, (1991)<sup>42</sup>, estudian el efecto de la administración de HSCAS en la dieta sobre la presencia de residuo de AFM1 en leche de vacas y demuestran que se produce una reducción significativa del contenido de AF M1 en leche.<sup>42</sup>
- Beaver RW *et al.*, (1991)<sup>7</sup>, muestran el efecto de los HSCAS sobre la distribución tisular de aflatoxinas en cerdos alimentados con alimentos contaminados. Demuestran que la adición de HSCAS reduce significativamente la cantidad de residuos de aflatoxinas en hígado, riñón y tejido muscular.<sup>7</sup>

## **JUSTIFICACIÓN.**

Se sabe que los cereales utilizados para la alimentación humana y animal están contaminados con micotoxinas (FAO, 1999), y que las micotoxinas más tóxicas son las aflatoxinas, responsables de problemas en la industria avícola.

Por este motivo es importante probar y evaluar constantemente productos absorbentes de micotoxinas. Este trabajo tiene la finalidad de evaluar un producto a base de arcillas, en pollos de engorda expuestos a aflatoxinas presentes en el alimento.



## **HIPOTESIS.**

El uso de arcillas de innovación tecnológica disminuirán el efecto negativo de la presencia de aflatoxinas en la alimentación del pollo de engorda, sobre las variables productivas.

## **OBJETIVOS.**

- Evaluar el efecto protector de un secuestrante a base de arcilla, sobre las variables productivas en la aflatoxicosis aviar, por un período de 28 días.
- Evaluar el efecto protector de un secuestrante a base de arcilla, utilizando análisis bioquímicos en la aflatoxicosis aviar, por un período de 28 días.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

a) **Biológicos:** para la realización de este experimento se utilizaron:

- 40 pollos de engorda de estirpe Ross 308 obtenidos de una casa comercial ubicada en Tepetzotlán, Estado de México (macho y hembra).
- Cepa de *Aspergillus flavus* link productora de aflatoxina de B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, obtenida de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS), de la FES Cuautitlán, UNAM.
- Alimento comercial balanceado de iniciación para pollo de engorda.
- Secuestrante comercial a base de arcillas.

b) **Reactivos:** Kit comercial de marca Wiener lab. Para la determinación en suero de alanin amino transferasa (ALT o TGP), aspartato amino transferasa (AST o TGO), proteínas.

c) **Equipo:** Espectrofotómetro calibrado a 450 nm, balanza electrónica capaz de medir gramos a kilogramos, balanza granataria moderna, que ofrezca valores de precisión de lectura de 0.1 µg a 0.1 mg, Aparato para Baño María capaz de alcanzar temperaturas de 60° C a 100° C, centrifuga con rango de temperatura de -10° C a 40° C y de 250 a 6000 rpm, licuadora comercial, jaulas, bebederos para pollo de engorda indicados para la etapa de iniciación y comederos tipo canaleta de acero inoxidable.

d) **Otros:** tubos de ensaye, frascos de vidrio, gradilla, pipetas de 1 y 5µl, micropipetas 50 y 100µl, matraces.

## Diseño experimental.

Composición de la dieta experimental para pollos de 0 a 28 días de edad.

Ingrediente	Porcentaje
Sorgo (8.5%)	54.79
Pasta de Soya (46%)	36.8
Aceite vegetal	3.8
Ortofosfato	1.7
Calcio carbonatado (3.8%)	1.4
Sal común	0.33
D1-Metionina (99%)	0.33
Bicarbonato de sodio	0.22
Vitaminas y Minerales	0.26
Clorhidrato de colina (60%)	0.1
L-Lisina HCl	0.23
Antioxidantes	0.015
L-Treonina	0.03
	-----
	100

Nutrientos	Análisis calculado
Proteína %	22.00
ME/Kcal/kg	3.024
Lisina %	1.37
Metionina	0.64
Metionina + Cistina %	1.00
Triptofano %	0.27
Treonina %	0.84
Fosfatos disponibles %	0.50
Calcio %	1.00
Sodio %	0.20

Aporte por kg Vit. A, 3,000,000 UI, Vit. D<sub>3</sub> 750,000 UI, Vit. E 6000 UI, Vit. K<sub>3</sub> 1.0g, Riboflavina 4g, B<sub>12</sub> 0.060g, Piridoxina 3.0g, Calcio pantotenico; 13g, Niacina 25g, Biotina 0.063g, Clorhidrato de colina 250g, Selenio 0.2g, Cobalto 0.1g, Yodo 0.3g, Cobre 10g, Zinc 50g, Hierro 100g, Manganeso 100g. Excipiente cbp 1000g.

Se utilizaron 40 pollos de estirpe Ross 308 de engorda de 1 día de edad sin sexar, los cuales fueron divididos aleatoriamente en 4 tratamientos de 10 aves cada uno, con dos repeticiones cada tratamiento. Los cuales fueron:

### Tabla experimental.

Grupo <b>C</b>	0 µg de AFB/kg de alimento + 0 gr de secuestrante /10 kg de alimento
Grupo <b>H</b>	25gr de secuestrante /10 kg de alimento
Grupo <b>AFB</b>	100µg de AFB/kg de alimento
Grupo <b>AFB-H</b>	100µg de AFB/kg de alimento + 25gr de secuestrante /10 kg de alimento

Donde:

- C: Grupo Control
- AFB: Aflatoxina
- AFBH: Aflatoxina+Secuestrante
- H: Secuestrante

El consumo de agua y alimento fue *ad libitum* para cada tratamiento.

Las variables productivas, consumo de alimento, ganancia de peso e índice de conversión fueron obtenidas semanalmente hasta el día 28. Las aves fueron revisadas al menos 2 veces al día.

Al final del periodo experimental (día 28), se seleccionaron al azar 5 aves de cada tratamiento para la obtención de sangre con y sin anticoagulante (EDTA), (5 ml) para su posterior análisis del hematocrito, proteínas séricas y transaminasas. Estas variables sanguíneas fueron analizadas utilizando kit comerciales de marca Wiener lab. para la determinación en suero de alanin amino transferasa (ALT o TGP), aspartato amino transferasa (AST o TGO) y proteínas.

Las aves fueron insensibilizadas por dislocamiento cervical y posteriormente sacrificadas por decapitación (NOM-033-ZOO-1995), para realizar la necropsia y evaluar las alteraciones macroscópicas y pesaje de órganos (hígado, bolsa cloacal y bazo), para obtener el peso relativo (peso en g del órgano x 100 / peso neto del ave)

### 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.

### **Análisis Estadístico.**

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

## **RESULTADOS.**

### **SIGNOLOGÍA:**

Los 40 pollos de engorda se pesaron individualmente al inicio del proyecto experimental (aves de 1 día de edad), siendo colocadas en alguno de los 4 tratamientos. El peso promedio de las aves de cada tratamiento fue de: C (50.66 g), AFB (51.58 g), AFBH (51.51 g) y H (50.03 g) ( $p>0.05$ ).

Donde:

- C: Grupo Control
- AFB: Aflatoxina
- AFBH: Aflatoxina+Secuestrante
- H: Secuestrante

La mortalidad observada en los tratamientos aflatoxina+secuestrante (AFBH) y aflatoxina (AFB) fue de 2.5%. Sin embargo no se puede atribuir la causa de la muerte al efecto de las aflatoxinas, ya que al realizar la inspección y la necropsia de las aves muertas los hallazgos morfológicos revelaron obstrucción intestinal y uratosis.

### **PESOS:**

Al término de la primera semana las aves del grupo AFB tuvieron un peso de 160.31 g, seguidas del grupo C con 159.93 g, cabe señalar que el grupo AFBH fue el que menor peso presentó con 155.11 g, sin embargo no hubo diferencia estadística significativa entre los grupos ( $p>0.05$ ); para el día 14, los grupos C y AFBH presentaron un peso similar con 389.33 g y 389.53 g, el que mayor peso presentó fue el grupo H con un peso de 390.28 g y el grupo de AFB fue el que menor peso obtuvo con 343.08 g, habiendo diferencia estadística significativa con respecto a los demás grupos. ( $p<0.05$ ).  
Tabla 1.

Para el día 21, los grupos C, H y AFBH tuvieron un peso promedio de 703.01 g, 712.41 g y 680.05 g, respectivamente ( $p<0.05$ ), al comparar los pesos con las aves de los grupos AFB si se observa diferencia estadística, ya que esto obtuvieron pesos de

637.2 g y 680.05 g ( $p>0.05$ ), sin embargo no se observa diferencia entre los grupos AFB y AFBH. Tabla 1.

Para el día 28 del experimento el grupo H fue el que mayor peso obtuvo con 844.56 g, mostrando una diferencia estadística significativa con los grupos AFB y AFBH ( $p>0.05$ ); siendo el grupo de AFB el que menor peso obtuvo con un peso de 698.48 g siendo diferente estadísticamente con respecto a los demás grupos ( $p>0.05$ ) Tabla 1.

Tabla 1. Peso promedio semanal por Tratamiento (g)

Tto	Días				
	1	7	14	21	28
<b>C</b>	50.66+/-1.27 <sup>a</sup>	159.93+/-2.54 <sup>a</sup>	389.33+/-3.34 <sup>a</sup>	703.01+/-14.16 <sup>a</sup>	815.28+/-9.93 <sup>ab</sup>
<b>H</b>	50.03+/-1.6 <sup>a</sup>	158.21+/-9.71 <sup>a</sup>	390.28+/-13.92 <sup>a</sup>	712.41+/-24.36 <sup>a</sup>	844.56+/-21.86 <sup>a</sup>
<b>AFB</b>	51.58+/-1.7 <sup>a</sup>	160.31+/-7.84 <sup>a</sup>	343.08+/-7.70 <sup>b</sup>	637.2+/-15.78 <sup>b</sup>	698.48+/-7.43 <sup>c</sup>
<b>AFBH</b>	51.51+/-1.9 <sup>a</sup>	155.11+/-13.47 <sup>a</sup>	389.53+/-9.94 <sup>a</sup>	680.05+/-13.49 <sup>ab</sup>	759.88+/-12.32 <sup>b</sup>

*Control (C); Secuestrante (H); Aflatoxinas (AFB) y Aflatoxinas y secuestrante (AFBH)*  
*Literales diferentes en cada columna, indican diferencia estadística significativa ( $p<0.05$ ) al comparando las medias de cada tratamiento con la prueba de Tukey.*

### CONSUMO DE ALIMENTO:

Desde la primera semana hasta la 4<sup>o</sup> semana se observó diferencia estadística significativa entre los tratamientos.

La primer semana se observa diferencia estadística entre los grupos ( $p<0.05$ ), siendo siempre el de mayor consumo durante el experimento el grupo C con (2000.7 g; 3701.4 g; 4652.5 g; 2441.8 g) y el de menor consumo los grupos con aflatoxinas. Las aves del grupo H mostraron consumos inferiores a las aves del grupo C. Tabla 2.



Tabla 2. Consumo semanal promedio por tratamiento (g).

<b>Semana</b>	1	2	3	4
<b>Tto</b>	<b>g</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>G</b>
<b>C</b>	2000.7+/-0.1 <sup>a</sup>	3701.4+/-0.3 <sup>a</sup>	4652.5+/-0.2 <sup>a</sup>	2441.8+/-0.2 <sup>a</sup>
<b>H</b>	1986+/-0.2 <sup>c</sup>	3542.5+/-0.1 <sup>b</sup>	4614.8+/-0.1 <sup>c</sup>	2439.4+/-0.2 <sup>b</sup>
<b>AFB</b>	1991.6+/-0.1 <sup>b</sup>	3342.9+/-0.1 <sup>d</sup>	4616.4+/-0.1 <sup>b</sup>	2420.3+/-0.3 <sup>c</sup>
<b>AFBH</b>	1939.2+/-0.1 <sup>d</sup>	3410.4+/-0.2 <sup>c</sup>	4614.4+/-0.2 <sup>d</sup>	2338+/-0.1 <sup>d</sup>

*Control (C); Secuestrante (H); Aflatoxinas (AFB) y Aflatoxinas y secuestrante (AFBH)*  
*Literales diferentes en cada columna, indican diferencia estadística significativa (p<0.05). Comparando las medias de cada tratamiento con la prueba de Tukey.*

### ÍNDICE DE CONVERSIÓN:

Como se puede observar en la tabla 3, no hubo diferencia estadística significativa entre los tratamientos, comportándose de la siguiente manera.

Para el día 7 del experimento se observó que el grupo AFBH fue el que mejor índice de conversión presentó con 1.72 g, mientras que los grupos C con 1.84 g; H con 1.8 g y AFB con 1.86 g, se mantuvieron en el mismo índice de conversión. En el día 14 se observó que los grupos C con 1.67 g y AFBH con 1.64 g, fueron los que presentaron un mejor índice de conversión, con respecto al grupo AFB con 2.18 g.

Para el día 21 se sigue observando un menor índice de conversión en el grupo AFB con 1.96 g, sin embargo en los grupos C con 1.7 g; H con 1.58 g y AFBH con 1.6 g, se observa cierta similitud en el índice de conversión.

En el día 28 se mantuvieron los grupos C con 2.26 g, H con 2.3 g y AFBH con 2.32 g, siendo el grupo AFB con 2.52 g, el que tuvo menor índice de conversión a partir del día 14 hasta el final del experimento. Tabla 3.

Tabla 3. Índice promedio de Conversión alimenticias por tratamiento (g).

Dias	7	14	21	28
Tto				
C	1.8+/-0.03 <sup>a</sup>	1.7+/-0.04 <sup>a</sup>	1.7+/-0.07 <sup>a</sup>	2.2+/-0.06 <sup>a</sup>
H	1.8+/-0.05 <sup>a</sup>	1.7+/-0.15 <sup>a</sup>	1.6+/-0.14 <sup>a</sup>	2.3+/-0.06 <sup>a</sup>
AFB	1.8+/-0.11 <sup>a</sup>	2.8+/-0.41 <sup>a</sup>	1.9+/-0.30 <sup>a</sup>	2.5+/-0.08 <sup>a</sup>
AFBH	1.7+/-0.13 <sup>a</sup>	1.6+/-0.11 <sup>a</sup>	1.6+/-0.11 <sup>a</sup>	2.3+/-0.09 <sup>a</sup>

Control (C); Secuestrante (H); Aflatoxinas (AFB) y Aflatoxinas y secuestrante (AFBH)

Literales diferentes en cada columna, indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). Comparando las medias de cada tratamiento con la prueba de Tukey.

### ASPARTATOAMINOTRANSFERASA (AST o TGO):

El muestreo fue hecho al día 28, siendo el grupo AFB con la mayor concentración sérica de TGO=AST con 47 U/I, seguida del grupo AFBH con 37 U/I ( $p > 0.05$ ).

Sin embargo, al comparar el grupo AFB con los resultados con el grupo C que presentó 27 U/I y el grupo H con 26 U/I donde si se observa diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). (Véase Tabla 4).

### ALANIN AMINOTRANSFERASA (ALT o TGP):

Se realizó el mismo procedimiento al día 28 del experimento, la mayor concentración sérica fue para los grupos que estaban libres de alimento contaminado TGP=ALT, el grupo C presentó valores de 5UI y el grupo H con 3.5UI, y las aves que consumieron alimento contaminado con aflatoxinas como es el grupo AFB con 2UI y el grupo AFBH con 2.5UI, no presentaron diferencia estadística significativa entre todos los grupos ( $p < 0.05$ ). (Véase Tabla 4)

Tabla 4. Concentración sérica promedio de Transaminasas (U/I) a 28 días

TRATAMIENTO	AST= TGO	ALT=TGP
C	27+/-0.013 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	5+/-0.006 <sup>a</sup>
H	26+/-0.001 <sup>c</sup>	3.5+/-0.007 <sup>a</sup>
AFB	47+/-0.020 <sup>a</sup>	2+/-0.005 <sup>a</sup>
AFBH	37+/-0.019 <sup>ab</sup>	2.5+/-0.011 <sup>a</sup>

Control (C); Secuestrante (H); Aflatoxinas (AFB) y Aflatoxinas y secuestrante (AFBH)

Literales diferentes en cada columna, indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). Comparando las medias de cada tratamiento con la prueba de Tukey.

### PROTEÍNAS SÉRICAS:

Se realizó la medición al día 28 del experimento, el grupo que mayor concentración de proteínas totales fue el grupo H con 9.514 g/dl con respecto al grupo de aves que consumieron alimento contaminado con AFB que fue el que menor concentración obtuvo con 6.062 g/dl mostrando una diferencia significativa con los grupos restantes ( $p < 0.05$ ). Con respecto a la albúmina no se observó diferencia estadística entre los grupos. Tabla 5.

Tabla 5. Concentración de Proteínas Totales g/dl

Tto	Proteínas totales	Albúmina
C	8.954 <sup>a</sup>	3.772 <sup>a</sup>
H	9.514 <sup>a</sup>	4.024 <sup>a</sup>
AFB	6.062 <sup>b</sup>	4.698 <sup>a</sup>
AFBH	8.686 <sup>a</sup>	4.35 <sup>a</sup>

Control (C); Secuestrante (H); Aflatoxinas (AFB) y Aflatoxinas y secuestrante (AFBH)

Literales diferentes en cada columna, indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). Comparando las medias de cada tratamiento con la prueba de Tukey.

## PESO RELATIVO PROMEDIO DE ÓRGANOS:

Durante el trabajo experimental ningún órgano mostró diferencia estadística significativa lo cual se describe a continuación:

Sin embargo el grupo que presentó un mayor peso relativo del hígado fue el grupo de AFB con 3.02%, seguida del grupo C con 2.78% y AFBH con 2.65% mientras que el menor fue el grupo H con 2.6%, con una diferencia de 0.42% respecto al grupo AFB ( $p < 0.05$ ).

El peso relativo del bazo al final del experimento mostró que el grupo AFB fue el que menor peso relativo presentó con 0.068%, seguidos del grupo H que presentó un peso relativo de 0.092%, mientras que los grupos AFBH y C fueron los que tuvieron un mayor peso relativo de 0.096% ambos grupos, con una diferencia de 0.028% con respecto al grupo AFB ( $p < 0.05$ ).

El mayor peso relativo de la Bolsa de Fabricio lo tuvo el grupo C con 0.208%, seguida del grupo AFBH con 0.202% y el grupo H con 0.192%, mientras que el menor peso relativo de este órgano lo presentó el grupo AFB con 0.164%, con una diferencia de 0.044% con respecto al grupo C, no habiendo diferencia estadística ( $p < 0.05$ ). (Véase Tabla 6).

Tabla 6. Peso relativo promedio de órganos en porcentaje (hígado, bazo y bolsa cloacal).

Tto	Hígado	Bazo	Bolsa Cloacal
C	2.78+/-0.07 <sup>a</sup>	0.09+/-0.005 <sup>a</sup>	0.20+/-0.03 <sup>a</sup>
H	2.6+/-0.08 <sup>a</sup>	0.09+/-0.005 <sup>a</sup>	0.19+/-0.02 <sup>a</sup>
AFB	3.02+/-0.17 <sup>a</sup>	0.06+/-0.003 <sup>a</sup>	0.16+/-0.04 <sup>a</sup>
AFBH	2.65+/-0.19 <sup>a</sup>	0.09+/-0.01 <sup>a</sup>	0.20+/-0.05 <sup>a</sup>

Control (C); Secuestrante (H); Aflatoxinas (AFB) y Aflatoxinas y secuestrante (AFBH)  
Literales diferentes en cada columna, indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). Comparando las medias de cada tratamiento con la prueba de Tukey.

## DISCUSIÓN

### Signología.

La mortalidad que se presentó fue de 2.5% AFBH y AFB respectivamente, siendo la causa para ambos grupos, la retención de saco vitelino.

Para que la mortalidad pueda ser causada por la presencia de aflatoxina, debería haber en el alimento concentraciones muy elevadas o bien tener al menos un tiempo de consumo de más de 15 días, según lo descrito por Stuart (1987).<sup>107</sup>

### Pesos.

Como se observó en los resultados las aves que consumieron AFB fueron las de menor peso. Esto no concuerda con lo descrito por Maurice *et al.*, (1983)<sup>71</sup> quienes utilizaron una concentración similar de aflatoxinas en el alimento (100µg por kg. de alimento) no habiendo descenso en el peso corporal con respecto al grupo C.<sup>71</sup>

Sin embargo, Quezada *et al.*, (2000)<sup>90</sup> en su trabajo acerca de la afección de los parámetros productivos en los pollos de engorda,<sup>90</sup> observaron que a dosis de 200 ppb de aflatoxina en el alimento, hay una disminución notable en el peso de las aves que consumieron alimento contaminado con aflatoxinas y ésta pérdida de peso se manifestó a partir del día 14 del tratamiento y se incrementa la pérdida a los 28 días y ésta pérdida es del 20% con respecto al grupo C, concentraciones semejantes a las de este estudio utilizadas por Saif YM *et al.*,(2003)<sup>99</sup>, Jindal *et al.*,(1994)<sup>54</sup>, Kubena *et al.*, (1988)<sup>62</sup> por un periodo mayor a los 21 si afectan la ganancia de peso y el peso final.<sup>99, 54, 62</sup>

Davidson *et al.*,(1987)<sup>20</sup> reportó que el uso de (0.1% y 0.5% de HSCAS) en las dietas de pollos contaminados con aflatoxinas (20 y 80µg/kg de alimento), concentración similar de HSCAS Y AFB utilizada en este trabajo fue capaz de reducir la biodisponibilidad de la aflatoxina en un experimento que duró 14 días.<sup>20</sup>

Como se observó en este experimento el grupo H tuvo un peso promedio de 390.28g al día 14 del experimento y el grupo AFB un peso promedio de 343.08g

habiendo diferencia estadística significativa., aunque el presente trabajo tuvo una duración de 28 días es notable que la eficiencia de los HSCAS es bastante alta hacia las aflatoxinas ya que al día 28 el grupo H tuvo un peso promedio de 844.56g, mientras que el grupo AFB tuvo un peso promedio de 698.48g.

### **Consumo de alimento.**

Al revisar esta variable productiva, se observa una disminución de los tres grupos con respecto al grupo C al día 14 siendo este descenso mayor para el grupo AFB con un 9.7%, mientras que el AFBH mostró un 7.9% y el grupo H un 4.3%.

Sin embargo, durante los 28 días el grupo AFBH fue el que presentó una mayor disminución con respecto a los otros grupos.

Al comparar los resultados de la presente investigación con otros experimentos que utilizaron alimento con bajos niveles de aflatoxina, se observa que pollos sometidos a dietas contaminadas con esta toxina ( 0.06mg/kg de alimento ) presentaron aflatoxicosis clínica, así mismo un déficit en el consumo de alimento.<sup>105, 42</sup>

Reddy *et al.*, (1984)<sup>96</sup> observaron una reducción en el consumo de alimento en los pollos alimentados con 0.75ppm de aflatoxina durante 28 días.<sup>96</sup>

Ubosi *et al.*, (1985)<sup>114</sup> observaron que las aflatoxinas disminuyen el consumo de alimento a partir del día 14 de edad a una concentración de 1 ppm, mismo efecto reportado en este experimento.<sup>114</sup>

Sin embargo, otros experimentos en los cuales alimentaron a las aves durante 35 días con aflatoxina.

Ogguz *et al.*, (2000)<sup>82</sup> demostró que las aves que consumieron AFB1 a dosis de 0.07mg/kg de alimento no presentaron diferencia significativa, mismo efecto se presentó en pollos que recibieron aflatoxina a dosis de 0.05mg/kg de alimento en la dieta.<sup>82</sup>

Lo observado en el presente experimento demuestra que las aflatoxinas al dañar el hígado, éste no puede transformar y metabolizar los nutrientes que llegan del

intestino para ser utilizados por las células musculares y desarrollar más masa muscular (crecimiento), por ende, se manifiesta en un menor peso de las aves.

Araba y Wyatt (1991)<sup>4</sup> mostraron que cuando se añadió 0.5% de HSCAS en la alimentación para pollos de engorda con dietas contaminadas con (5mg de AFB/kg de alimento) la toxicidad se redujo.<sup>4</sup>

En este experimento se utilizó dosis similares de HSCAS y AFB siendo que durante en los 28 días que duró este experimento, el grupo C fue el que mejores resultados presentó en esta variable seguido del grupo H, AFB y AFBH con valores promedio de 3199.1 g, 3145.6 g, 3092.8 g y 3075.5 g respectivamente, habiendo diferencia estadística significativa. Por lo tanto, 0.5% de HSCAS reduce los efectos de la aflatoxina en el consumo de alimento.

#### **Aspartatoaminotransferasa (AST o TGO).**

En este experimento se observó una mayor concentración de la AST en los grupos alimentados con aflatoxina siendo mayor la concentración en el grupo AFB. El grupo H mostró concentración similar a la del grupo C.

Este efecto está sustentado, ya que la AST está presente en muchas células, sin embargo la mayor concentración de AST en el pollo de engorda se da en músculo cardíaco, hígado y músculo esquelético, y la elevación de dicha enzima se ha relacionado con el daño hepatocelular causado por la aflatoxicosis.<sup>23, 116</sup>

Ogguz *et al.*, (2000)<sup>82</sup>, al utilizar 100 ppb, misma dosis de este experimento, observaron un aumento de dicha enzima para el grupo AFB con 36.84 UI, con respecto al grupo C que fue de 32.5 UI, mientras que en este experimento la elevación en la concentración enzimática para el grupo AFB fue de 47 UI y el grupo C con 27 UI.<sup>82</sup>

Otros estudios con mayores concentraciones de aflatoxinas (2.5-3.5 mg/kg de alimento) reportan disminución de la actividad sérica de la AST y la asocian a la inhibición de la síntesis de proteínas que produce la aflatoxicosis en pollos y por consiguiente una disminución de la AST en el grupo problema, inducida por la alteración de síntesis de proteína que causó la ingestión de AFB1 considerando la naturaleza proteica de las enzimas.<sup>26, 50, 63, 82</sup>

Kubena *et al.*, (1988)<sup>63</sup> ensayó con Novasil HSCAS y dos recién construidos y modificados HSCAS compuestos (HSCAS-2 y HSCAS-3) que mostraron un aumento de la capacidad para enlazar la aflatoxina B1 *in vitro*. Incorporaron estos tres HSCAS en las dietas de pollos (0.5%) con 0, 2.5 y 5mg de aflatoxina/kg alimento durante un estudio de 3 semanas.<sup>63</sup>

En el actual estudio se ocupó una concentración de 100µg de AFB/kg de alimento y 25gr de secuestrante durante 4 semanas.

Kubena *et al.*, (1988)<sup>63</sup> demostró que los HSCAS compuestos, dieron protección para otras variables y HSCAS solo brindó una protección contra los cambios en la actividad de la Aspartatoamino transferasa.<sup>63</sup>

Estos resultados demostraron que los silicatos de tipo sorbentes tienen la capacidad para proteger contra la aflatoxicosis.

Por lo tanto, HSCAS-2 y HSCAS-3, creado en otros sitios de unión, pareciera ser más protectoras que HSCAS.

### **Alaninamino transferasa ( ALT o TGP ).**

En lo que se refiere a la concentración sérica de la ALT se observó un descenso en los tres grupos con respecto al grupo C, pero el grupo AFB fue el que mostró un déficit mayor con 2 UI y 5 UI para el grupo C. Algunos experimentos no reportan diferencia significativa en la actividad sérica en la ALT en pollos sometidos a dietas bajas experimentales (como la de este experimento) de AFB.<sup>9</sup>

La base de este efecto es que en el pollo de engorda la actividad de esta enzima, se da en orden decreciente en el músculo cardiaco, seguido del tejido pulmonar y por último el hígado, sin embargo, no existe gran actividad de ésta enzima en el plasma de los pollos sanos.

Ogguz *et al.*, (2000)<sup>82</sup>, reportan un aumento en la ALT pero éste se dio en pollos alimentados a dosis mayores a este experimento y a una exposición mayor a 28 días (42 días).<sup>82, 106</sup>



## Proteínas séricas.

En el presente estudio se observó un descenso en la concentración de proteína sérica en las aves que consumieron alimento contaminado, al igual que el grupo AFBH, sin embargo, este último no presentó diferencia estadística significativa.

Se ha reportado que en las proteínas séricas son otro parámetro que se ve afectado por el mal funcionamiento hepático, consecuencia de la ingestión de aflatoxinas.

Uno de los efectos más notorios de la exposición de las aves a la AFB, es la disminución de las proteínas séricas. Este resultado concuerda con lo expuesto por varios investigadores <sup>10, 18, 56, 59, 71</sup>.

Es importante señalar que estos autores utilizaron concentraciones de 70µg/kg, como la utilizada en esta investigación que fue de 100 µg/kg de alimento. De los resultados se extrae que la exposición constante a concentraciones subclínicas de AFB1 es capaz de afectar la concentración sérica de proteínas de las aves.

Este estudio es reforzado por Cysewsky *et al.*, (1997)<sup>21</sup>, el cual menciona que el hígado es considerado como órgano blanco primario para aflatoxina con un consecuente daño sobre la actividad metabólica y capacidad secretora de este órgano.

Contrariamente, Carabaño. M.H. (1982)<sup>15</sup>, no consiguió efectos significativos sobre el nivel de proteínas séricas utilizando niveles de inclusión de AFB1 en un rango entre 100 y 300 µg/kg. Sin embargo, advirtió una alteración del perfil proteico reportando cambios para análisis de la proteína fraccionada.

En base a lo observado se propone que la valoración de la concentración de proteínas séricas es un indicador temprano de intoxicación por aflatoxinas y que el uso de HSCAS disminuye este efecto, como lo observado en el grupo AFBH. <sup>60</sup>

Kubena *et al.*(1993) <sup>60</sup>, ensayó con Novasil HSCAS y dos recién construido y modificado HSCAS compuestos (HSCAS-2 y HSCAS-3) que mostraron un aumento de la capacidad para enlazar la aflatoxina B1 *in vitro*. <sup>60</sup>

Kubena *et al.*, (1988) <sup>63</sup> Incorporaron estos tres HSCAS en las dietas de pollos (0.5%) con 0, 2.5 y 5 mg de aflatoxina/kg alimento durante un estudio de 3 semanas. En

este experimento se ocupó una concentración de 100µg de afb/kg de alimento y 25 gr de secuestrante durante 4 semanas demostró que los HSCAS compuestos (HSCAS-2 y HSCAS-3) dieron protección significativa para esta variable mientras que los HSCAS no.<sup>63</sup>

Estos resultados demostraron que los silicatos de tipo sorbentes tienen la capacidad para proteger contra la aflatoxicosis. Por lo tanto, HSCAS-2 y HSCAS-3, creado en otros sitios de unión, pareciera ser más protectoras que HSCAS.

### **Albúmina.**

La hipoproteïnemia es debida a una reducción hepática de la síntesis proteica y a una mayor fragilidad capilar, lo que permite la fuga de proteínas al intersticio. Los hallazgos a nivel serológico, incluyen disminución significativa de proteínas plasmáticas, prealbumina, albúmina, globulinas, lipoproteínas y del factor de coagulación protrombina.

Sin embargo, en esta investigación se observa un efecto contrario a lo descrito anteriormente, ya que el grupo AFB fue el que presentó una mayor concentración de albúmina seguido del AFBH y del H con respecto al grupo C, aunque esta diferencia de concentración no es estadísticamente significativa.

Estos resultados coinciden con lo descrito por Ogguz *et al.*, (2000)<sup>82</sup> los cuales describen este fenómeno, con concentraciones de AFB en alimento de 50 y 100 µg de AFB/kg.<sup>82</sup>

Es decir, que para que haya un descenso significativo en la concentración de albúmina se debe intoxicar a las aves con una concentración mayor a 1mg/kg de alimento, como lo reportado por Quezada *et al* (2000)<sup>90</sup>, Medel, (2008)<sup>75</sup> los cuales utilizaron concentraciones de 2 mg de AFB /kg (2 ppm) y de (1 ppm) de AFB/kg de alimento reportando un descenso del 80 % y del 47.27 % con respecto al grupo C respectivamente.<sup>90, 75</sup>

## **Peso relativo de órganos.**

### **Hígado.**

Así como se demostró en los resultados, los valores del peso relativo del hígado para los diferentes tratamientos no se observó una diferencia estadística entre estos ( $p < 0.05$ ). Estos resultados coinciden con los trabajos realizados por Quezada *et al.*, (2000)<sup>90</sup> los cuales administraron dosis de AFB de 2mg/kg de alimento durante 21 días, observándose un nulo incremento significativo entre los grupos.<sup>90</sup>

Sin embargo, aunque estadísticamente no haya habido diferencia significativa, se observa que el grupo que presentó mayor porcentaje fue el AFB, mientras que los otros presentaron porcentajes similares, esto debido al uso del secuestrante.

Este efecto lo demostró Davidson *et al* (1987)<sup>20</sup>, los cuales utilizaron un secuestrante (HSCAS) a dosis de 0.5% por kg alimento contaminado con aflatoxina y observaron una reducción en los efectos tóxicos y en el peso relativo del hígado.<sup>20</sup>

Huff *et al.*, (1986)<sup>44</sup> demostraron efectos protectores en cambios hepáticos agudos a misma dosis tales como un ligero aumento en el peso relativo, sin ser estadísticamente significativo, mismo efecto reportado en el presente experimento.<sup>44</sup>

Lo anterior no concuerda con otros autores los cuales vieron un incremento en el peso relativo del hígado, debido a que la vía de entrada más lógica de las aflatoxinas es la oral, a través del alimento y estas se difunden por todos los tejidos corporales indicando una rápida absorción pero una lenta eliminación, en primer lugar órganos reproductores seguido del hígado y riñones, por ende estos tienen elevada concentración de aflatoxinas y efectos tóxicos en ellos.<sup>98</sup>

Al ser el hígado el principal órgano blanco, su peso relativo aumenta significativamente aun con dosis bajas de aflatoxinas.<sup>44</sup>

Se ha atribuido el incremento en el peso relativo del hígado a una acumulación de lípidos en este.<sup>96</sup>

Por lo anterior se demuestra que el peso relativo del hígado aumenta en intoxicación por aflatoxinas (sin ser estadísticamente significativo), por lo que, disminuye su funcionalidad del mismo.

Araba y Wyatt (1991), mostraron que cuando HSCAS fue añadido para pollos de engorda a las dietas contaminadas con 5mg de afb/kg de alimento la toxicidad se redujo.<sup>4</sup>

Por lo tanto 0.5 % de HSCAS reduce los efectos de las aflatoxinas en el peso relativo del hígado y lípidos hepáticos en un 37% y 4% respectivamente; valores correspondientes para 1% de HSCAS fue de 80% y 49%.

### **Bazo.**

Al igual que en hígado, no se observó diferencia significativa entre los grupos, sin embargo, el grupo que presentó una ligera disminución fue el grupo AFB, recordando que los otros grupos tenían un secuestrante (HSCAS) o simplemente la ausencia de la micotoxina. El que haya una disminución en el peso relativo en este grupo indica un efecto tóxico en el bazo y por consiguiente una depleción linfoide.<sup>44</sup>

Dicho daño al bazo es generado por la toxicidad que producen las aflatoxinas sobre los linfocitos “B”<sup>99</sup>, además de la disminución de la respuesta mitótica de los linfoblastos que se dan en todos los órganos linfoides impidiendo la formación de linfocitos “B” y “T”<sup>99</sup> y por último una necrosis del parénquima del órgano, produciendo una fibrosis e impidiendo así el paso de la sangre a través del órgano, pero el peso se ve afectado por la necrosis linfoide y la depleción que ocasionan las micotoxinas, por lo tanto generando un menor peso relativo en el bazo del grupo problema.<sup>38, 57</sup>

Ogguz *et al.*, (2000)<sup>82</sup> demostraron incremento en el peso relativo del bazo usando una concentración de AFB de 2 mg/kg de alimento para el grupo con aflatoxinas.<sup>82</sup>

### **Bolsa cloacal.**

No hubo diferencia significativa entre los grupos, pero como en las variables anteriores el grupo afectado fue el AFB mostrando un ligero descenso en el porcentaje, esto como resultado una inmunosupresión y en consecuencia un descenso en el peso relativo.<sup>42, 44, 80</sup>

Ogguz *et al.*, (2000)<sup>82</sup>, Reedy *et al.*,(1984)<sup>96</sup> reportan que a dosis de 2mg de AFB/kg de alimento no hay alteración del peso relativo de la bolsa de Fabricio, como en éste experimento.<sup>82, 96</sup>

Ubosi *et al.*, (1985)<sup>114</sup> demostraron que a dosis menores de aflatoxinas (996 µg/kg de alimento) a una exposición mayor (6 semanas) causó una disminución en el peso relativo de la bolsa de Fabricio.<sup>114</sup>

## CONCLUSIONES.

- La presencia de aflatoxinas en el alimento para pollos de engorda a una concentración de 100 µg/kg de alimento afecta significativamente todas las variables como son el peso, consumo de alimento y el índice de conversión alimenticia.
- Aunque no se observaron cambios morfológicos macroscópicamente, pero con las pruebas bioquímicas realizadas se puede entender que existe alteraciones funcionales en el pollo de engorda.
- El uso de secuestrantes mejorados a base de arcillas (HSCAS) a una concentración de 25 g/0.01 Ton. de alimento, demostró ser muy útil ya que disminuyó el efecto negativo de las aflatoxinas en todas las variables.
- La utilización de estos productos es una excelente opción para toda la industria avícola, ya que evitara grandes pérdidas económicas producidas por las aflatoxinas.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Almodena A. et al. 2001. Hongos y Micotoxinas. Madrid. **Ed. Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria. 1ª Edición.**
2. Alvares et al. 2000. Aduetos-adn-aflatoxina como biomarcadores de exposición de grupos de riesgo de cáncer de hígado. Rev. Cubana Oncol. Vol.19. pp. 35-39.
3. Anderson, R.A. 1983. Detoxification of aflatoxin-contaminated corn. In: Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn. Craftmaster Printers, Inc. Opelika, Alabama, pp. 87-90 EU.
4. Araba, M., Wyatt, R.D., 1991. Effects of sodium bentonite, hydrated sodium calcium aluminosilicate Nova 5.1<sup>TM</sup> and ethacal on aflatoxicosis in broiler chickens. Poult.Sci. 70 (Suppl.1), 6.
5. Asao, T., Buche G., Abbel-Kader, M.M., Chang, S.B., Wick, E.L. and Wogan, G.N. 1963. "Aflatoxins B and G". J.Am. Chem. Soc. 87 pp. 1076-1077.
6. Bata, Arpad and Lasztity, Radomir. 1999. "Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms". Trends in Food Science & Technology, Vol. 10, pp. 223-228.
7. Bennet, et al. 2003. Mycotoxins. Clinical Microbiology Review. Vol. 16.no.3.pp.497-516.
8. Betina V. 1989. Biological aspects of micotoxins. Elsevier. Cap.3pp. 42,50,52,101,433.
9. Bhatnagar, P., Cleveland, T.E. and Cotty, P.J. 1994. "Mycological aspects of aflatoxin formation. Human Health, Veterinary and Agricultural Significance". Eaton, D.L. and Groopman, J.D.(Eds) Academic Press. New York, pp.327-346.
10. Bodine, A.B., and D.R. Mertens. 1983. "Toxicology, metabolism; and physiological affects of aflatoxin in the bovine. In: Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn". Diener, V.L.,R.L. Asquith, and J.W.Dickens (Eds). Alabama Agriculture Experimental station., Auburn University, Alabama. Pp.46-50.
11. Braser. G. et al. 1998. Amaranth grain as substrate for aflatoxin and zearalenone production at different water activity levels. International Journal of Food Microbiology. Vol. 42. Pp. 57-61.

12. Buchi, G. and Rae, I.D. 1969. "The structure and chemistry of the aflatoxin. In: Aflatoxins". Goldblatt, L.A., Ed., Academic Press, New York, p.55.
13. Burke, A.J. 1985. "Chemical contaminants in food: Some analytical considerations". J. Assoc. Off. Anal.Chem. 68(6): 1069-1073.
14. Caballero, J. et al 2001. Niveles críticos de aflatoxina en muestras de maíz para consumo animal en lima metropolitana. Rev. Inv.Vet. Vol. 12.No. 1.
15. Carrillo L. 2002. Orientación Biologica. UNAS. Vol.16 No. 5 pp. 987.
16. Carrillo. L. 2002. Microbiología Agrícola. España.
17. Christensen, L.M., and H. Kaufmann. 1970. The role of storage fungi in the loss of quality. In. Grains Storage. University of Minnesota Press. Minneapolis, Minn. 153p.
18. Clifford et a. 1996. Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell. Nature. Vol.209. pp. 312-315.
19. Coulombe, R.A. 1994. Non hepatic disposition and effects of aflatoxin B1. The toxicology of Aflatoxins. Academic Press. Pp.89-101. EU.
20. Davidson, J.M., Babish, J.G., Delaney, K.A., Taylor, D.R., Phillips, T.D., 1987. Hydrated sodium calcium aluminosilicate decrease the bioavailability of aflatoxin in the chicken. Poult. Sci. 66 (Suppl. 1). 89.
21. Davis, W.D., Dickens, J.W., Freil, R.L., Hamilton, P.B., Shotwell, O.L., Wyllie, J.D., y Fulkerson, J.F. 1980. Protocols for surveys, sampling post-collection, handling and analysis of grain samples involved in mycotoxins problems. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 63: 95-102.
22. Deborah C. 2000. Micotoxicosis. Revista Plan Agropecuario. Enero-Febrero. Pp 45-50.
23. Defalla A; Yabi, A. and Adams, S. 1987. "Experimental aflatoxicosis in hybro-type chicks: secquential changes in growth and serum constituents and histopathological changes". Vet. Hum. Toxicol. 29: 222-225.
24. Diener, U.L., y N.D. Davis. 1966. Aflatoxin production by isolates of *Aspergillus flavus*. Phytopathology. 56: 1390-1393.
25. D' mello J. et al. 1997. Mycotoxins. Animal feed science technology. Vol. 69 . pp. 155-166.
26. Doerr, J.A., 1989. Effect of aluminosilicate on broiler chickens during aflatoxicosis. Poult. Sci. 68 (Suppl. 1), 45.



27. Elizalde-Gonzalez et al. 1998. Stability and determination of aflatoxins by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. Journal of chromatography A. Vol. 828. Pp 439-444.
28. Ellis et al. 1991. Aflatoxins in food: Occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. Food science and nutrition. Vol. 30 pp 403-439.
29. Esqueda, V.W. y Villegas, O.R.H. 1991. "Efecto de la producción de Aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en maíz, sus métodos de degradación y su posible control con lectinas". Rev. Vinculación. 3(20): 44-47
30. FAO/OMS/PNUMA. 1999. Tercera conferencia internacional mixta sobre micotoxinas. Prevención y descontaminación de micotoxinas. Túnez.
31. Ferber, P. et al. 1997. Detection the aflatoxigenic fungi in figs by a PCR reaction. Federal research centre for nutrition. Eengessertr 20 Karlsruhe Germany.
32. Gaggiotti , M. et al. 2001. Conoce las micotoxinas. Infotambo, No. 145 p 60.
33. Gimeno, A. 1981. Curso Teórico Práctico sobre Micotoxinas y Hongos Toxicogénico. Pp. 129-154. Portugal.
34. Gimeno, A. 1999. Residuos de micotoxinas en leche, huevos y tejidos comestibles de aves, cerdos y rumiantes. USA. www.mycotoxin.com
35. Gimeno, A. 2000. Revisión genérica del problema de los hongos y de las micotoxinas en la alimentación animal. España.
36. Gimeno, A. Ligia M.M. 2000. Problemas de micosis y micotoxicosis en pollos. Portugal.
37. Gonzalez. et al. 2001. Analize de micotoxinas no instituto biológico de 1989-1999, Centro de sanidad animal , pp. 15-19 Brasil.
38. Groopman , John D. and Eaton, David L. 1994. "Aflatoxins"<sup>1st</sup> Edition Editorial Elveiser, E.U.A. pp. 250-267.
39. Guthrie, L.D. 1979. "Effects of aflatoxin in corn on production and reproduction in dairy cattle". Journal Dairy Science 62: pp. 134-135.
40. Guo-Jane et al. 1999. Detecting *Aspegillus parasiticus* in cereals by an enzyme linked immunosorbent assay. International Journal of Food Microbiolgy . Vol. 125. Pp. 265-272.
41. Guzmán de Peña D. 2001. Mitos y realidades de las aflatoxinas. Avance y Perspectiva. No. 20 pp 415-418.
42. Hamilton, P.B. Proof of micotoxicosis being a field problem and a simple method for their control. Poult. Sci. 54: 1706-1708. 1982.

43. Hinton, Dennis M., Myers, Michael, J., Raybourne, Richard A., Francke-Carroll, Sabine, Sotomayor, Rene E., Shaddock, Joseph, Warbritton, Alan and Chou, Ming W. 2003. "Immunotoxicology". Toxicology Sciences, Vol. 73, pp. 362-377.
44. Huff, W.E., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Carrier, D.E. and Mollenhaver, H.H. 1986. "Progression of aflatoxicosis in broiler chickens". J. Poultry Science 65, 1981-1988.
45. Huwig, A., Freimund, S., Kappeli, O. y Dutler, H. (2001). Toxicology Letters 122: 179-188 (Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents).
46. Iheukwumere et al. 2003. " Physiological Responses of Broilers Chickens to Quantitative water Restrictions: Haematology and Serum Biochemistry ". International Journal of Poultry Science. Vol. 2 pp. 117-119.
47. Ismail Y. et al. 1997. Aflatoxin in food and feed : Ocurrence, legislación and inactivation by fisical methods sweden food chemistry. Vol. 59. Pp. 57-67. 1997.
48. Jaimez et al. 2000. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorecence detection in food analysis. Journal of Chromatography A. Vol. 882. Pp 1-10.
49. Jaimez et al. 2000. Laboratorio de Higiene e Inspección de alimentos. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Journal of Chromatography A. Vol. 882. Pp. 1-10
50. Jaramillo M. Nutrición – Micotoxicología. EU.
51. Jayashree, T. and Subramanyan , C. 2000. "Oxidative stress as a prerequisite for aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*". Free Radical Biological & Medicine, Vol. 29, No. 10, pp. 981-985.
52. Jelinek, C.F., Pohland, A. E. and Wood, G.E. 1989. Worlwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds. An unupdate. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 72: 223-230.
53. Jia-Sheng et al. 1999. DNA damage by micotoxins. Mutation Research. Vol. 424 pp. 167-181.
54. Jindal, N., Mahipal, S.K., Mahajan, N.K. 1994. "Toxicity of aflatoxin B1 in broilers chickens and its reduction by activated charcoal". Rev. Vet. Science 56, 37-40.
55. Jiujiang et al. 2000. Cloning and characterization of avfA and omtB genes involved in aflatoxin biosynthesis in three *Aspergillus* species. Gene Vol. 248. Pp. 157-167.
56. Jones. Thomas Canyle, Duncan, Ronald and King, Norval W. 1997. "Veterinary Pathology" 6<sup>th</sup> Edition Editorial Lippincott, Williams & Wilkins, E.U.A. pp. 539-541.

57. Jordan, E.T.W. and Pattison, M. 2002. "Poultry Diseases". 5<sup>th</sup> Edition W.B. Saunders, E.U.A. pp. 394-395.
58. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmers, N. 1991. "Patología de los animales domésticos". 3<sup>a</sup> Edición Tomo 2 Editorial Hemisferio Sur Mundi-Prensa AEDOS México, pp. 339-340.
59. Keyl, A.C. and A.N. Booth. 1971. "Aflatoxin effects in livestock". Journal of American Oil Chemistry Society 48:599-604.
60. Kubena, L.F., Harvey, R.B., Huff, W.E., Elissalde, M.H., Yersin, A.G., Phillips, T.D., Rottinghaus, G.E. 1993. "Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol". J. Poult. Sci. 72, 51-59.
61. Kubena, L.F., Harvey, R.B., Bailey, R.H., Buckley, S.A. and Rottinghaus, G.E. 1998. "Effects of hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens". Poultry Science 77, pp. 1502-1509.
62. Kubena, L.F., Harvey, R.B., Phillips, F.D., Huff, W.E., 1988. Modulation of aflatoxicosis in growing chickens by dietary addition of a hydrated sodium calcium aluminosilicate. Poult. Sci. 67 (Suppl.1), 106.
63. Kubena, L.F., Harvey, R.B., Phillips, T.D., Clement, B.A., 1993. Effect of hydrated sodium calcium aluminosilicates on aflatoxicosis in broiler chicks. Poult. Sci. 72, 651-657.
64. Kurts, S. 2000. Micotoxinas peligro oculto en los alimentos. Programa regional post-cosecha. Nicaragua.
65. Kusumoto et al, 1998. Transcript of a homolog of aflR, a regulatory gene for aflatoxin synthesis in *Aspergillus parasiticus*, was not detected in *Aspergillus oryzae* strains. FEMS Microbiology Letters. No. 169. Pp. 303-307.
66. Lastra, M.J. 2000. La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000. Dirección general de ganadería o del centro de estadística agropecuaria: <http://www.sagar.gob.mx>
67. Leming et al. 1998. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. Journal of Chromatography A, Vol. 815. Pp. 3-20.
68. Lin et al. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. Journal of Chromatography A, Vol. 815. Pp. 3-20.
69. Lucas, V.E., Aspectos generales de las micotoxinas, Evaluación según el codex alimentarius. CX/AL 02/21.

70. Martins, H.M., Mendes Guerra M.M., d Almeida, Bernardo FM. Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow feed over 10 years in Portugal (1995-2004). *Rev. Iberoam Nicol.* 2007 69-71.
71. Maurice D.V., Bodine A.B., and Rehner M.J. 1983. "Metabolic Effects of Low Aflatoxin B1 Levels on Broiler chicks". *Poultry Science* 45 980-984.
72. Mc. Donald, Mc Gavin, Carlton, William W. and Zachari, James F. 2001. "Thompsons Special Pathology". 3<sup>rd</sup> Edition Editoril Mosby, E.U.A. pp. 110-149.
73. Mc Evoy et al. 2002. Contamination of animal feedings tuffs as a cause of residues in food: a review of regulatory aspects incidence and control. *Analytica Chimica Aeta.* Vol. 473. Pp. 3-26.
74. Mei-Chin. Y. et al. 1999. Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species *International Journal of Food Microbiology* Vol. 49. Pp. 44-56.
75. Medel HG. 2008. "Alteraciones Morfológicas y Bioquímicas en el Pollo de Engorda por Ingestión de Aflatoxinas." (tesis de licenciatura). Cuautitlán (Estado de México). México: UNAM.
76. Michael et al. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *fusarium* and *penicillium* species. Vol. 43. Pp. 141-158.
77. Michael et al. 2000. The use of reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for monitoring aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* 439. *International Journal of Food Microbiology.* Vol. 56 pp . 97-103.
78. Mikhail F. et al. 1998. Quantitation and mapping of aflatoxin B1 induced DNA damage in genomic DNA wing aflatoxin B1-8,9 epoxide and microsomal activation systems. *Mutation Research.* Vol. 425.pp. 205-211.
79. Moreno, M.E. 1996. El maíz y las aflatoxinas en: La industria de la masa y la tortilla: desarrollo y tecnología. Torres, F., Chong, y Quintanilla J. PUAL-UNAM. 139-145.
80. Morilla, G.A. 1986. "Efecto de las micotoxinas sobre los mecanismos de inmunidad de los animales". *AVIRAMAZ*, pp. 19-27.
81. Muller, H.M. 1984. A survey of methods of decontaminating mycotoxins. *Animal Research and Development* Vol. 19 pp. 7-37.
82. Ogguz H, Kurtoglu K, Kurtoglu V, Birdane YO. "Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinopolite exposure". *Res. In Veterinary Science* 2000: 73: 101-103

83. Organización Panamericana de la salud. 1983. Criterios de la salud ambiental. Micotoxinas. Publicación Científica No. 453:69-82.
84. Patterson , R. y Young, L.G. (1993). *Can. J. Animal Sci.* 73:615-624.
85. Peña, D.S. y Durán, M.C. 1990. Efecto toxico de las aflatoxinas en la dieta. *Ciencia y Desarrollo*, 16(94): 61-72.
86. Peña, S 2001. Algunas consideraciones sobre la contaminación por micotoxinas en alimentos agropecuarios en México y en el mundo.
87. Peña. 2002. Algunas consideraciones sobre la contaminación por micotoxinas en alimentos agropecuarios en México y en el mundo. Revisión. México.
88. Peña Betancourt Silvia Denise. 1997. “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.
89. Pier, A.C. Mycotoxins and animal health. *Ad. Vet. Sci. Comp. Med.* 25 186-240 (1981).
90. Quezada, T., Cuéllar, H., Jaramillo-Juárez, F., Valdivia, A.G. and Reyes, J.L. 2000. “Effects of aflatoxin B1 on the livers and kidney of broiler chickens during development”. *Comparative Biochemistry and Physiology part. C* 125, pp. 265-272.
91. 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
92. Ramos, A.J., Fink-Gremmels, J. y Hernández , E. (1996). *J. Food Prot.* 59: 631-641.
93. Ramos A, J. 1997. Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means hydrated sodium calcium aluminosilicated addition to feed stuffs. *Animal feed science and technology*. Vol. 65. Pp. 197-206.
94. Rastogi S, Shukla M, Paul BN, Chowdhuri DK, Khanna SK, Das M. Protective effect of *Ocimum sanctum* on 3-methylcholanthrene 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and aflatoxin B1 induced skin tumorigenesis in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 2007.
95. Rayner, E, T., Koltun, S.P. and Dellear, F.G. 1997. Solvent extraction of aflatoxins from contaminated agricultural products. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 54: 242-244.

96. Reedy, D.N., Raos P.V., Reddy, V.R. and Yadgiri, B. 1984. "Effects of selected levels of dietary aflatoxin on the performance of broiler chicken". *Indian Journal Animal Science* 54. Pp. 68-73.
97. Rivera, J. Micotoxinas de importancia en producción animal. Laboratorio sedicom Vet. Maracay <http://www.sedicomvet.com> vet. EU.
98. Rosiles, R.M. 1997. Consideraciones sobre algunas micotoxinas". *Memorias del 1<sup>er</sup> Curso de Toxicología Veterinaria. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM.*
99. Saif, YM; Barnes, H.J; Glisson, J.R; Fadly, A.M; Mc Douglad L.R; Swayne, D.E. 2003. "Calnek's Diseases of Poultry" 11<sup>th</sup> Edition Iowa State Press, E.U.A. pp. 1109-1113.
100. Salvador Badui. 1999. *Química de los alimentos.* Editorial Pearson Educación. 3<sup>a</sup> Edición.
101. Salvat. 1997. *Diccionario terminológico de ciencias médicas.* Salvat editores. Edición. México.
102. Shane. 2001. *Mycotoxins. problems and solutions.*
103. Shih-ming Tsa Road, Taichung, 1998. Aflatoxin toxic live. Received in revired form 5 January 1999; accepted 6 April 1999.
104. Shrirang et al. 1997. Ascorbic Acid Protects Guinea Pigs from Aflatoxin Toxicity. *Toxicology and applied pharmacology* Vol. 143. Pp. 429-435-
105. Smith, R.B., Griffin, J.M., Hamilton, P.B. Survey of aflatoxicosis in farm animals. *Appl. And Environ. Microbiol.* 31(3): 385-388. 1976.
106. Smith et al. 1994. Dietary hidrataded sodium calcium aluminosilicate reduction of aflatoxins M1 residue in dairy goat milk and effects on milk production and components. *Journal of Animal Science.*Vol. 72.pp. 677-682.
107. Stuart. K. and Mibbolink. B.S: Aflatoxicosis in food animals: a clinical review. *Iowa State University Vet.* 48 28-31 (1987).
108. Sumano. H. 1997. *Farmacología Veterinaria.* Mc Graw Hill Interamericana. Segunda Edición. México.
109. Tanaka et al. 2000. Simultaneous determination of trichothecene mycotoxins and zearalenone in cereals by gas chromatography-mass spectrometry. *Journalof Chromatography A.* Vol.882 pp. 23-28.
110. Thaxton, J.P., Tung, H.T. and Hamilton, P.B. 1974. "Inmunosupresion in chickens by aflatoxin". *Poultry Science* 53, pp. 721-725.

111. Theumer et al. 2002. Immunobiological effects of AFB1 and AFB1/FB1 mixture in experimental subchronic mycotoxicoses in rats *Toxicology*. Vol. 00. Pp 1\_/12.
112. Tsa. et al. 1999. Detecting *Aspergillus parasiticus* in cereals by an enzyme-linked immunosorbent assay. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 50 pp. 181-189.
113. Turner et al. 1999. Fumonisin contamination of food: progress in development of biomarkers to better asses human health risks. *Mutation Research*. Vol. 443 pp. 81-93.
114. Ubosi, C.O., Hamilton, P.B., Dunnington, E.A. and Siegel, P.B. 1985. "Aflatoxin effects in white Leghorn chickens selected for response to sheep erythrocyte antigen. 1, body weight, feed conversion and temperature responses". *Poultry Science* 64, pp. 1065-1070.
115. Unión Nacional de Avicultores 2013 <http://www.elsitioavicola.com/poultrynews/>
116. Velásquez. E. 2000. Estudia control y prevención de micotoxinas en alimentos concentrados para aves y cerdos CENIAP-FONAIAP.
117. Velásquez C. Análisis de micotoxinas aminopolihidratadas. Ed. Servei de publications universitat de Lleiva España, pp. 181-189.
118. Vincelli et al. 1997. Aflatoxin in food an feed: ocurrence an legislation and activation by physical methods ismail food chemistry. Vol. 59 No. 1 pp 57-67.
119. Wang et al. 1999. DNA damage by mycotoxins. *Mutation Research*. Vol. 424 pp. 167-181.
120. Whitaker, T.B., Dickens, J.W., Wiser, E.H., y Monroe, R.J. 1981. Sampling Techniques In. *Food Analysis: Principles and Techniques*, D.W. Gruenwedel y J.R. Whitaker (Eds), Maral Dekker, New York.
121. Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Aflatoxinas humanas en países en desarrollo: revision de toxicología exposición, consecuencias a la salud e intervenciones *AMJ Clin. Nutr.* 2004; 80:1106-22.
122. Woloshuk C.P., Prieto R. 1998. Genetic Organization and fuction to the Aflatoxin B1 biosynthetic genes. *FEMS microbiology letters*. Vol. 160 pp. 169-176.
123. Yiannikouris, A. y Jovany, J.P. (2002). *Anim. Res.* 51: 81-89.
124. Zeringue et al. Efects of volatile aldehydes from *Aspergillus* resistant varieties of corn on *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin biosynthesis. *Toxicon*. Vol. 38 pp. 1215-1223.

125. Zilinskas, R.A. Armas Biológicas Iraquíes. ¿El pasado como futuro? JAMA 1997; 278: 418-424.



## IMAGENES

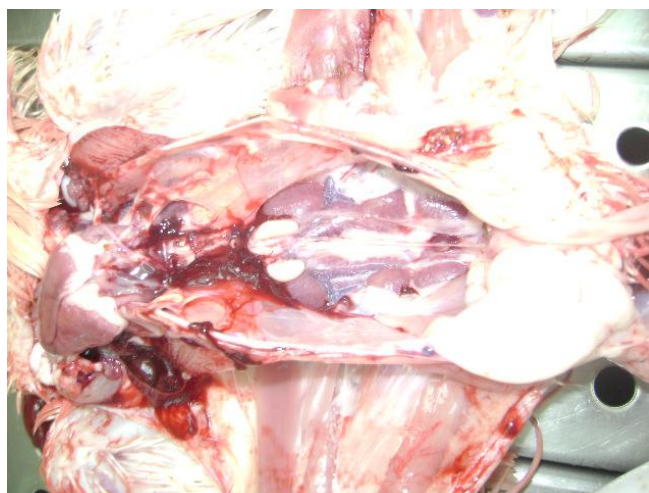
Inicio del experimento



Toma de muestras sanguíneas para las diferentes pruebas de laboratorio.



Necropsia al día 28 del experimento para extraer hígado, riñón, bazo y bolsa de Fabricio.



Macroscópico de hígado, bazo y riñón.

