



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Evaluación del efecto de la inclusión de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* (PCL) y bentonita en la dieta de pollos de engorda que consumen alimento inoculado con aflatoxina B1 y fumonisina B1.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICA VETERINARIA Y ZOOTECNISTA

PRESENTA:

ARANTXA MORALES MENA

ASESOR: M. en C. Juan Omar Hernández Ramírez

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO. 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**



ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Evaluación del efecto de la inclusión de paredes celulares de Saccharomyces cerevisiae (PCL) y bentonita en la dieta de pollos de engorda que consumen alimento inoculado con aflatoxina B1 y fumonisina B1.

Que presenta la pasante: ARANTXA MORALES MENA
Con número de cuenta: 41100096-1 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 04 de septiembre de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Juan Francisco Ortega Sánchez De Tagle	
VOCAL	M.V.Z. Francisco Javier Cervantes Aguilar	
SECRETARIO	M. en C. Juan Omar Hernández Ramírez	
1er. SUPLENTE	M.V.Z. Víctor Manuel Petrone García	
2do. SUPLENTE	M. en C. César Garzón Pérez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

DEDICATORIA.

✚ A mi familia...

Mi Madre quien me ha llenado de amor y fortaleza.

Mi Padre quien me ha enseñado a perseguir mis sueños.

Mis hermanos quienes son un gran ejemplo a seguir.

✚ A mi asesor quien sin conocerme me brido todo su apoyo, confianza y compartió todo su conocimiento.

✚ Al M.V.Z. Joaquín Landaverde por apoyarme durante toda esta etapa de formación y brindarme una gran amistad.

✚ A H.S.M. por todo su apoyo, motivación y presión para terminar este trabajo.

AGRADECIMIENTOS.

- ✚ A la Dra. Ma. Cristina Julia Pérez Reyes, M. en C. Josefina Moreno Lara y a la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) por la donación de una cepa purificada de *Fusarium verticillioides* para la realización de este trabajo de tesis de investigación.

- ✚ Al Dr. Abraham Méndez Albores y al laboratorio 14 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM) por su apoyo durante el desarrollo de este trabajo de tesis.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
1.2 SUMMARY.....	2
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 SITUACIÓN ACTUAL DE LA AVICULTURA EN MÉXICO.....	3
2.2 ALIMENTO.....	7
2.2.1 CONTAMINACIÓN DE ALIMENTO.....	8
2.3 HONGOS.....	9
2.4 MICOTOXINAS.....	11
2.4.1 AFLATOXINAS.....	14
2.4.2 FUMONISINAS.....	19
2.4.3 SINERGISMO AFB1 + FB1.....	22
2.5 PREVENCIÓN.....	23
2.5.1 ALUMINOSILICATOS.....	25
2.5.2 PREBIÓTICOS.....	27
2.6 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	30
2.6.1 PROTEÍNAS TOTALES.....	31
2.6.2 ALBÚMINA.....	31
2.6.3 ENZIMAS HÉPATICAS.....	32
3. JUSTIFICACIÓN	35
4. HIPÓTESIS	36
5. OBJETIVOS	37
5.1 OBJETIVO GENERAL:.....	37
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES:.....	37
6. DISEÑO EXPERIMENTAL	38
7. MATERIALES Y MÉTODOS	40

7.1 MICOTOXINAS.....	40
7.1.1 AFLATOXINA.....	40
7.1.2 FUMONISINA.....	42
7.2 PARED CELULAR DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE.....	44
7.3 BENTONITA.....	45
7.4 ALIMENTO.....	45
8. PRODUCCIÓN EXPERIMENTAL.....	47
8.1 INDICADORES PRODUCTIVOS.....	48
8.2 TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA Y OBTENCIÓN DE SUERO.....	49
8.3 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	49
8.3.1 PROTEÍNAS TOTALES.....	50
8.3.2 ALBÚMINA.....	51
8.3.3 ALANINOAMINOTRANSFERASA (ALT).....	52
8.3.4 GAMMAGLUTAMILTRANSPEPTIDASA (GGT).....	53
8.4 SACRIFICIO, NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRA DE ÓRGANOS.....	54
8.5 EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA.....	54
8.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	55
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
9.1 INDICADORES PRODUCTIVOS.....	56
9.2 PESO RELATIVO DE ÓRGANOS.....	64
9.3 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	67
9.4 HISTOPATOLOGÍA.....	73
10. CONCLUSIONES.....	82
10.1 CONCLUSIONES PARTICULARES.....	82
11. BIBLIOGRAFÍA.....	84
12. ANEXOS.....	89

1. RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la inclusión de paredes celulares de levaduras (PCL) de *Saccharomyces cerevisiae* + bentonita en dietas de aves inoculadas con aflatoxina B1 (AFB1) y fumonisina B1 (FB1), se realizó este estudio con el fin de observar y determinar si esta inclusión logra contrarrestar el efecto ocasionado por ambas micotoxinas basado en los valores obtenidos de indicadores productivos (peso final, consumo final, índice de conversión) bioquímica sanguínea (proteínas totales, albúmina, GGT, ALT) y lesiones histopatológicas de órganos blanco (intestino, hígado, riñón, bolsa cloacal, bazo).

Se emplearon 60 aves línea Ross 308 sin sexar de un día de edad, las cuales se distribuyeron por completo al azar en tres tratamientos con dos repeticiones de 10 aves cada uno, los cuales consistieron en: 1. Testigo; 2. Micotoxinas (200 µg/kg de AFB1 + 1 mg/kg de FB1); 3. Mezcla (200 µg/kg de AFB1 + 1 mg/kg de FB1) + (0.7 kg/T de PCL + 0.3 Kg/T de bentonita). Las aves se alojaron en condiciones de ambiente controlado donde tanto el agua como el alimento fueron administradas *ad libitum*. Semanalmente se midió el peso individual de las aves, el consumo promedio y el índice de conversión por tratamiento.

Para la evaluación de bioquímica sanguínea se tomaron muestras en tubos sin anticoagulante mediante punción intracardiaca al día 28. Después se realizó el sacrificio humanitario, se realizó la necropsia de las aves y se tomó el peso relativo de intestino, hígado y riñones. Se tomaron muestras de intestino, hígado, riñón, bolsa cloacal y bazo para su análisis histopatológico.

Con base en los resultados obtenidos, la adición de 0.7 kg/T de PCL + 0.3 kg/T de bentonita en la dieta de pollos de engorda inoculada con 200 µg/kg de AFB1 + 1 mg/kg de FB1 contrarrestó de modo significativo los efectos tóxicos de ambas micotoxinas mostrando diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) en los indicadores productivos (peso final y consumo), peso relativo de órganos (intestino, hígado y riñón), bioquímica sanguínea (proteínas totales, albúmina y GGT) e histopatología (intestino, hígado, riñón, bolsa cloacal y bazo), donde el tratamiento con micotoxinas presentó el mayor número y severidad de alteraciones.

Palabras Clave: micotoxinas, aflatoxina B1, fumonisina B1, PCL, bentonita, pollos de engorda, indicadores productivos, bioquímica sanguínea, histopatología.

1.2 SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the inclusion of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell wall (YCW) + bentonite in bird's diet inoculated with aflatoxin B1 (AFB1) and fumonisin B1 (FB1), this study was carried out to observe and determine if this inclusion ameliorate the effect caused by both mycotoxins based on the obtained values of productive indicators (final weight, feed intake, conversion rate) serum biochemistry (total proteins, albumin, GGT, ALT) and histopathological lesions of target organs (intestine, liver, kidney, cloacal bursa, spleen).

Sixty sexless Ross 308 birds of one day old were used, which were randomly distributed in three treatments with two replicates of 10 birds each, which consisted in: 1. Control; 2. Mycotoxins (200 µg / kg AFB1 + 1 mg / kg FB1); 3. Mixture (200 µg / kg AFB1 + 1 mg / kg FB1) + (0.7 kg / T PCL + 0.3 kg / T bentonite). The birds were housed under controlled environment conditions where both water and feed were administered *ad libitum*. The individual weight of the birds, feed intake and conversion rate per treatment were measured on a weekly basis.

For serum biochemistry evaluation, samples were taken in tubes without anticoagulant by intracardiac puncture at day 28. After the humanitarian sacrifice, the necropsy of the birds was carried out and the relative weight of intestine, liver and kidneys was taken. Samples of intestine, liver, kidney, cloacal bursa and spleen were taken for histopathological analysis.

Based on the results obtained, the addition of 0.7 kg / T PCL + 0.3 kg / T bentonite in the broiler diet inoculated with 200 µg / kg of AFB1 + 1 mg / kg FB1 significantly ameliorated the toxic effects of both mycotoxins showing significant statistical difference ($P < 0.05$) in the productive indicators (final weight and feed intake), relative weight of organs (intestine, liver and kidney), serum biochemical parameters (total proteins, albumin and GGT) and histopathology Intestine, liver, kidney, cloacal sac and spleen), where the treatment with mycotoxins presented the highest number and severity of alterations.

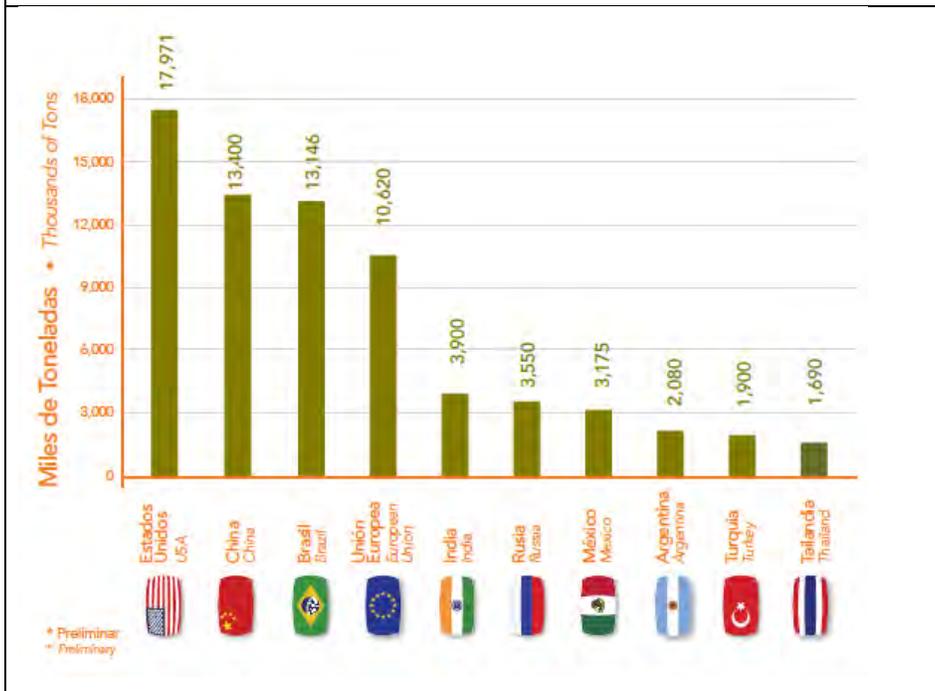
Key words. *mycotoxin, aflatoxin B1, fumonisin B1, YCW, bentonite, broiler chickens, productive indicators, serum biochemistry, histopathology.*

2. INTRODUCCIÓN

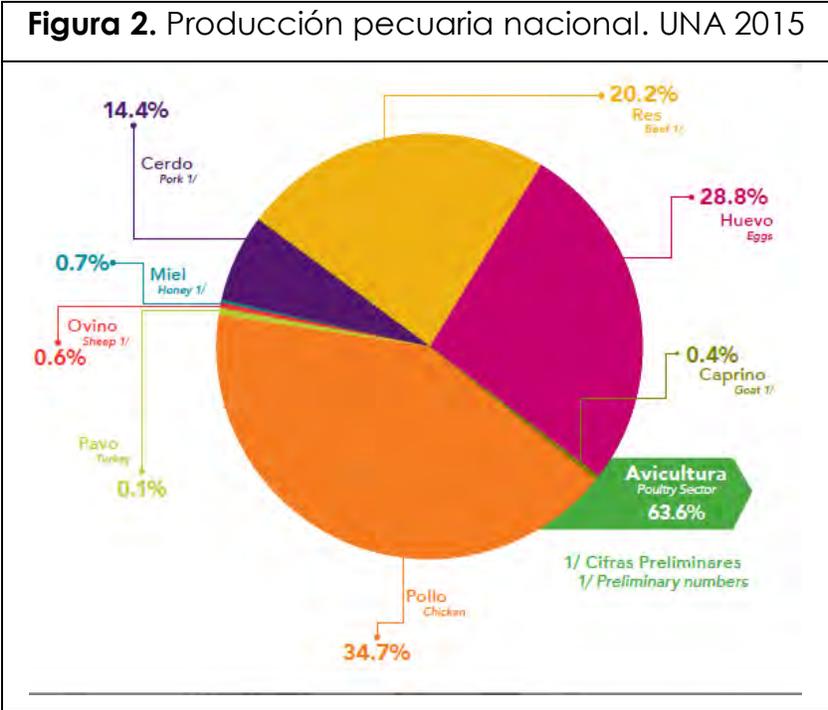
2.1 SITUACIÓN ACTUAL DE LA AVICULTURA EN MÉXICO.

Desde la década de 1960 la industria avícola ha experimentado un crecimiento sostenido de la producción y su consumo. En la actualidad México ocupa el 7º lugar a nivel mundial en producción de pollo de engorda. Figura 1. (1) (2)

Figura 1. Principales países productores de pollo. UNA 2015

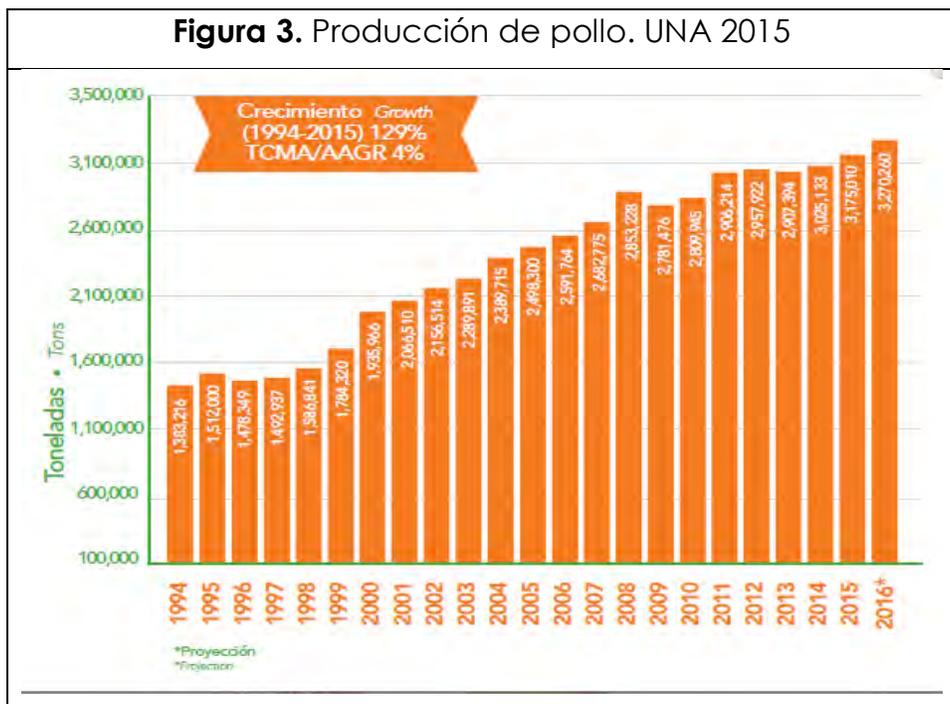


En estos días la industria avícola nacional es uno de los sectores pecuarios más relevantes siendo la principal fuente de proteína animal en México con una aportación de 1% al Producto Interno Bruto (PIB), 19.7% en el PIB agropecuario y 40.9% en el PIB pecuario con un estimado de al menos 63.6% de aportación, de la cual 34.7% fue aportada por el pollo durante el año 2015. Figura 2. (2) (3)



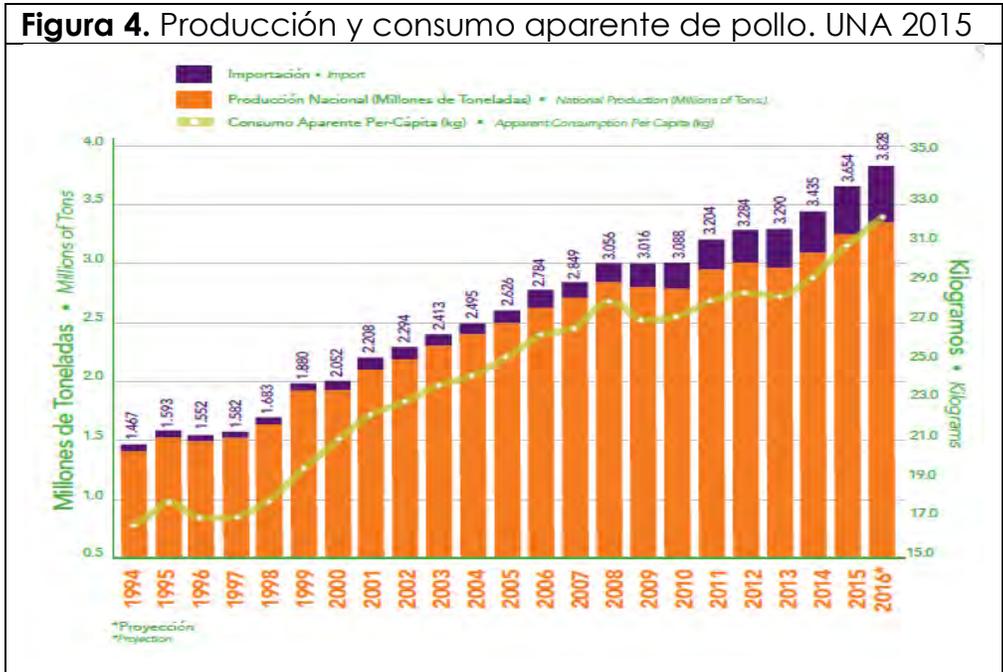
Durante el 2015 esta industria produjo 5 830 244 toneladas de alimento, de las cuales 3 175 010 toneladas corresponden a la producción de pollo, lo que significó un crecimiento de 4% respecto a lo obtenido en 2014, con un valor de 131 mil 200 millones de pesos. Figura 3. (2) (3)

Figura 3. Producción de pollo. UNA 2015



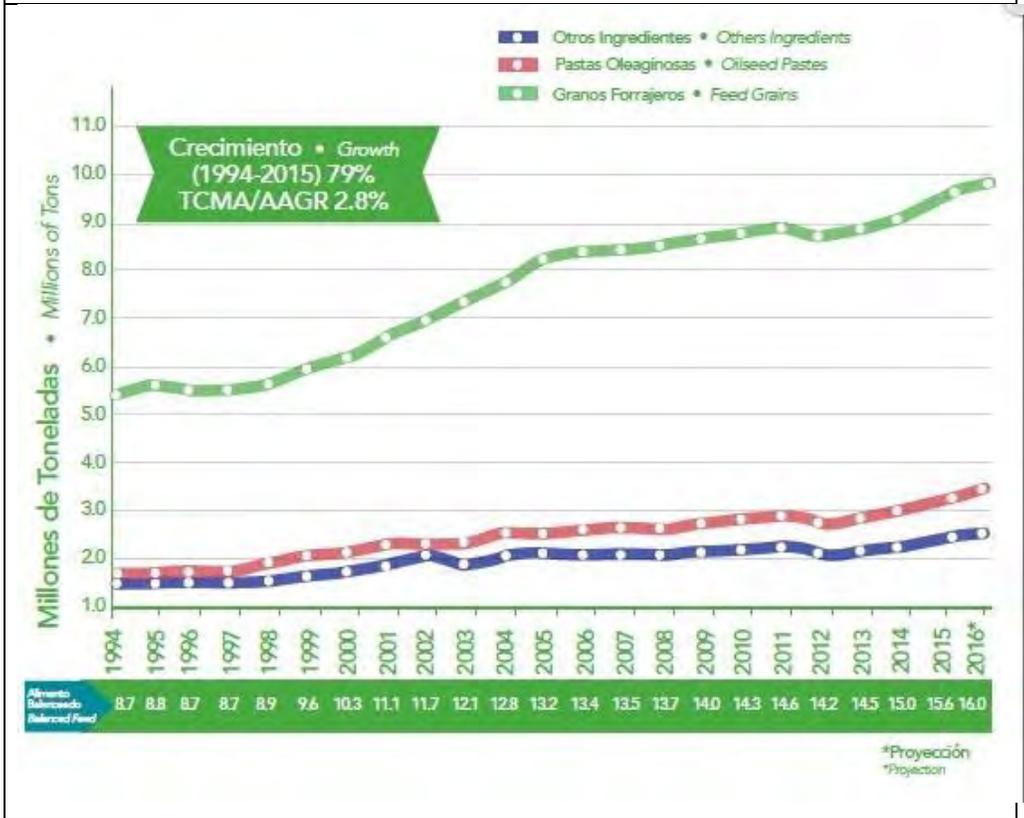
La carne de pollo es considerada una buena fuente de proteína desde el punto de vista tanto de cantidad como de calidad, en promedio 40% de los aminoácidos de la carne de pollo son esenciales presentando un alto valor biológico. Actualmente es una carne muy requerida debido a que es fuente de riboflavina, vitamina A, fósforo, zinc, hierro, potasio y aporta poca carga calórica, ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. Agregándose a estas cualidades una alta digestibilidad, fácil preparación y precio competitivo con otras carnes por lo cual es aconsejada para personas de todas las edades. (1) (3)

México está considerado como el 6º país consumidor de carne de pollo. El consumo supera los 30 kg per cápita y el consumo aparente per cápita de pollo creció a un ritmo de 2.8%. Figura 4. (2) (3)



El sector avícola es el principal demandante de granos de México, el consumo de alimentos balanceados para aves creció a un ritmo anual de 2.7% en el periodo 1994 a 2003. En la actualidad se consumen 14.8 millones de toneladas de alimento balanceado. Figura 5. (2) (3)

Figura 5. Consumo de insumos agrícolas. UNA 2015



2.2 ALIMENTO

Debido a su sistema digestivo las aves son clasificadas como animales monogástricos, lo que implica que poseen una baja capacidad de transformación interna de materias crudas, por lo que se necesitan nutrientes esenciales disponibles para una correcta digestión. La correcta formulación de un alimento balanceado debe tener en

cuenta un adecuado equilibrio entre la edad del ave, la energía y la proteína suministrada. (1)

Las materias primas pasan por un proceso de molienda para facilitar los nutrientes en el aparato digestivo de las aves, posteriormente se pesan y mezclan en las proporciones indicadas para constituirse en un alimento balanceado. Los cereales y oleaginosas constituyen la materia prima principal utilizada en los alimentos balanceados para aves, basándose en maíz, soya, trigo, sorgo, arroz y girasol. (1)

Generalmente los granos sufren el proceso de almacenamiento durante algunos meses antes de su procesamiento o utilización. La temperatura de los granos en el interior de las unidades de almacenamiento, en muchos casos, supera la temperatura recomendada (18 °C), permitiendo un crecimiento fúngico. Esto se debe específicamente a la deficiente aireación de la mayoría de las unidades de almacenamiento, las cuales a veces debido al exceso de granos no son efectivas en el control de los puntos de calor, lo que explica la presencia de hongos toxigénicos y sus micotoxinas como contaminantes habituales de los cereales almacenados. (1)

2.2.1 CONTAMINACIÓN DE ALIMENTO

Aunque existen diferencias geográficas y climáticas en la producción agrícola; el desarrollo de métodos modernos, junto con el procesamiento a gran escala han incrementado la contaminación de los granos de cereales por hongos productores de micotoxinas durante

la siembra, cosecha y posterior almacenamiento. La exposición a estas sustancias constituye un problema a nivel mundial por su alta incidencia y niveles de presencia en los alimentos para consumo animal. (1) (4)

Los hongos tienen gran capacidad de infectar tejidos vegetales vivos, con gran poder de invasión y diseminación; cada producto alimentario es un sistema ecológico especial en el que la interacción de factores químicos, físicos y biológicos tienen un papel fundamental en el deterioro del alimento. En general, con una humedad del 16 a 19% a una temperatura de 25 °C las esporas fúngicas germinan en 15 a 21 días, en cambio con una humedad de 13 a 15% a la misma temperatura las esporas fúngicas tardan en germinar de 4 a 12 semanas. (5)

2.3 HONGOS

Los hongos son organismos eucariotas multicelulares y filamentosos, constituidos por micelios verdaderos, formados por una serie de células alineadas llamadas hifas, carecen de clorofila y pertenecen al reino Fungi. La carencia de clorofila provoca que no sean capaces de sintetizar materia orgánica a partir de la luz solar como fuente de energía, por este motivo deben desarrollarse sobre un sustrato de materia orgánica. (5) (6)

Para su crecimiento, los hongos utilizan una serie de sustancias químicas denominadas metabolitos primarios, como pueden ser ácidos

nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos en su mayoría. El uso de estos metabolitos se asocia con la fase de rápido crecimiento. (6)

Algunos hongos tienen la capacidad genética para producir metabolitos secundarios tóxicos que no son esenciales para el crecimiento, estos se denominan micotoxinas con la consecuente posibilidad de producir micotoxicosis en los animales y humanos que consumen alimento contaminado. (5) (6)

Para el crecimiento de los hongos y producción de micotoxinas existen factores fundamentales que son condicionantes:

BIOLÓGICO: sustrato (grano o planta).

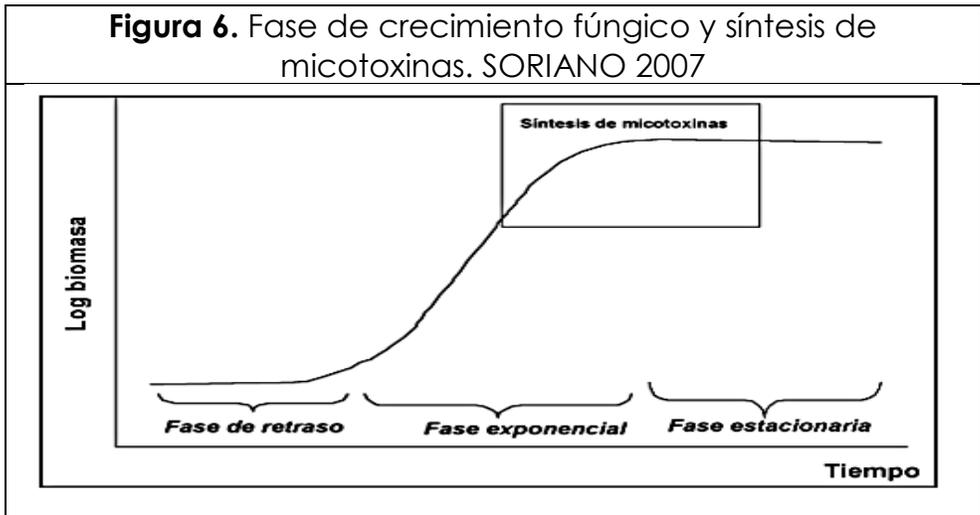
FÍSICOS: actividad de agua (agua libre-humedad), temperatura, integridad física de granos.

QUÍMICOS: pH, composición del sustrato, nutrientes minerales, potencial de óxido-reducción O_2/CO_2 , uso de fungicidas. (5) (7)

Los géneros de hongos de mayor importancia en la producción pecuaria son: *Aspergillus*, *Alternaria*, *Claviceps*, *Fusarium* y *Penicilium*, siendo ubicuas en la naturaleza y, cuando las condiciones son propicias, son capaces de infectar cultivos y plantas forrajeras, tanto en el campo como en su almacenamiento, transporte y procesado. Muchos de estos hongos pueden provocar serios problemas en la salud de los animales y su presencia en productos agrícolas supone graves pérdidas económicas. (8)

2.4 MICOTOXINAS.

Las micotoxinas, que derivan de las palabras griegas *mikes* y *toxina*, que significan hongo y veneno respectivamente, son metabolitos secundarios tóxicos producidos por algunas especies de hongos; se trata de compuestos policetónicos resultantes de las reacciones de condensación cuando en determinadas condiciones físicas, químicas y biológicas se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos. Estos ácidos grasos son metabolitos primarios utilizados por los hongos como fuente de energía. Las micotoxinas se suelen formar al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento de los hongos micotoxigénicos, ya que no son necesarias para el crecimiento de los mismos pero contribuyen al mantenimiento del organismo en su ambiente natural. (Figura 6) Los hongos micotoxigénicos pueden producir uno o más metabolitos secundarios. (5) (6) (7)



Micotoxicosis es el término general que incluye una gran variedad de síndromes clínicos, grupos de enfermedades y trastornos originados en el hombre y los animales, provocados por la ingesta de alimentos contaminados por una o más micotoxinas. La gravedad de la afección variará en función de la concentración de toxina ingerida y de la duración de la exposición a la toxina. (5) (8)

En la actualidad se han identificado más de 200 micotoxinas; sin embargo las que se pueden encontrar de forma frecuente como contaminantes en los alimentos son: aflatoxinas, ocratoxinas, zearalenona, fumonisinas, tricotecenos, citrinina, patulina. (5)

En las aves de producción, los síndromes clínicos de origen tóxico provocados por la ingestión de micotoxinas son variables; desde un cuadro agudo que deriva en la muerte hasta la disminución del rendimiento productivo, modificación de la morfología intestinal, inmunosupresión, deterioro de la función hepática y renal, y en algunas otras especies pueden presentarse efectos neurotóxicos, teratogénicos y mutagénicos. (8) (9)

La ingestión de ciertas micotoxinas a dosis muy inferiores a las que producirían un cuadro clínico de micototoxicosis, anula las funciones del sistema inmunitario y reduce la resistencia a numerosas enfermedades infecciosas, ya que tanto la inmunidad humoral como la celular pueden verse alteradas tras su ingestión. (8)

La inmunosupresión por micotoxinas puede cursar con las siguientes alteraciones:

- Disminución de la producción de anticuerpos frente a una estimulación antigénica y respuesta de hipersensibilidad retardada deficiente.
- Reducción de la capacidad proliferativa de los linfocitos.
- Alteración de la capacidad fagocitaria de los macrófagos.
- Alteración del peso de los órganos linfoides (bazo, timo, bolsa cloacal).
- Cambios histológicos (depleción, degeneración y necrosis linfocitaria).

De igual manera las micotoxinas pueden alterar de manera negativa las funciones de la barrera intestinal, ya que alteran la integridad del epitelio intestinal y eliminan proteínas de unión estrecha, lo que afecta, directa o indirectamente, a la respuesta inmunitaria de las aves, provocando que sean más sensibles a numerosas enfermedades infecciosas. (8)

Para una micotoxina, el nivel necesario para producir un mismo efecto es más bajo en condiciones de campo que en condiciones de laboratorio, esta diferencia se explica por la complejidad de los agentes estresantes de tipo ambiental, social u otros presentes en la producción que no se presentan en un ambiente controlado. Esta diferencia en la dosis mínima efectiva puede deberse, hasta cierto punto, a la exposición del ave a múltiples micotoxinas que interactúan entre sí y

que ejercen un efecto global mayor en comparación con los efectos de una única micotoxina. (8)

La presencia conjunta de varias micotoxinas en el alimento para aves es un aspecto de gran importancia a tener en cuenta en la industria avícola, ya que distintos tipos de micotoxinas pueden contaminar de manera simultánea los ingredientes que componen la ración. Cuando son varias las micotoxinas que contaminan el pienso, la toxicidad y los signos clínicos observados en las aves son complejos y variados. La presencia simultánea de varias micotoxinas permite que interactúen entre sí, produciéndose distintos tipos de asociación que pueden clasificarse en: aditiva, antagónica o sinérgica. (1) (6) (8)

2.4.1 AFLATOXINAS

Las aflatoxinas (AF) son micotoxinas producidas por algunas variedades de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, y pueden encontrarse como contaminantes en los cereales (maíz, trigo, sorgo y arroz), subproductos de cereales y pastas de oleaginosas (algodón, cacahuate, coco, girasol, etc.) (5) (8)

La temperatura mínima de desarrollo del hongo para producir micotoxinas es de 10 a 12 °C, y la temperatura óptima es de 25 °C. La producción de AF depende de varios factores como: la cepa del hongo, el sustrato y la microflora asociada, una vez formada la aflatoxina es relativamente estable al calor, a la molienda y al peletizado, así como a numerosos compuestos químicos. (5) (8)

Las AF son compuestos policíclicos con un anillo furano derivados de la difuranocumarina, por vía de los policétidos y con fluorescencia azul (B-blue) o verde (G- green) frente a luz ultravioleta (UV) de onda larga. (5) (8)

Las AF se denominan con base en su fluorescencia bajo luz UV y su movilidad relativa en cromatografía en capa fina. Existen alrededor de 18 tipos de AF, siendo las más importantes las AF B1, B2, G1, G2; donde las letras se refieren al color de fluorescencia (blue y green), mientras que los subíndices 1 y 2 indican componente mayor y menor. Las AF M1 y M2 son el producto metabólico hidroxilado de las AFB1 y AFB2. Se consideras las AF más tóxicas la AFB1 y la AFM1. Figura 7 y 8. (1) (5) (8)

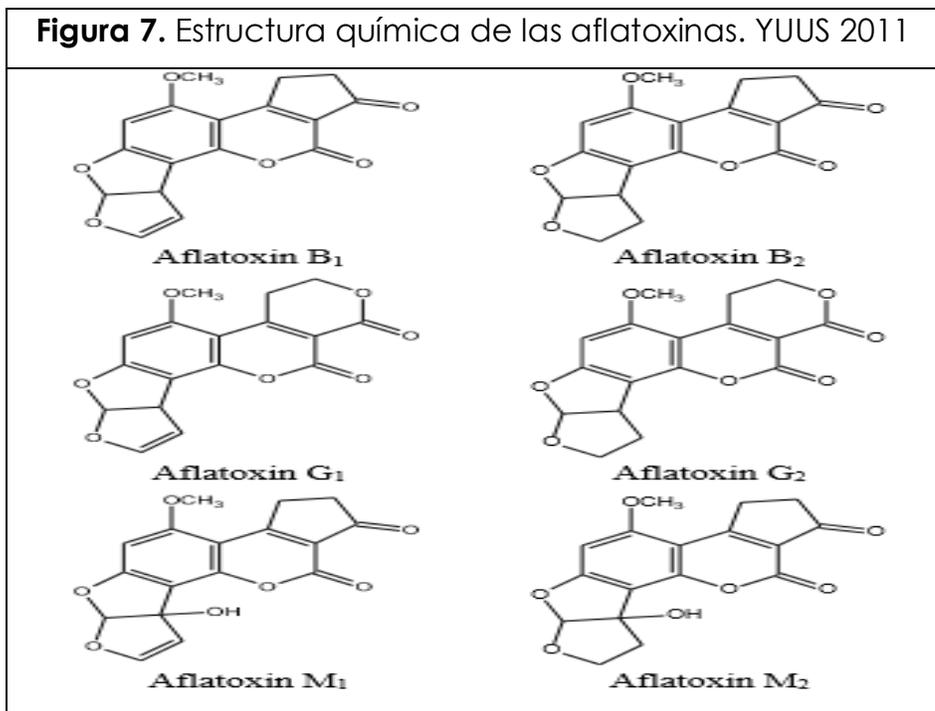
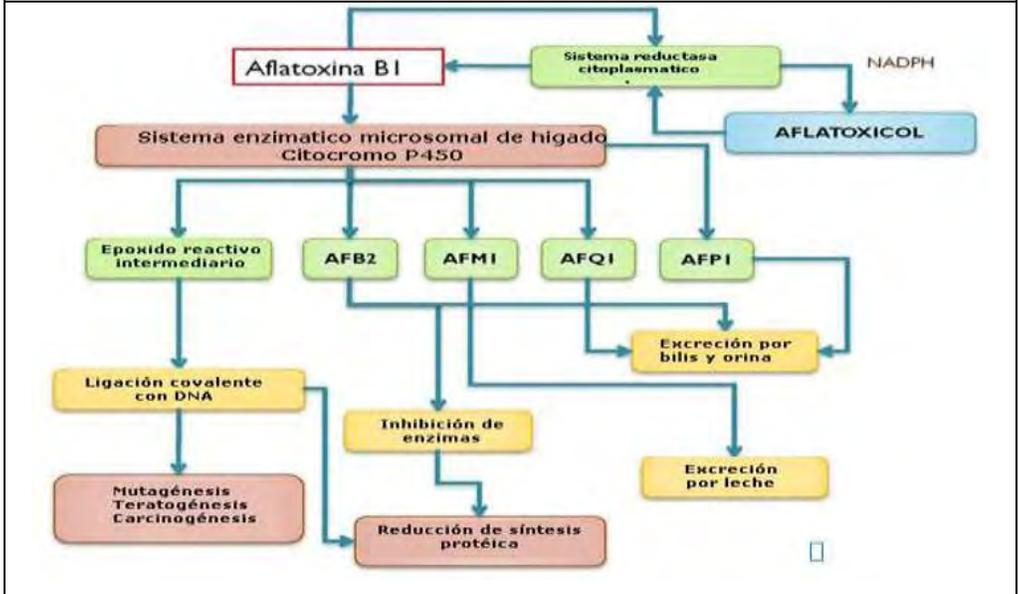


Figura 8. Metabolismo y biotransformación de AFB1. YUNUS

2011



La aflatoxicosis es la enfermedad producida por la ingesta de AF, éstas tienen una gran actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. El principal síndrome que producen es el hepatotóxico, pudiendo también provocar problemas renales; de igual manera las AF son inmunosupresoras ya que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica, interrumpiendo la síntesis de ADN, ARN y proteínas en el ribosoma, de igual manera la absorción de aminoácidos se ve alterada y la retención hepática de éstos aumenta. (5) (8)

Los signos clínicos asociados con la ingesta de aflatoxina en pollos de engorda incluyen: anorexia, retraso del crecimiento, alteración de la utilización metabólica de la ración, excreción de alimento no digerido,

aumento del índice de conversión, incremento de la morbilidad y mortalidad, presentación de problemas en las extremidades, escaso crecimiento de las plumas, pigmentación deficiente, hematomas y cambios en el peso relativo de los órganos; causando así decomisos de las canales.

El hígado, el bazo, el proventrículo, el páncreas y los riñones se observan aumentados de tamaño, mientras que la bolsa cloacal y el timo tienen un tamaño inferior a lo normal. (1) (8) (9) (10)

Las aflatoxinas pueden disminuir las actividades de varias enzimas importantes para la digestión de los almidones, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos tales como: amilasa pancreática, tripsina, lipasas, RNAsas y DNAsas contribuyendo a la malabsorción de nutrientes pudiendo derivar en esteatorrea. (1) (10)

La aflatoxicosis causa en el hígado lesiones macroscópicas que incluyen una decoloración amarillo-ocre pálida, friabilidad, aumento de tamaño con hemorragias multifocales, focos lipídicos y un patrón reticulado en la superficie capsular. (8) (10)

Las alteraciones a nivel microscópico incluyen desorganización de los hepatocitos con vacuolización del citoplasma (degeneración grasa), cariomegalia y núcleos prominentes de los hepatocitos, hiperplasia de conductos biliares y fibrosis, necrosis del parénquima hepático e infiltración leucocitaria, inflamación heterofílica en la zona portal. (8) (9) (10)

Una vez que la molécula de AFB1 ingresa al hepatocito, esta es rápidamente metabolizada y no se acumula en el órgano. (9)

Las lesiones macroscópicas causadas en los riñones incluyen aumento del tamaño, apariencia pálida y se encuentran congestionados. En intoxicaciones severas los riñones se presentan llenos de uratos. Las aflatoxinas reducen el potencial de excreción de los riñones, lo que se relaciona con un marcado adelgazamiento de la membrana de los capilares glomerulares. (8) (9)

Las aves jóvenes son susceptibles a presentar anemia microcítica hipocrómica asociada con una disminución de la absorción y retención de hierro, así como una leucocitosis con linfopenia concurrente; de igual manera pueden presentar disminución de los valores de proteínas totales en suero, lipoproteínas, carotenos, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, calcio, fosforo, hierro, cobre, zinc, y lactato deshidrogenasa. (10)

Los efectos de las aflatoxinas sobre la inmunidad de las aves incluyen inmunosupresión con respuestas mitogénicas reducidas de linfocitos T y B, acompañada de involución o atrofia de la bolsa cloacal, involución del timo y bazo, así como disminución de la producción de inmunoglobulinas, descenso de la inmunidad a nivel de mucosas, baja en la producción de interferón, decremento de la producción de complemento, disminución de la fagocitosis, alteración de la inmunidad humoral y alteración de la inmunidad celular. (8) (10)

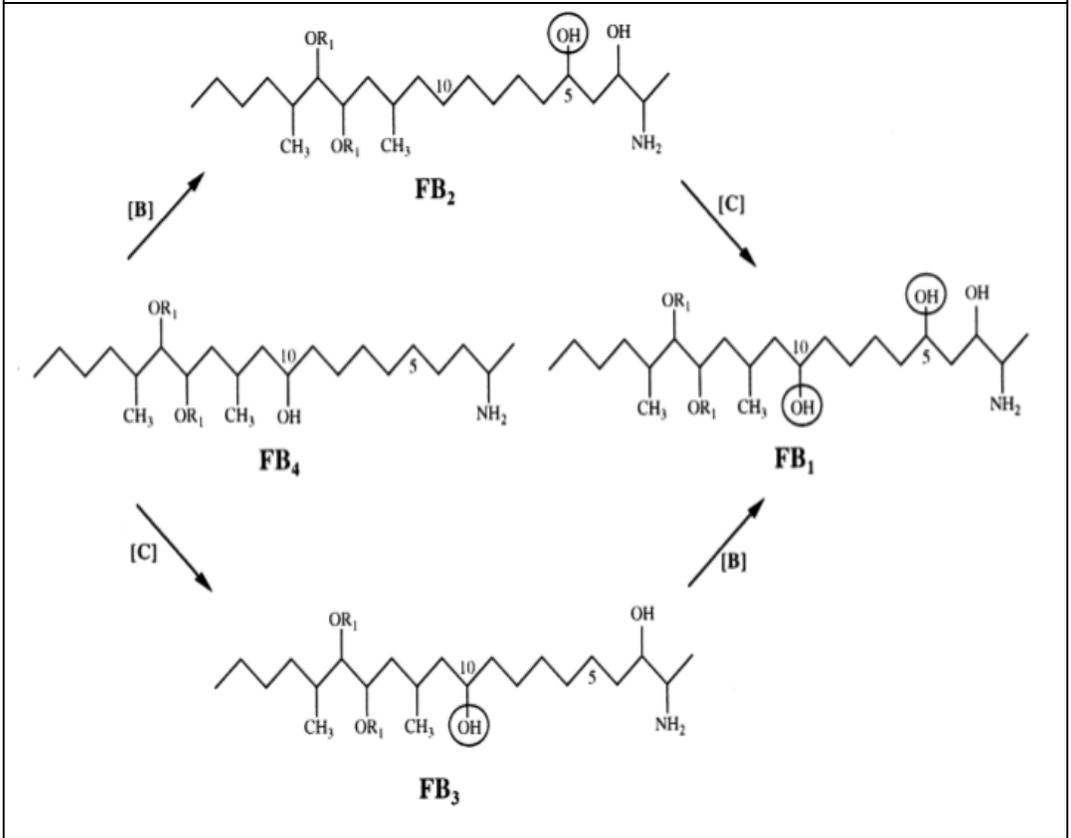
La aflatoxicosis está estrechamente asociada con la alta susceptibilidad de presentar otras enfermedades, como: coccidiosis, enfermedad de Marek, salmonelosis, hepatitis con cuerpos de inclusión y enfermedad de la bolsa cloacal. (9) (10)

Actualmente las empresas productoras de alimentos para aves realizan análisis rutinarios de aflatoxinas sin tener en cuenta otras micotoxinas que pueden presentarse de modo simultáneo, tal es el caso de las fumonisinas que se encuentran en coexistencia llegando a presentar acción sinérgica con la AFB1 y que contribuyen con el deterioro de la salud de los pollos y su producción, por lo que es necesario ampliar los análisis de rutina de micotoxinas en los alimentos. (1)

2.4.2 FUMONISINAS

Las fumonisinas son producidas principalmente por *Fusarium cerevisiae* (*moniliforme*) y existen alrededor de 6 tipos de fumonisinas: B1, B2, B3, B4, A1 y A2; encontrándose con frecuencia como contaminantes las B1, B2 y B3, siendo la fumonisina B1 (FB1) la más tóxica, pudiéndose encontrar como contaminante de los cereales, sobre todo del maíz. Figura 9. (5) (8) (9)

Figura 9. Estructura química de las fumonisinas. SWEENEY 1998 (11)



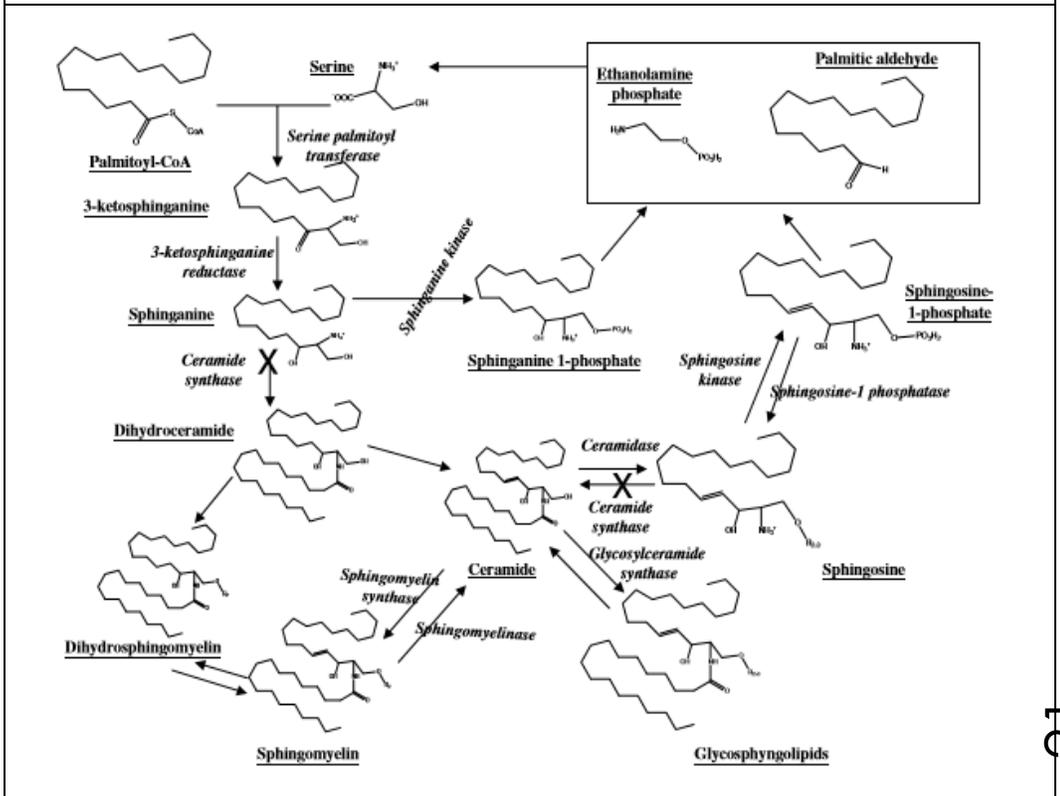
Las fumonisinas poseen la capacidad de inhibir la biosíntesis de los esfingolípidos e interfieren con el metabolismo de la esfingosina y esfinganina, dando lugar a la perturbación en el metabolismo de los esfingolípidos, éstos son constituyentes del hígado y de las lipoproteínas. (1) (5) (8)

Los esfingolípidos tienen una gran importancia en la regulación de las células y en el control de proteínas a nivel de membrana celular, siendo

los mediadores del crecimiento celular y la diferenciación y muerte de células. (5)

Las fumonisinas pueden bloquear la biosíntesis de los esfingolípidos complejos en células eucarióticas. Estos esfingolípidos complejos son la base de formación de mensajeros secundarios que controlan los diferentes procesos entre células en los que se incluyen la activación y desactivación de proteínas específicas y la expresión genética. Figura 10 (5)

Figura 10. Inhibición de esfingolípidos causada por FB1. SORIANO 2005. (12)



Los principales síndromes que produce la FB1 son: neurotóxicos, nefrotóxicos, hepatotóxicos y lesiones cardíacas. (5)

Los signos clínicos asociados con la ingesta de fumonisina B1 en pollos de engorda incluyen: disminución del consumo alimenticio, decremento en la ganancia de peso, parvadas con pesos desiguales, diarrea, enteritis catarral y raquitismo involucrando las zonas de proliferación e hipertrofia del cartílago. (8) (9) (10)

En las lesiones macroscópicas causadas por FB1 se observa un aumento en el tamaño de hígado, riñones, páncreas, proventrículo y molleja; depleción y atrofia de órganos linfoides. (10)

A nivel histológico el hígado puede presentar necrosis multifocal, hiperplasia de los conductos biliares e hipertrofia de las células de Kupffer. El intestino presenta atrofia de las vellosidades e hiperplasia de células caliciformes. (10)

2.4.3 SINERGISMO AFB1 + FB1.

En la actualidad existen diversos informes sobre la contaminación conjunta de micotoxinas; sin embargo, la información sobre toxicidad, estabilidad y grado de incidencia en el caso del efecto combinado de dos o más micotoxinas aún es muy limitada. Esto hace que el proceso para decidir los métodos para su control resulten ser complicados, viéndose reflejado en la economía avícola. (13)

Estudios recientes han demostrado que la exposición simultánea a AFB1 y FB1 puede provocar respuestas diferentes que la exposición a estas toxinas por separado, este resultado puede deberse a una combinación de múltiples factores entre los que se incluyen la interacción química o la potenciación/inhibición de diferentes vías metabólicas, o bien puede que la respuesta general se deba al equilibrio entre diversas reacciones. Por consiguiente diferentes grados de contaminación pueden representar distintas alteraciones para la salud aviar. Si bien se ha observado este comportamiento, aún hay pocos estudios sobre la interacción de estas micotoxinas. (13) (14) (15) (16) (17)

2.5 PREVENCIÓN.

Es esencial prevenir el crecimiento fúngico y la contaminación por aflatoxinas en el alimento, pero cuando la contaminación es inevitable se deben buscar un manejo eficaz de descontaminación o minimizar los efectos tóxicos de las micotoxinas. (7)

La principal estrategia utilizada para regular la presencia de micotoxinas en el alimento es adicionar materiales adsorbentes en los piensos. Los principales grupos de materiales adsorbentes utilizados son: arcillas, carbón activado y extracto de paredes celulares de levaduras. Su elevada área específica y la posibilidad de ocluir las micotoxinas en el interior de estos adsorbentes a través de una suma significativa de

interacciones débiles (Van der Waals y puentes de hidrógeno) apuntan ser las fuerzas determinantes de la captación y retención de estos contaminantes. (18)

Las mayores tasas de neutralización de micotoxinas se presentan en materiales de elevada superficie específica, y con una presencia de baja densidad de carga, que permitan una máxima adsorción de las micotoxinas. Como desventaja, destaca la baja selectividad de los materiales que presentan este perfil. (18)

MÉTODOS QUIMIOPREVENTIVOS

La quimiopreención se basa en el uso de aditivos que, incorporados a las dietas de las aves, previenen la intoxicación mediante la adsorción de las micotoxinas. Estos aditivos no nutritivos se unen de manera estrecha con las sustancias tóxicas en el aparato digestivo de las aves, formando complejos insolubles, estables e irreversibles, que al ser incapaces de cruzar la barrera del intestino y ser excretadas en las heces, reducen de modo apreciable la biodisponibilidad y la toxicidad asociada. Esta alternativa, que constituye una práctica de costo relativamente bajo, resulta fácil de implementar a gran escala, y por lo tanto, permite reducir los problemas ocasionados por las micotoxicosis en las explotaciones pecuarias, así como la introducción de las mismas en la cadena alimentaria. (1) (5)

MÉTODOS BIOLÓGICOS

Con el mismo objetivo, el método biológico se lleva a cabo mediante la utilización de ciertos prebióticos derivados de carbohidratos indigestibles obtenidos de microorganismos que poseen estructuras en su pared celular con capacidad de adherir micotoxinas que no afectan la composición del alimento. (1) (19)

Aunque todavía no existe un consenso sobre cuál es el mejor material adsorbente, la investigación con arcillas y extractos de paredes celulares de levaduras promete ser un campo en continuo avance, lo que también indica que además de la cantidad de adsorbente dosificada, la forma de dosificación y el modo de acción serán ámbitos de interés para la investigación y el avance de las tecnologías de estos adsorbentes. (18)

2.5.1 ALUMINOSILICATOS

Los aluminosilicatos de origen natural o sintético constituyen el grupo de adsorbentes más utilizados para la captación de diversas micotoxinas, teniendo más afinidad en la capacidad de aflatoxinas. Se ha comprobado la eficiencia de diferentes arcillas como las bentonitas (cálcicas o sódicas) y zeolitas, naturales o sintéticas, entre otras. (1)

Estudios *in vitro* e *in vivo* en condiciones de contaminación han permitido establecer que la presencia de fumonisinas puede afectar de manera adversa la capacidad de diferentes aluminosilicatos para secuestrar aflatoxinas. (1)

2.5.1.1 BENTONITA

La bentonita destaca por presentar una mayor selectividad a micotoxinas, respecto a nutrientes esenciales como ácidos grasos, lo que redundaría en mayores posibilidades de dosificación y mayores eficiencias. La sustitución isomórfica de la montmorillonita, el principal componente mineral de la bentonita, y las alteraciones electrostáticas con las cargas de la superficie son las responsables de la modulación de la afinidad por las AFB₁. Este grupo de arcillas laminares se utiliza sobre todo por su eficacia y bajo costo. (1) (18)

La montmorillonita no ofrece una buena cristalización, ya que las capas se unen mediante fuerzas de Van der Waals, lo que permite mayor entrada de agua y cationes entre las capas, facilitando la expansión de red teniendo un área específica muy elevada. (18)

La molécula de AFB₁ es esencialmente plana, excepto por el anillo furano terminal. La importancia de la geometría molecular se demostró como resultado de las afinidades de las arcillas por compuestos análogos a la micotoxina. (1)

Dos oxígenos carbonílicos de AFB1 son los principales promotores de la interacción intralaminar, con los cationes de intercambio (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) en función del grado de hidratación intracelular. Siendo una reacción de adsorción en el entorno hidrofílico/hidrofóbico generado por los cationes interlaminares y su entorno próximo. Otros restos, como los oxígenos de los dihidrofuranos de AFB1, participan mucho menos en el enlace a través de un mecanismo de fisorción, ubicándose de preferencia en la proximidad de los cationes interlaminares. (18)

2.5.2 PREBIÓTICOS

Los prebióticos son sustancias no digeribles que consisten fundamentalmente en polisacáridos y oligosacáridos. Los mecanismos de acción que estos prebióticos pueden ejercer en el tracto digestivo de las aves, incluyen la competición por sitios, competición por sustratos bacterianos y la reducción de compuestos tóxicos. (20) (21)

El uso de sustancias prebióticas representa una alternativa potencial para el control de enfermedades digestivas en avicultura. (21)

2.5.2.1 *SACCHAROMYCES CEREVICIAE*

Saccharomyces cerevisiae es una levadura utilizada en la fermentación de la cerveza y la industria panadera, llevando a cabo este proceso a

partir de la transformación de azúcares a etanol y dióxido de carbono.
(10) (21)

Un tipo de productos derivados de las células de *Saccharomyces cerevisiae*, son los extractos y las paredes celulares de levadura (PCL) obtenidos a partir de la autólisis de la célula completa. En la alimentación animal existe interés por la utilización de fracciones de paredes celulares de levadura en la dieta como fuentes de polisacáridos de tipo β -glucanos y manano-oligosacáridos (MOS). Este tipo de polisacáridos son reconocidos como aditivos naturales capaces de ejercer efectos benéficos en la salud y productividad, como el efecto trófico en la mucosa digestiva, incremento en la altura de las vellosidades y un mayor valor para la proporción altura/profundidad de las criptas de las vellosidades, con criptas menos profundas. (21)

Los glucomananos esterificados obtenidos de su pared celular están en continua investigación por su desarrollo y aplicación en la prevención de intoxicación por micotoxinas. (10)

2.5.2.2 PARED CELULAR DE LEVADURA

La pared celular de levadura de *Saccharomyces cerevisiae* (PCL); representa entre el 20 a 30% de la célula en peso seco y está compuesta de polisacáridos complejos de β -glucanos, mananoproteínas y quitina.
(21) (22)

Los manano-oligosacáridos (MOS) han sido utilizados en la alimentación de las aves basado en los diversos efectos que presentan sobre la salud animal, siendo de tipo nutricional y no nutricional, que van desde la modificación de la digestibilidad de nutrientes, desarrollo de la mucosa digestiva, exclusión de patógenos digestivos, contrarrestar los efectos adversos de las micotoxinas y estimulación de la respuesta inmunitaria. (21) (22)

La pared celular es un organelo que protege a la célula de los ataques enzimáticos, proporcionando principalmente estructura y forma a la célula. Esta se encuentra constituida en su mayoría por polisacáridos en proporción de 58% en β -glucanos, 40% en mananoproteínas y 2% de quitina. La pared celular está compuesta por dos capas de polisacáridos, una capa interna transparente y amorfa constituida por varios espacios formados por la quitina unida a β -glucanos, estos en su mayoría de 1,3- β -glucanos y 1,6- β -glucanos, responsables de mantener la forma y rigidez de la célula, favoreciendo la resistencia a los cambios osmóticos y mecánicos. Las manoproteínas se encuentran ubicadas en la capa externa ancladas a la capa interna de β -glucanos o bien la atraviesan por completo, estas son las responsables de la porosidad de la pared jugando un rol de filtro selectivo y protección contra los ataques químicos y enzimáticos de tipo glucanasa. (21) (22)

Las cadenas poliméricas de 1,6- β -glucano, 1,3- β -glucano y las mananoproteínas, de pequeño tamaño, presentan altas capacidades de retención de micotoxinas debido a efectos secuestrantes de los

polisacáridos, estabilizándose principalmente por las interacciones débiles de puentes de hidrogeno y los grupos hidroxilo de los β -glucanos entre los hidrógenos de las micotoxinas. (18)

Estudios recientes han demostrado que su estructura tridimensional es capaz de llevar a cabo reacciones de adsorción para prevenir micotoxicosis producidas por ingesta en forma individual o combinada de toxinas, efectuando una protección contra aflatoxinas, ocratoxinas y fumonisinas, contrarrestando los efectos adversos sobre la productividad y órganos como el riñón, hígado, bolsa cloacal, timo y bazo de pollos de engorda. (1) (10) (21)

2.6 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

Por su localización entre la circulación esplénica y sistémica, el hígado está expuesto a una gran variedad de toxinas, metabolitos y agentes infecciosos que pueden influenciar la actividad sérica de enzimas en el hígado. (23)

Existen funciones del hígado que deben ser evaluadas, como los valores de la albúmina para determinar la actividad enzimática hepatocelular y los valores séricos de AST, ALT, LDH y GGT para valorar la integridad de los hepatocitos y la de sus membranas. (9)

2.6.1 PROTEÍNAS TOTALES

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

En el plasma, las proteínas contribuyen a mantener el volumen del fluido circulante, transportan sustancias relativamente insolubles y actúan en la inactivación de compuestos tóxicos y en la defensa contra agentes invasores.

La determinación de proteínas totales es útil para el monitoreo de cambios ocasionados por diversos estados de enfermedad. En condiciones patológicas como falla hepática, pérdidas renales o desnutrición. (24) (25)

2.6.2 ALBÚMINA

Esta es la más abundante de las proteínas plasmáticas y se sintetiza exclusivamente en el hígado, la disminución en su concentración sérica puede reflejar daño en el mismo. Entre sus múltiples funciones se pueden mencionar el transporte de una amplia variedad de sustancias como hormonas esteroideas, ácidos grasos, bilirrubina, catecolaminas, que en forma libre son insolubles en medio acuoso; y el mantenimiento de la

presión coloidosmótica, que estaría relacionado con su bajo peso molecular y su gran carga neta. La hipoalbuminemia ocurre en condiciones patológicas tales como pérdida excesiva de proteínas en el síndrome nefrótico, desnutrición, infecciones prolongadas, enfermedades hepáticas y puentes portosistémicos. (23) (24) (26)

La inmunosupresión que induce la aflatoxina es la responsable de una cascada de efectos que se inicia con la alteración de la síntesis proteica, disminuyendo los niveles de albúmina sérica y globulinas. (8)

2.6.3 ENZIMAS HEPÁTICAS

Para realizar la gran cantidad de funciones, el hepatocito produce y emplea una diversidad de enzimas, algunas de ellas específicas, que sólo son producidas por el órgano, y otras inespecíficas, que otros tejidos también las producen. (24)

Las enzimas hepáticas pueden dividirse en dos categorías: enzimas de derrame hepatocelular y enzimas inducidas.

- Las enzimas de derrame hepatocelular son enzimas solubles del citosol que presentan una gran actividad en los hepatocitos, se liberan cuando se produce daño a las membranas de los hepatocitos asociado con necrosis (ALT, AST).
- Las enzimas inducidas están especialmente unidas a la membrana y su aumento en la actividad sérica es consecuencia

de la inducción de la enzima sobre todo por colestasis (ALP, GGT). (27)

Las alteraciones en la actividad sérica de las enzimas hepáticas son un método sensible de evaluación de la enfermedad hepática indicando alteración en la integridad de las membranas celulares de hepatocitos, necrosis de hepatocitos o epitelio biliar. Los cambios en la actividad enzimática suelen detectarse antes de que pueda identificarse la insuficiencia hepática. (23) (27)

2.6.3.1 ALANINO AMINOTRANFERASA (ALT)

La ALT es una enzima del citosol, hepatoespecífica. La destrucción o cambio de permeabilidad de las membranas celulares provoca la liberación de ALT a la circulación sanguínea. Su incremento se asocia con la liberación por aumento en la permeabilidad celular o necrosis de hepatocitos. Durante hepatitis aguda causada por micotoxinas la actividad de ALT suele elevarse y en procesos crónicos su aumento no es elevado pero si más persistente. La determinación de ALT adquiere importancia diagnóstica cuando sus valores se comparan con los de otras enzimas de similar origen tisular, permitiendo así completar el perfil enzimático de órganos como el hígado. (23) (24) (28)

2.6.3.2 GAMAGLUTAMILTRANSFERASA (GGT)

La GGT es una enzima de membrana bastante distribuida en el organismo. Se localiza principalmente en riñón, vesículas seminales, páncreas, hígado, bazo y cerebro. Su actividad es influenciada por cualquier factor que afecte a las membranas celulares de los órganos que la contienen. En el caso de alteraciones hepáticas, la GGT en general es índice de agresión tóxica. Sin embargo, la determinación sólo tiene valor clínico cuando sus valores son comparados con los de otras enzimas de mayor órgano-especificidad. (23) (24) (27) (29)

3. JUSTIFICACIÓN

Con frecuencia los granos presentes en los alimentos balanceados destinados para el consumo aviar se encuentran contaminados con micotoxinas, conociéndose el efecto negativo de éstas sobre la salud aviar y las pérdidas económicas para el productor, además se conoce que la adición de PCL y bentonita como aditivos contrarrestan el efecto de las micotoxinas por separado; por lo tanto se evaluará el uso de PCL + bentonita desafiadas con aflatoxinas B1 y fumonisinas B1 sobre los indicadores productivos, histopatología de órganos blanco y bioquímica sanguínea; ya que no se encuentran trabajos previos que especifiquen la sinergia de estos dos aditivos (PCL+ bentonita) desafiados contra ambas micotoxinas (AFB1 + FB1).

4. HIPÓTESIS

La adición de una mezcla de pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* (PCL 0.7 kg/T) y bentonita (0.3 kg/T) en la dieta destinada para aves de engorda disminuirá los efectos negativos provocados por la inoculación de aflatoxina B1 (200 µg/kg) y fumonisina B1 (1 mg/kg) sobre los indicadores productivos (peso, consumo, índice de conversión), histopatología de órganos blanco (hígado, intestino, riñón, bazo, bolsa) y bioquímica sanguínea (PT, ALB, GGT, ALT).

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL: Evaluar el efecto de una mezcla con base en paredes celulares de levadura de *Saccharomyces cerevisiae* (PCL 0.7 kg/T) y bentonita (0.3 kg/T) desafiadas con aflatoxinas B1 (200 µg/kg) y fumonisinas B1 (1 mg/kg) sobre los indicadores productivos (peso, consumo alimenticio, índice de conversión alimenticia), histopatología de órganos blanco (intestino, hígado, riñón, bolsa, bazo) y bioquímica sanguínea (PT, ALB, ALT, GGT) en pollos de engorda del día 1 al 28 de edad.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES: Evaluar los indicadores productivos midiendo peso promedio semanal, consumo alimenticio promedio semanal y calculando el índice de conversión alimenticia semanal en aves que consumen alimento inoculado AFB1+FB1 y/o PCL + bentonita durante un periodo de 28 días.

Evaluar el efecto sobre proteínas plasmáticas totales, albúmina, alaninoaminotransferasa (ALT), gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) mediante pruebas de bioquímica sanguínea al día 28 de aves que consumen alimento inoculado AFB1+FB1 y/o PCL + bentonita durante un periodo de 28 días.

Evaluar la histopatología de hígado, riñones, intestino, bolsa cloacal y bazo al día 28 de edad de aves que consumen alimento inoculado AFB1+FB1 y/o PCL + bentonita durante un periodo de 28 días.

6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se emplearon 60 pollitos estirpe Ross 308 de 1 día de edad, sin sexar, con un peso promedio inicial de 42.62 g; se distribuyeron de manera aleatoria en tres diferentes tratamientos con dos repeticiones cada uno y 10 aves por repetición, el experimento tuvo una duración de 28 días donde las aves tuvieron disposición de agua y alimento *ad libitum*. Tabla 1.

Tabla 1. Distribución de tratamientos.

TRATAMIENTO	CONTENIDO
TESTIGO	Alimento comercial sin aditivos ni contaminantes
MICOTOXINAS	Alimento comercial + aflatoxina B1 200 µg/Kg + fumonisina B1 1 mg/kg
MEZCLA	Alimento comercial + PCL 0.7 kg/T + bentonita 0.3 kg/T + aflatoxina B1 200 µg/kg + fumonisina B1 1 mg/kg

Tabla 2. Actividades realizadas.

Día	Actividad
1	Recepción de pollitos, pesaje y división por tratamientos
7	Pesaje de animales y alimento, cálculo de índice de conversión.
14	Pesaje de animales y alimento, cálculo de índice de conversión.
21	Pesaje de animales y alimento, cálculo de índice de conversión.
28	Pesaje de animales y alimento, toma de muestra sanguínea, sacrificio, necropsia, pesaje y muestra de órganos.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en las siguientes instalaciones:

- Centro de Asimilación Tecnológica campo 3, UNAM: obtención y cuantificación de micotoxinas.
- Laboratorio #14, Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM): dosificación de micotoxinas, PCL, bentonita en el alimento y procesamiento de bioquímica sanguínea.
- Caseta de producción avícola, Centro de Enseñanza Agropecuaria: mezcla de alimento con tratamientos.
- Unidad de Aislamiento y Bioterio, FESC: modelo experimental, sacrificio, necropsias, pesaje y muestra de órganos.
- Laboratorio de Patología Veterinaria, FESC: evaluación histopatológica.

7.1 MICOTOXINAS

7.1.1 AFLATOXINA

Se utilizaron cepas de *Aspergillus flavus* obtenidas de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, identificadas con los números de cepas 1395 y 28 productoras de Aflatoxinas B1.

Las cepas se sembraron en medios de cultivo con agar CZAPEK en cuatro cajas de Petri standar y se mantuvieron durante 15 días en incubadora 815-Precision Scientific Inc® a temperatura de 28 °C.

Para realizar la matriz se utilizaron 6 kg de maíz blanco, los cuales se sometieron a un proceso de limpieza manual retirando los granos que no conservaban su integridad física ya que estos podían haber estado contaminados con microorganismos bacterianos o fúngicos no deseables; el maíz se dividió en cuatro frascos con capacidad de 1.5 kg cada uno, se ajustó su humedad a 19% así favoreciendo el crecimiento de las cepas, se preparó una suspensión de esporas de *Aspergillus flavus* en 10 mL con Tween 20% y se inoculó en los frascos, estos se mantuvieron durante 25 días en incubadora 815-Precision Scientific Inc.® a 27 °C con una humedad relativa de 19%.

$$\text{Contenido de (CH) humedad} = \frac{100 - \text{CH inicial } 9\%}{100 - \text{CH deseada } 19\%} \cdot 1(1500 \text{ g}) = \text{adición } 185.18 \text{ mL}$$

Posterior se esterilizaron los frascos con granos inoculados mediante calor húmedo para inactivar las cepas de hongos y esporas viables para sólo preservar las aflatoxinas, se desecaron en horno a 60 °C por 24 h, se molieron y se realizó la evaluación de aflatoxinas B1 de cada frasco con el kit AflaTest-VICAM™ mediante un análisis de cromatografía de líquidos de alta resolución con fluorescencia (HPLC-FL) VICAM-SERIE4®.

Se utilizó una mezcladora mecánica con cintas de acero Mix20-RODAS® con capacidad de 20 kg para mezclar alimento comercial para pollo de engorda con la matriz inoculada con aflatoxina B1 a una concentración de 200 µg/kg para los tratamientos micotoxinas y mezcla.

7.1.2 FUMONISINA

Se utilizó una cepa de *Fusarium verticillioides* productora de fumonisina B1 obtenida de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y una solución de 50 µg/mL de fumonisina mezclada B1 y B2 Sigma-Aldrich®.

La cepa UNIGRAS se sembró en medio de cultivo agar Dextrosa-Papa en cuatro cajas de Petri standar y se mantuvieron durante 15 días en incubadora 815-Precision Scientific Inc® a temperatura de 28 °C.

Para realizar la matriz se utilizaron 3 kg de maíz blanco y 3 kg de arroz, estos por separado, los cuales se sometieron a un proceso de limpieza manual retirando los granos que no conservaban su integridad física ya que estos podían haber estado contaminados con microorganismos bacterianos o fúngicos no deseables; tanto el maíz como el arroz se dividieron en cuatro frascos con capacidad de 1.5 kg cada uno, se calculó su humedad con Motomco-919® y ajustó su humedad a 19% para el maíz y a 21% para el arroz así favoreciendo el crecimiento de las

cepas, se preparó una suspensión de esporas de *Fusarium verticillioides* en 10 mL con Tween 20, se inoculó en los frascos, estos se mantuvieron durante 25 días en incubadora 815-Precision Scientific Inc® a 27 °C con una humedad relativa de 20%.

MAÍZ: Contenido de (CH) = $\frac{100 - \text{CH inicial } 9\%}{100 - \text{CH deseada } 19\%} \cdot 1 (1500 \text{ g}) = \text{adición}$
humedad 185.18 mL

ARROZ: Contenido de (CH) = $\frac{100 - \text{CH inicial } 7\%}{100 - \text{CH deseada } 21\%} \cdot 1 (1500 \text{ g}) = \text{adición}$. . .
humedad 185.18 mL

Posterior se esterilizaron los frascos con granos inoculados mediante calor húmedo para inactivar las cepas de hongos y esporas viables para sólo preservar las fumonisinas, se desecaron en estufa a 60 °C por 24 h, se molieron y se realizó la evaluación de fumonisina B1 de cada frasco con el kit FumoniTest-VICAM™ mediante un análisis de cromatografía de líquidos de alta resolución con fluorescencia (HPLC-FL) VICAM-SERIE4®. (30)

Además se utilizó solución de fumonisina Sigma-Aldrich® fue preparada diluyendo el contenido del vial (1 mL) en 50 mL de Acetonitrilo J.T.Baker® + 50 mL de agua desionizada, se asperjó sobre 1 kg de alimento comercial de inicio para pollo de engorda y se mezcló de modo homogéneo, después se desecó a 40 °C por un periodo de 24 h en un horno de secado RedLine-BINDER®.

Se utilizó una mezcladora mecánica con cintas de acero Mix20-RODAS® con capacidad de 20 kg para mezclar alimento comercial para pollo de engorda con la matriz inoculada con fumonisina B1 a una concentración de 1 mg/kg para los tratamientos micotoxinas y mezcla.

7.2 PARED CELULAR DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Se utilizó el producto comercial Safmannan-Phileo® como complemento nutricional prebiótico. Este contiene una fuente purificada de manano-oligosacáridos (MOS) y β-glucanos obtenida mediante la autólisis de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* por sus propias enzimas la cual está constituida por: Tabla 3.

Tabla 3. Composición química PCL utilizada

COMPOSICIÓN	CONCENTRACIÓN %
Materia seca	94-99
Proteínas	12-22
Carbohidratos	42-56
Cenizas	5-8
Lípidos	17-23
MOS	22-24
β-1,3/1,6 glucanos	24-26

El producto se pesó en una báscula granataria digital capacidad para 2 kg CAMRY® a concentración de 0.7 kg/T para el tratamiento mezcla, se dosificó y mezcló con alimento comercial para pollo de engorda en una mezcladora mecánica con cintas de acero Mix20-RODAS® con capacidad de 20 kg.

7.3 BENTONITA.

El producto utilizado fue donado por la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán; se pesó el producto en una báscula granataria digital capacidad para 2 kg CAMRY® a una concentración de 0.3 kg/T para el tratamiento mezcla, se dosificó y mezcló con alimento comercial para pollo de engorda en una mezcladora mecánica con cintas de acero Mix20-RODAS® con capacidad para 20 kg.

7.4 ALIMENTO.

Se utilizó alimento comercial etapa inicio cubriendo los requerimientos según el National Research Council con la siguiente composición nutrimental. Tabla 4. (31)

Tabla 4. Composición química del alimento comercial utilizado.

COMPOSICIÓN	CONCENTRACIÓN %
Proteínas	20.35
Carbohidratos	43.3
Cenizas	5.69
Grasa	5.12
Humedad	8.27

8. PRODUCCIÓN EXPERIMENTAL.

Se utilizaron las instalaciones de la Unidad de Aislamiento y Bioterio de la FESC, realizando una limpieza y lavado completo de pisos, paredes y techo, así como su desinfección por aspersión con solución electrolizada de superoxidación con pH neutro SOLUVET® a una dilución de 1:25.

Se instalaron tapetes sanitarios con solución electrolizada de superoxidación con pH neutro SOLUVET® en las entradas de la instalación, cortinas de poliuretano sobre el piso y focos eléctricos de calor infrarrojo OSRAM® 200w sobre cada corraleta para mantener la temperatura interna del área.

Se instalaron e identificaron seis corraletas plásticas Chick-Fence-Sephnos® con un área de 31.68 m² cada una para lotificar a las aves en los distintos tratamientos.

En cada corraleta se colocó cama de viruta comercial con espesor aproximado de 5 cm, un bebedero Inginition-Sephnos® con capacidad de un galón, un comedero TurboGrow-Sephnos® con capacidad para 5 kg.

Durante las últimas dos semanas se colocaron bases elevadoras BaseMaxI- Sephnos® bajo los bebederos y BaseMaxII-Sephnos® bajo los comederos con el fin de incrementar la altura de estos.

El área estuvo en constante monitoreo verificando la temperatura del área mediante termómetros de máximas y mínimas FridgeFrezer-HOOK®, la temperatura de cada corraleta se verificó mediante un pirómetro infrarrojo UT300B-UNIT®, de igual manera se mantuvo bajo control la ventilación, suministro de alimento y agua, limpieza de bebederos, comederos y cama.

8.1 INDICADORES PRODUCTIVOS.

Para evaluar el desempeño productivo de las aves se registró el peso corporal individual semanal y el consumo total de alimento semanal por repetición utilizando una báscula digital capacidad para 5 kg CAMRY®.

El consumo promedio semanal individual, la ganancia de peso promedio semanal y el índice de conversión alimenticia semanal se calcularon mediante las siguientes fórmulas.

$$\text{CONSUMO} = \frac{\text{kg de alimento consumido por repetición}}{\text{\# aves}}$$

$$\text{GANANCIA} = \text{kg de peso promedio final} - \text{kg de peso promedio inicial}$$

. DE PESO

$$\text{ÍNDICE DE CONVERSIÓN} = \frac{\text{kg de alimento consumido por repetición}}{\text{ganancia de peso promedio}}$$

8.2 TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA Y OBTENCIÓN DE SUERO.

Al día 28 se tomaron muestras de 5 mL de sangre de cada tratamiento mediante punción intracardiaca con jeringas 21G X 32 mm SENSIMEDICAL®; el volumen obtenido se vertió en tubos sin anticoagulante VenojectII-TERUMO® colocándolos en gradillas de plástico a temperatura ambiente, una vez finalizada la coagulación se centrifugaron a 2 500 rpm por 10 min en centrifuga VanGuardV6500-HAMILTONBELL®; se retiró el suero libre de hemólisis de los tubos y se colocó en viales de vidrio estériles XE2240 para su conservación en congelación a -20 °C.

8.3 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.

Esta se llevó a cabo mediante un analizador químico semiautomático Ekem-KONTROLAB® con reactivos del laboratorio WIENER-LAB®.

Los viales con suero fueron descongelados a temperatura ambiente y siguiendo las técnicas de análisis descritas por el laboratorio WIENER-LAB®, se tomaron muestras correspondiente para cada análisis mediante el uso de micropipeta DRAGONLAB® colocando en tubos de ensaye, según fue el caso se colocaron las muestras y reactivos en baño maría llevándolos a temperatura correspondiente.

8.3.1 PROTEÍNAS TOTALES.

Su análisis se realizó mediante un método colorimétrico proteínas totales-AA descrito por WIENER-LAB® Figura 11. (25)

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

Figura 11. Procedimiento medición proteínas Totales.

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Calibrador / Suero Patrón	-	20 ul	-
Muestra	-	-	20 ul
Reactivo A	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Mezclar con varilla. Incubar durante 15 minutos a 37°C. Leer en espectrofotómetro a 540 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (520-560 nm) llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

8.3.2 ALBÚMINA.

Su análisis se llevó a cabo mediante un método colorimétrico albúmina-AA descrito por WIENER-LAB® Figura 12.

Fundamento del método: la albúmina reacciona específicamente (sin separación previa) con la forma aniónica de la 3,3',5,5'-tetrabromo cresolsulfon ftaleína (BCG). El aumento de absorbancia a 625 nm respecto del blanco de reactivo, es proporcional a la cantidad de albúmina presente en la muestra. (26)

Figura 12. Procedimiento medición albúmina.

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Calibrador / Suero Patrón	-	10 ul	-
Muestra	-	-	10 ul
Reactivo A	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml

Mezclar con varilla. Mantener los tubos entre 15 y 28°C durante 10 minutos. Leer en espectrofotómetro a 625 nm o en fotocolorímetro con filtro rojo (620-650 nm) llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

8.3.3 ALANINOAMINOTRANSFERASA (ALT)

Se utilizó la técnica de reactivo único mezclando cuatro partes de reactivo A con una parte de reactivo B descrito por WIENER-LAB®. Figura 13

Fundamento del método: basado en el siguiente esquema reaccionante: (28)

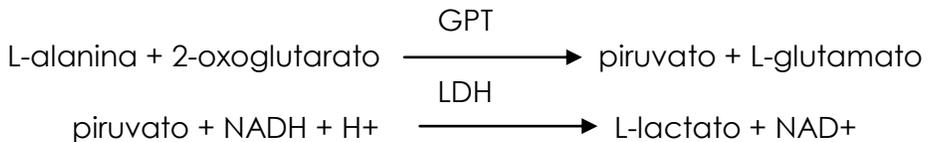


Figura 13. Procedimiento medición ALT

PROCEDIMIENTO

A) 30 ó 37°C

I- TECNICA CON REACTIVO UNICO

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo único	1,0 ml
-----------------------	---------------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	100 ul
----------------	---------------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

8.3.4 GAMMAGLUTAMILTRANSPEPTIDASA (GGT)

Se utilizó la técnica de reactivo único mezclando cuatro partes de reactivo A con una parte de reactivo B descrito por WIENER-LAB®. Figura 14. (29)

Fundamento del método: la γ -glutamyl transferasa es una carboxipeptidasa que cataliza la siguiente reacción:



Figura 14. Procedimiento medición GGT.

Reactivo único	1 ml
Preincubar unos minutos. Luego agregar:	
Muestra	100 ul
Mezclar rápidamente y proseguir de inmediato la incubación disparando simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia a los 1, 2 y 3 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia ($\Delta A/min$) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.	

8.4 SACRIFICIO, NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRA DE ÓRGANOS.

Al día 28 se realizó el sacrificio humanitario de las aves por dislocación cervical de acuerdo con la NOM-033-SAG/ZOO-2014 (32), después se procedió a la necropsia (33) y la extracción de órganos (intestino, hígado, riñón, bolsa cloacal y bazo) de forma sistemática para su pesaje de forma individual por ave; el peso relativo de cada órgano se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{PESO RELATIVO} = \frac{\text{g de peso del órgano} \times 100}{\text{g de peso del ave}}$$

De manera aleatoria se procedió a tomar una muestra de cada órgano, fijándolo por inmersión en una solución de formalina amortiguada a 10% en vasos recolectores estériles con capacidad de 120 mL DIBAR^{MR} para su posterior evaluación histopatológica.

8.5 EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA.

Con el apoyo del área de patología de la FESC se elaboraron laminillas de los órganos fijados en formalina a 10%.

Sé realizó la evaluación histopatológica de los órganos por tratamiento, valorando la presencia y nivel de lesión, asimismo se midieron de modo aleatorio las vellosidades intestinales por cada tratamiento. Tabla 5.

Tabla 5. Nivel de lesión

GRADO	NIVEL DE LESIÓN
0	Sin cambios morfológicos aparentes
1	Leve- lesiones focales
2	Moderado- lesiones multifocales-zonales
3	Severo- lesiones difusas

8.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos obtenidos de los indicadores productivos y bioquímica sanguínea fueron analizados con el software estadístico Statgraphics Centurión 16, mediante un diseño completamente al azar (ANDEVA) y la comparación de medias utilizando la prueba de LSD (con un valor de significancia de $p < 0.05$).

El análisis histopatológico se llevó a cabo mediante una revisión óptica de lesiones en relación con las alteraciones encontradas en la bioquímica sanguínea.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 INDICADORES PRODUCTIVOS

Tabla 6. Indicadores productivos: peso (g), consumo alimenticio (g), índice de conversión (I.C) para la semana 1

	Peso (g)	Consumo (g)	I.C
Tx	Media±EE	Media±EE	Media±EE
TESTIGO	153.5±3.421 a	181.682±5.409 b	1.71±0.062 a
MICOTOXINAS	148.5±3.145 a	162.136±1.409 a	1.625±0.095 a
MEZCLA	163.5±4.352 b	181.800±0.800 b	1.530±0.060 a

Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. **Mezcla**= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Peso

Al final de la semana 1 se observó que el tratamiento mezcla obtuvo la media con mayor peso presentando diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) comparándola con los grupos testigo y micotoxinas; asimismo, estos tratamientos obtuvieron las medias con menor peso sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$).

Consumo

En el caso del consumo al final de la semana 1 los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con mayor consumo sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos. Sin embargo, el tratamiento micotoxinas presentó la media más baja por lo cual existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Índice de conversión

Al final de la semana 1 la variación del índice de conversión entre los tres tratamientos fue mínima, por lo cual no existe diferencia estadística significativa entre ninguno de los tratamientos. ($p > 0.05$).

Tabla 7. Indicadores productivos: peso (g), consumo alimenticio (g), índice de conversión (I.C) para la semana 2

Tx	Peso (g) Media±EE	Consumo (g) Media±EE	I.C Media±EE
TESTIGO	358.429±8.839 ^b	408.45±1.45 ^b	1.949±0.045 ^a
MICOTOXINAS	236.55±8.839 ^a	273.15±31.55 ^a	3.0±0.08 ^b
MEZCLA	380.35±11.524 ^b	397.955±32.045 ^b	1.87±0.18 ^a

Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. **Mezcla**= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/Ton. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Peso

Para la semana 2 los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con mayor peso sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$). Sin embargo, el tratamiento micotoxinas obtuvo la media con menor peso presentando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Consumo

En el caso del consumo al final de la semana 2 los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con mayor consumo sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$). No obstante, el tratamiento micotoxinas presentó una disminución en el consumo obteniendo la media más baja la cual presenta diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Índice de conversión

El tratamiento micotoxinas presentó la media más alta de índice de conversión presentando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los tratamientos testigo y mezcla; asimismo, estos tratamientos obtuvieron las medias con menor índice de conversión sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$).

Tabla 8. Indicadores productivos: peso (g), consumo alimenticio (g), índice de conversión (I.C) para la semana 3

	Peso (g)	Consumo (g)	I.C
TX	Media±EE	Media±EE	Media±EE
TESTIGO	701.905±23.485 ^b	691.785±37.675 ^b	1.80±0.01 ^a
MICOTOXINAS	391.737±17.460 ^a	339.805±25.305 ^a	2.17±0.05 ^b
MEZCLA	723.9±18.914 ^b	595.835±4.435 ^b	1.75±0.03 ^a

Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. **Mezcla**= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Peso

Para la semana 3 los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con mayor peso sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$). Sin embargo, el tratamiento micotoxinas obtuvo la media con menor peso presentando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Consumo

En el caso del consumo al final de la semana 3 los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con mayor consumo sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$). Sin embargo, el tratamiento micotoxinas presentó una disminución en el consumo obteniendo la media más baja la cual presenta diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Índice de conversión

El tratamiento micotoxinas presentó la media más alta de índice de conversión mostrando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los tratamientos testigo y mezcla; asimismo, los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con menor índice de conversión sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$).

Tabla 9. Indicadores productivos: peso (g), consumo alimenticio (g), índice de conversión (I.C) para la semana 4

	Peso (g)	Consumo (g)	I.C
TX	Media±EE	Media±EE	Media±EE
TESTIGO	1249.31±36.1197 ^b	893.505±47.625 ^b	1.637±0.028 ^a
MICOTOXINAS	681.563±30.349 ^a	360.315±112.435 ^a	1.702±0.055 ^a
MEZCLA	1201.44±36.733 ^b	910.34±76.09 ^b	1.859±0.112 ^a

Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. **Mezcla**= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Peso

Para la semana 4 los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con mayor peso sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$); Sin embargo, el tratamiento micotoxinas obtuvo la media con menor peso lo cual representa diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Consumo

En el caso del consumo al final de la semana 4 los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con mayor consumo sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$). No obstante, el tratamiento micotoxinas presentó una disminución en el consumo obteniendo la media más baja la cual presenta diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Índice de conversión

Al final de la semana 4 la variación del índice de conversión entre los tres tratamientos fue mínima, por lo cual no existe diferencia estadística significativa entre de ninguno de los tratamientos. ($p > 0.05$).

Discusión

En el presente estudio se observó una disminución significativa en el peso final de las aves que consumieron alimento inoculado con AFB1 + FB1, comparadas con el tratamiento testigo, demostrando así los efectos tóxicos negativos de la sinergia entre ambas micotoxinas, donde AFB1 interfiere con la síntesis proteica y la FB1 ocasiona una disrupción en el metabolismo de los esfingolípidos alterando el crecimiento celular. Estos hallazgos concuerdan con los obtenidos por Tessari *et al* en 2006, quienes observaron una disminución del peso final obtenido en aves que consumían 200 μg de AFB1 y 50 mg de FB1

afirmando que las aflatoxinas y fumonisinas son conocidas por causar disrupción en el metabolismo proteico y lipídico, viéndose reflejado en una ganancia de peso menor. (15)

Sobrane *et al* en 2016 obtuvieron resultados similares en aves que consumían 2 mg/kg AFB1 y 100 mg/kg FB, presentando una disminución de 35% de la ganancia de peso y 50% en el consumo alimenticio, debiéndose a la combinación de ambas micotoxinas y su rápida absorción en el tracto intestinal. El metabolismo de estas micotoxinas en el hígado causaron daño hepático e inhibición de la síntesis proteica culminando en anorexia como lo menciona Miazzo *et al* en 2005, quienes utilizaron niveles de 2.5 mg/kg de AFB1 y 200 mg/kg de FB1 y observaron una reducción de 28% en la ganancia de peso. (34)

Miazzo *et al* en 2005 reportan un aumento significativo del índice de conversión en las aves que consumieron ambas micotoxinas (14); sin embargo, en este estudio no se presentaron diferencias entre los tratamientos. Autores como Sobrane *et al* en 2016 reportaron que las aves que consumían 2 mg/kg AFB1 y 100 mg/kg FB, presentaron el índice de conversión más bajo, de igual manera Morbini *et al* en 2006 reportó que las aves que consumieron 3 mg/kg de AF no presentaron diferencias estadística significativa en el índice de conversión. (34) (35) Este resultado se ve reflejado sobre todo por la disminución de la ganancia de peso ocasionado por la drástica disminución en el consumo. Por lo tanto el índice de conversión es un parámetro que no

debe evaluarse de manera aislada ya que se convierte ineficiente para evaluar el desempeño de las aves.

El uso de PCL + bentonita en dietas de aves que consumieron alimento inoculado con AFB1 + FB1 resultó eficaz para reducir de manera importante los efectos negativos de la sinergia de estas micotoxinas observándose una mejora sobre el peso final y el consumo alimenticio comparándolo con el tratamiento micotoxinas.

Coincidiendo con lo antes reportado por Girish *et al* en 2004, Morbini *et al* en 2006 e Indresh *et al* en 2013, donde las aves que consumieron 2 mg/kg de AF y 1% de HSCAS, 3 mg/kg de AF y 0.3% de bentonita y 0.5 ppm de AF y 1% de bentonita, respectivamente, mejoraron de manera significativa su peso final, consumo alimenticio e índice de conversión. Esto puede deberse a su contenido de montmorillonita que se une de modo irreversible a la aflatoxina previniendo su absorción a través de la pared intestinal. (35) (36) (37) Girish *et al*, de igual manera, reportan que las aves que consumieron 2 mg/kg de AF y 1 kg/T de glucomananos mejoró significativamente el peso, el consumo y el índice de conversión. Esto puede atribuirse por su propiedad de promover el crecimiento y la habilidad de adsorber micotoxinas de manera irreversible. (36)

9.2 PESO RELATIVO DE ÓRGANOS

Tabla 10. Peso relativo: hígado (%), riñones (%) intestino (%)

	Hígado (%)	Riñones (%)	Intestino (%)
TX	Media±EE	Media±EE	Media±EE
TESTIGO	2.198±0.214 a	0.719±0.102 a	7.951±0.454 a
MICOTOXINAS	4.590±0.299 b	1.320±0.103 b	14.294±0.897 c
MEZCLA	2.787±0.194 a	0.833±0.052 a	11.092±0.392 b

Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. **Mezcla**= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Peso hígado %

Los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con % de peso de hígados más bajos sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$). Sin embargo, el tratamiento micotoxinas obtuvo la media con % de peso de hígado más alto presentando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Peso riñones %

Los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con % de peso de riñones más bajos sin presentar diferencia estadística significativa

entre ellos ($p > 0.05$). Sin embargo, el tratamiento micotoxinas obtuvo la media con % de peso de riñones más alto presentando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Peso intestino %

Se observó variación en los % de peso de intestino entre los tratamientos, siendo el grupo micotoxinas el de la media más alta y el grupo testigo el de la media más baja, existiendo diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre cada uno de los tratamientos.

Discusión

En el presente estudio se observó un aumento significativo en el peso relativo de hígado, riñón e intestino en las aves que consumieron AFB1 + FB1 comparado con el tratamiento testigo. Diversos autores los han reportado como órganos blanco de micotoxinas donde se presentan aumentos en los pesos en hígado y riñón, atribuyéndose a los cambios degenerativos como tumefacción celular, procesos inflamatorios o al incremento de los depósitos grasos debido a la alteración del metabolismo de las grasas. Sin embargo, el peso relativo de intestino ha sido reportado por muy pocos autores, con distintos resultados.

Estos resultados concuerdan con los reportados por Miazzo *et al* en 2005 y Tessari *et al* en 2006, donde las aves que consumieron 2.5 mg/kg de AFB1 + 200 mg/kg de FB1 y 200 µg de AFB1 + 50 mg de FB1,

respectivamente, presentaron un aumento relativo significativo del peso de hígado y riñón. (14) (15) De igual manera Girish *et al* en 2004 reportaron que las aves que consumieron 2 mg/kg de AF presentaron un aumento relativo del hígado; asimismo, Indresh *et al* en 2013 reportaron que las aves que consumieron de 0.5 ppm de AF, presentaron un aumento de 19.56% para hígado y 18.38% para riñón y Rodríguez *et al* en 2009 reportan que las aves que consumieron 3 000 µg/kg de FB1 presentaron un aumento en el peso relativo del hígado, riñón. (36) (37) (38)

Es necesario destacar que el uso de PCL + bentonita en la dieta de aves que consumieron alimento inoculado con AFB1 + FB1 mostró un efecto positivo disminuyendo de manera parcial el peso relativo del intestino y significativamente los pesos relativos de hígado y riñón en comparación con el tratamiento micotoxinas. Estos resultados concuerdan con los reportados por Azizpour y Moghdam en 2015, donde las aves que consumieron 250 ppb AF y 3% de bentonita + 0.1% PCL observaron una disminución del peso relativo del hígado. (39)

De igual manera Miazzo *et al* en 2005 reportaron que en las aves que consumieron 2.5 mg/kg de AFB1 y 200 mg/kg de FB1 adicionada con 0.3% de bentonita disminuyeron los efectos tóxicos de las micotoxinas, observándose una mejoría del peso relativo del hígado. (14) Indresh *et al* en 2013 reportaron que la adición de bentonita a 0.75 o 1% contrarrestó el aumento del peso relativo del hígado y riñón inducido por una concentración de 0.5 ppm AF. (37)

9.3 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

Tabla 11. Albúmina y proteínas totales

	Proteínas totales (g/L)	Albúmina (g/L)
TX	Media±EE	Media±EE
TESTIGO	0.460±0.022 b	0.495±0.015 b
MICOTOXINAS	0.316±0.049 a	0.242±0.031 a
MEZCLA	0.431±0.008 b	0.484±0.016 b

Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. **Mezcla**= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

Proteínas totales

Los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con valores de proteínas totales más altos sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$). Sin embargo, el tratamiento micotoxinas obtuvo la media con valores de proteínas totales más bajos presentando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Albúmina

Los tratamientos testigo y mezcla obtuvieron las medias con valores de albúmina más altos sin presentar diferencia estadística significativa entre ellos ($p > 0.05$). No obstante, el tratamiento micotoxinas obtuvo la

media con valores de albúmina más bajos, presentando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) comparándola con los otros tratamientos.

Discusión

Tanto las proteínas totales como la albúmina son componentes que se afectan por alteración del funcionamiento hepático. La baja en la concentración de estas puede deberse a la pérdida de proteínas plasmáticas por presencia de hemorragias, o bien por la incapacidad del hígado para producirlas debido a la presencia de hepatitis, cirrosis o alguna otra patología. Considerándose así estos niveles como indicadores importantes para diagnosticar la micotoxicosis en pollos de engorda. (17)

En el presente estudio se observó que en las aves que consumieron alimento inoculado con AFB1 + FB1, tanto los valores de proteínas totales como de albúmina disminuyeron significativamente comparadas con el tratamiento testigo, indicando el efecto tóxico de la sinergia de las micotoxinas sobre el hígado. La disminución de las proteínas plasmáticas causadas por intoxicación de aflatoxinas resulta del bloqueo de síntesis de ARN y por consecuencia la inhibición de la síntesis de proteína a nivel hepático. (16)

Según Del Bianchi *et al* en 2005 las aves que consumieron 2 450 $\mu\text{m}/\text{kg}$ AFB1 + 10 mg/kg FB1 presentaron niveles bajos de albúmina. (16) Y

según Miazzo *et al* en 2005, las aves que consumieron 2.5 mg/kg de AFB1 + 200 mg/kg de FB1 presentaron una disminución de los valores de albúmina y proteínas totales. (14) Asimismo Gokhan *et al* en 2006, mencionan que las aves que consumieron 1 ppm de AF presentaron niveles más bajos tanto de proteínas totales como de albúmina. (40)

Sin embargo, cabe destacar que al haber utilizado PCL + bentonita desafiada con AFB1 + FB1 en las dietas, se obtuvieron resultados positivos en las concentraciones de proteínas totales y albúmina, confirmando así la capacidad adsorbente que estos poseen.

Estos resultados concuerdan con los reportados por Miazzo *et al* en 2005, donde las aves que consumieron 2.5 mg/kg de AFB1 + 200 mg/kg de FB1 adicionada con 0.3% de bentonita, sus valores de proteínas totales y albúmina mejoraron de modo significativo. (14) Y los reportados por Gokhan *et al* en 2006, donde las aves que consumieron 1 ppm de AF adicionada con 0.5% de bentonita ésta contrarrestó los efectos adversos de la micotoxina. (40)

Tabla 12. Gammaglutamil transpeptidasa (GGT), alaninoamino transferasa (ALT).

	Gamma glutamil transpeptidasa (GGT) (U/L)	Alanino amino transferasa (ALT). (U/L)
TX	Media±EE	Media±EE
TESTIGO	2.141±0.372 ab	0.215±0.022 ab
MICOTOXINAS	3.743±0.606 b	0.170±0.022 a
MEZCLA	1.450±0.474 a	0.252±0.015 b

Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. **Mezcla**= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

Gamma glutamil transpeptidasa (GGT)

EL tratamiento testigo presentó valores medios de GGT sin presentar diferencia estadística significativa con los otros tratamientos ($p > 0.05$). Sin embargo, el tratamiento micotoxinas presentó la media con valores más altos y el tratamiento mezcla presentó la media con valores más bajos existiendo diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre estos tratamientos.

Alanino amino transferasa (ALT)

EL tratamiento testigo presentó valores medios de ALT sin presentar diferencia estadística significativa con los otros tratamientos ($p > 0.05$). No obstante, el tratamiento mezcla presentó la media con valores más

altos y el tratamiento micotoxinas presentó la media con valores más bajos existiendo diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre estos tratamientos.

Discusión

Las alteraciones en la actividad sérica de las enzimas hepáticas son un método sensible de evaluación; indican alteración en la integridad de membranas celulares, necrosis de hepatocitos o epitelio biliar. El aumento de la actividad enzimática se interpreta como las secuelas de la degeneración de los hepatocitos y la posterior fuga de enzimas a la circulación sanguínea. La mayoría de los autores mencionan que tanto la enzima GGT y ALT, entre otras, se observan elevadas en presencia de micotoxinas. (23) (27)

En el presente estudio se observó que las aves que consumieron alimento inoculado con AFB1 + FB1, a pesar de no presentar diferencia estadística comparados con el tratamiento testigo presentan niveles elevados de la enzima GGT pero niveles bajos de ALT.

Los resultados obtenidos para la enzima GGT concuerdan con autores como Sobrane *et al* en 2016, donde las aves que consumieron 2 mg/kg AFB1 + 100 mg/kg FB1 presentaron un aumento de 70% en los niveles de GGT; esta enzima actúa en la transferencia de aminoácido y péptidos a través de las membranas celulares para la síntesis de proteínas, donde

un incremento en sus niveles conduce a daño hepático y una posible colestasis. (34) Al igual Indresh *et al* en 2013, reportar que la actividad de GGT incrementó de modo significativo en el tratamiento alimentado con 0.5 ppm de AF. (37)

Para el caso de ALT, varios autores han reportado disminución en los niveles séricos en aves que consumieron micotoxinas. Tales son los casos reportados por Indresh *et al* en 2013, quienes no observaron variación en las aves que consumieron 0.5 ppm de AF. (37) Del Bianchi *et al* en 2005, en las aves que consumieron 350 $\mu\text{m}/\text{kg}$ AFB1 + 10 mg/kg FB1, aunque no se observó diferencia estadística significativa, estas presentaron niveles más bajos de ALT. (16) Rodríguez *et al* en 2009, reportan que las aves que consumieron 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de FB1 mostraron valores más bajos de ALT. (38)

Por otra parte, en este estudio se observó un incremento en los niveles séricos de ALT para las aves que consumieron AFB1 + FB1 adicionado con PCL + bentonita. Autores como Landeros *et al* en 2008 reportaron que la actividad enzimática de ALT no presentó diferencia estadística significativa entre los tratamiento desafiados con FB1; sin embargo, observaron una tendencia donde los grupos que recibieron 75 ppm o 100 ppm de FB1 + 2% PCL tuvieron una mayor actividad enzimática con respecto a los que sólo recibieron FB1. (41)

La determinación de ALT adquiere importancia diagnóstica cuando sus valores se comparan con los de otras enzimas de similar origen tisular,

permitiendo así completar el perfil enzimático de órganos como el hígado. (23) (24) (28)

9.4 HISTOPATOLOGÍA

Los cambios histopatológicos observados en las aves que consumieron dietas inoculadas con AFB1 + FB1, así como las desafiadas con PCL + bentonita concuerdan con previas investigaciones.

INTESTINO

Testigo

El tratamiento testigo presentó congestión moderada grado 2 así como un sistema inflamatorio activado de linfocitos grado 1. El largo de las vellosidades intestinales oscilaba entre los 3 200 y 3 600 micrómetros.

Micotoxinas

El tratamiento micotoxinas presentó inflamación severa grado 3 así como congestión adventicia y presencia de hemosiderina grado 1, se observa pérdida de continuidad en el epitelio severa grado 3 y adelgazamiento de las vellosidades, estas presentaban un largo que oscilaba entre 2 400 y 3 000 micrómetros.

Mezcla

El tratamiento mezcla presentó congestión moderada grado 2 así como un foco inflamatorio grado 1. El largo de las vellosidades oscilaba entre 3 400 y 4 400 micrómetros.

Discusión

Las células epiteliales intestinales son cruciales para la absorción de nutrientes, así como para la restricción de contaminantes y antígenos hacia el interior del organismo. Las proteínas de unión son el mayor componente de la barrera intestinal, por lo tanto cualquier daño a la síntesis de estas proteínas puede conducir a un aumento de la permeabilidad de la barrera selectiva convirtiéndolo a su vez más susceptibles a infecciones u otras enfermedades. (42) (43)

Dentro de las principales lesiones observadas en este estudio, se observa el daño al epitelio de las vellosidades, donde las aves que consumieron AFB1 + FB1 presentan una disminución en su longitud, así como pérdida de la continuidad y adelgazamiento, lo cual se refleja en los indicadores productivos como un retraso en el crecimiento por deterioro en la superficie de absorción. Kumar y Balachandran en 2009, reportan que las aves que consumieron 1 ppm de AF presentaron enteritis catarral con infiltraciones linfocíticas o mononucleares. (44)

Chen *et al* en 2016, sugieren que existe una alta posibilidad que tanto los metabolitos no absorbidos de AFB1, como los metabolitos absorbidos que regresan por la circulación entero-hepática, pueden tener un impacto directo sobre el epitelio intestinal, facilitando una mayor absorción de otras micotoxinas como la FB. (42)

Por otra parte la inclusión de PCL + bentonita no solo contrarrestó los efectos tóxicos de AFB1 + FB1, sino que logró aumentar la superficie de absorción de manera significativa comparada inclusivamente con el tratamiento testigo; esto puede ser ocasionado por el efecto de promoción del crecimiento que se le adjudica a la PCL como lo menciona Arce *et al* en 2008, donde las aves a las que se les administró 500 g/T de PCL en la dieta presentaron un aumento significativo en la amplitud, número y área de vellosidades; mejorando así los valores obtenidos en los indicadores productivos. (45)

HÍGADO

Testigo

El tratamiento testigo presentó congestión leve grado 1 así como inflamación heterófila leve grado 1 (vasculitis), degeneración vacuolar leve de los hepatocitos grado 1.

Micotoxinas

El tratamiento micotoxinas presentó inflamación heterófila severa grado 3, congestión severa grado 3, degeneración vacuolar severa de los hepatocitos grado 3 y hemorragia moderada grado 2, de igual manera se observó aumento de sinusoides hepáticos severo grado 3 e hiperplasia de conductos biliares moderada grado 2.

Mezcla

El tratamiento mezcla presentó congestión moderada grado 2, degeneración vacuolar leve de los hepatocitos grado 1, así como hiperplasia de los conductos biliares leve grado 1.

Discusión

El hígado es considerado como órgano blanco principal para la micotoxicosis en aves. Las alteraciones histopatológicas observadas en las aves que consumieron AFB1 + FB1 en el presente estudio concuerdan con lo reportado por Miazzi *et al* en 2005, quienes observaron que las aves que consumieron 2.5 mg/kg de AFB1 + 200 mg/kg de FB1 presentaron vacuolización citoplasmática difusa con localización perilobular. (14) De igual manera Tessari *et al* en 2006, aves que consumieron 200 µg de AFB1 + 50 mg de FB1 y en 2010 aves que consumieron 200 µg de AFB1 + 200 mg de FB1 presentaron desorden trabecular, degeneración vacuolar, hiperplasia severa de los conductos biliares e infiltración heterófila severa. (15) (17) Y Del Bianchi *et al* en 2005, las aves que consumieron 350 µm/kg AFB1 + 10 mg/kg FB1 presentaron necrosis focal con presencia de infiltración mononuclear, hiperplasia de los conductos biliares con fibrosis acompañada de degeneración trabecular y degeneración vacuolar. (16)

Otros autores que evaluaron de manera aislada una micotoxina en particular, también observaron lesiones del mismo tipo, tal es el caso de Azizpour *et al* en 2015, quienes reportaron que las aves alimentadas con 250 ppb de AF presentaron lesiones que incluían degeneración albuminosa y vacuolar de leve a moderado en hepatocitos, en centro lobulillos y áreas medio zonales, hiperplasia de conductos biliares en las zonas portales, así como fibrosis periportal e infiltración celular. (39)

La adición de PCL + bentonita ayudó significativamente a disminuir la severidad de las lesiones o la presencia de los efectos adversos causados por AFB1 + FB1, autores como Azizpour *et al* en 2015, reportaron que en aves alimentadas con 250 ppb de AF la adición de 3% bentonita + 0.1% PCL redujo de modo considerable el número de aves afectadas y la severidad de las lesiones. La reducción en la degeneración albuminosa y otros cambios hepáticos fue imponente. (39)

Asimismo autores como Gokhan *et al* en 2006, reportaron que en las aves que consumieron 1 ppm de AF adicionadas con 0.5% de bentonita se observó una disminución en la severidad de las lesiones. (40) Y Karaman *et al* en 2005, las aves que consumieron 2 mg/kg de AF adicionada con 1 g/kg de PCL favoreció significativamente en contrarrestar los daños causados por AF. (46)

RIÑÓN

Testigo

El tratamiento testigo presentó congestión moderada grado 2.

Micotoxinas

El tratamiento micotoxinas presentó degeneración albuminosa en glomérulos y túbulos contorneados severa grado 3, congestión leve grado 1, edematización en zonas cohesivas leve grado 1 e hiperplasia linfoide periférica.

Mezcla

El tratamiento mezcla presentó congestión leve grado 1, inflamación leve grado 1 (vasculitis), degeneración vacuolar y degeneración albuminosa en túbulos leve grado 1.

Discusión

En el presente estudio se observó que las aves que consumieron alimento inoculado con AFB1 + FB1 presentaron mayor tipo y severidad en las lesiones. Estos hallazgos confirman previos estudios en los cuales tanto hígado como riñones son los órganos principales en el metabolismo de micotoxinas. Conociéndose que tanto AFB1 como FB1 tienen potentes componentes nefrotóxicos y su continua ingestión causa lesiones renales provocando alteraciones en su funcionamiento.

Autores como Del Bianchi *et al* en 2005, reportan que las aves que consumieron 350 $\mu\text{m}/\text{kg}$ AFB1 + 10 mg/kg FB1 presentaron glomerulonefritis, epitelio tubular con áreas de degeneración y necrosis. (16) Y Tessari *et al* en 2006 mencionan que las aves que consumieron 200 μg de AFB1 + 200 mg de FB1 presentaron degeneración hidrópica de los túbulos renales. (15)

Otros autores que trabajaron con micotoxinas aisladas también reportan lesiones renales causadas por estas micotoxinas. Tal es el caso reportado por Landeros *et al* en 2008, donde en las aves expuestas a 75 ppm o 100 ppm de FB1 se observó necrosis focal, degeneración celular

y tumefacción glomerular. (41) Por otra parte Karaman *et al* en 2005, las aves que consumían 2 mg/kg de AF presentaron degeneración tubular severa.

Cabe destacar que el uso de PCL + bentonita logró minimizar la severidad de las lesiones observadas en las aves que consumieron alimento inoculado con AFB1 + FB1, concordando con los resultados obtenidos por Karaman *et al* en 2005, quienes al adicionar 1 g/kg de PCL, esta favoreció significativamente en contrarrestar los daños causados por AF. (46)

BOLSA CLOACAL

Testigo

Sin cambios morfológicos aparentes grado 0.

Micotoxinas

El tratamiento micotoxinas presentó depleción linfoide moderada grado 2 así como apoptosis leve grado 1.

Mezcla

El tratamiento mezcla presentó congestión moderada grado 2, depleción linfoide leve grado 1 y apoptosis leve grado 1.

Discusión

Uno los múltiples efectos de AF y FB sobre la inmunidad de las aves incluyen inmunosupresión causando depleción y atrofia de órganos linfoides. (8) (10) Tal es el caso de la bolsa cloacal, donde en el presente

estudio se presentaron el mismo tipo de alteraciones en los tratamientos que consumieron AFB1 + FB1; sin embargo, en las aves a las que se les adicionó PCL + bentonita se observó una disminución en la severidad de las lesiones.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Kumar y Balachandran en 2009, reportan que las aves que consumieron 1 ppm de AF presentaron una carencia en la diferenciación córticomedular, depleción linfoide generalizado e infiltración heterofílica. (44) Ekhlás en 2012 reportó que las aves alimentadas con 2.5 ppm de AF presentaron pérdida de la arquitectura, adelgazamiento de la capa cortical, depleción linfoide medular, edema y fibrosis interfolicular. (47) De igual manera, Girish *et al* en el 2004, donde en las aves que consumieron 2 mg/kg de AF se observaron lesiones como necrosis y depleción celular. (36) Por otra parte Karaman *et al* en 2005, observaron que las aves que consumieron 2 mg/kg de AF presentaron depleción linfoide severa de los centros linfoides; y aunque no se presentó diferencia estadística significativa tras la adición de 1 g/kg de PCL, ésta favoreció en contrarrestar la severidad de las lesiones causados por AF. (46)

BAZO

Testigo

El tratamiento testigo presentó congestión leve grado 1.

Micotoxinas

El tratamiento micotoxinas presentó congestión moderada grado 2, depleción y apoptosis severa grado 3 de los centros linfoides.

Mezcla

El tratamiento mezcla presentó apoptosis leve grado 1 de los centros linfoides.

Discusión

Uno de los múltiples efectos de AF y FB sobre la inmunidad de las aves incluyen inmunosupresión causando depleción y atrofia de órganos linfoides. (8) (10) Tal es el caso del bazo, donde en el presente estudio se presentaron el mismo tipo de alteraciones en los tratamientos que consumieron AFB1+FB1; no obstante, en las aves a las que se les adicionó PCL + bentonita se observó una disminución en la severidad de las lesiones.

Según Kumar y Balachandran en 2009, reportan que las aves que consumieron 1 ppm de AF presentaron depleción linfoides, aumento en los centros germinales e hiperplasia de células reticulares. (44) Karaman *et al* en 2005 reportan que las aves que consumían 2 mg/kg de AF presentaron depleción linfoides severa de los centros linfoides, y aunque no se presentó diferencia estadística significativa la adición de 1 g/kg de PCL, esta favoreció en contrarrestar los daños causados por AF. (46)

10. CONCLUSIONES

Basado en los resultados obtenidos en el presente estudio y bajo las condiciones experimentales empleadas se demostró que la adición de una mezcla de pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* (PCL 0.7 kg/T) y bentonita (0.3 kg/T) en la dieta destinada para aves de engorda disminuyó los efectos negativos provocados por la inoculación de aflatoxina B1 (200 µg/kg) y fumonisina B1 (1 mg/kg) sobre los indicadores productivos (peso, consumo, índice de conversión), histopatología de órganos blanco (hígado, intestino, riñón, bazo, bolsa) y bioquímica sanguínea (PT, ALB, GGT, ALT).

10.1 CONCLUSIONES PARTICULARES

El peso final y el consumo de las aves a las que se les administró AFB1+FB1 se observó significativamente disminuido. Sin embargo la adición de PCL + bentonita redujo de forma notoria el efecto de las micotoxinas observándose en una completa recuperación del peso final y el consumo de las aves. Cabe mencionar que el índice de conversión en el presente estudio no mostró diferencia en los tratamientos; no obstante, cuando es evaluado en conjunto con el peso y el consumo se puede determinar con claridad un retraso en su crecimiento.

El uso de PCL + bentonita redujo significativamente los efectos negativos de AFB1 + FB1 sobre los pesos relativos de intestino, hígado y riñón, los cuales se presentaron aumentados de tamaño en las aves que sólo consumieron AFB1 + FB1, mermando la cantidad de carne de la canal y acentuando el retraso en el crecimiento.

Las concentraciones de proteínas totales y albúmina se vieron significativamente disminuidas en las aves que consumieron AFB1 + FB1, demostrando la interacción de éstas sobre el metabolismo hepático; sin embargo, la inclusión de PCL + bentonita mejoró en consideración estos valores.

El consumo de AFB1 + FB1 generó un aumento en la concentración sérica de GGT, demostrando así las lesiones y alteraciones hepáticas causadas por las mismas, la adición de PCL + bentonita redujo de manera significativa estos valores. Los resultados obtenidos para ALT concuerdan con algunos autores; pero, otros mencionan que es necesario evaluar conjuntamente otro tipo de enzimas.

La inclusión de PCL + bentonita actuó de manera positiva mejorando significativamente el tipo y la severidad de lesiones que fueron observadas en intestino, hígado, riñón, bolsa cloacal y bazo de las aves que sólo consumieron AFB1 + FB1.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. **Ramos, A. et al.** 2011. *Micotoxinas y micotoxicosis*. AMV.
2. **Unión Nacional de Avicultores.** 2005. *Avicultura mexicana en 2015*. www.una.org.mx
3. **SAGARPA.** 2014. *Plan rector visión 2014-2024 "Sistema producto carne de ave"*. Yire.
4. **SAGARPA.** *Manual de buenas prácticas en unidades de producción de pollo de engorda*.
5. **Gimeno, A. et al.** 2011. *Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos*. SPECIAL NUTRIENTS, INC.
6. **Soriano, J. et al.** 2007. *Micotoxinas en alimentos*. Díaz de Santos.
7. **D'Mello, J. et al.** 1997. *Mycotoxins*. Elsevier Science.
8. **Gimeno, I. et al.** 2013. *Enfermedades inmunosupresoras en avicultura*. Servet.
9. **Brugère-Picoux, J. et al.** 2015. *Manual de Patología aviar*. AFAS.
10. **Swayne, D. et al.** 2013. *Diseases of Poultry* 13 edición. Wiley-Blackwell.
11. **Sweeney, M. et al.** 1998. *Mycotoxin production by Aspergillus, Fusarium and Penicillium species*. Elsevier. 43:141-158.
12. **Soriano, J. et al.** 2005. *Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1*. Elsevier. 44:345-356
13. **Marin, E. et al.** 2009. *Efecto de la interacción de aflatoxinas y fumonisinas en pollo de engorda*. Tesis Unam.
14. **Miazzo, R., et al.** 2005. *Efficacy of Sodium Bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with Aflatoxin and Fumonisin*. Poultry Science. 84:1-8

15. **Tessari, E. et al.** 2006. *Effects of Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 on body weight, antibody titres and histology of broiler chicks.* British Poultry Science. 47:357-364.
16. **Del Bianchi, M. et al.** 2005. *Effects of prolonged oral administration of Aflatoxin B1 and Fumnsin B1 in broiler chickens.* Poultry Science. 84:1835-1840.
17. **Tessari, E. et al.** 2010. *Effects of Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 on blood biochemical parameters in broilers.* Toxins. 2:453-460.
18. **Castañeda, R. et al.** 2012. *Neutralización de micotoxinas por sustancias adsorbentes.* Revista iberoamericana interdisciplinar de métodos, modelización y simulación.
19. **Shetty, P. et al.** 2000. *Saccharomyces cerevisiae and acid lactic bacteria as potencial mycotoxin decontamination agents.* Trends in Food Science & Technology.
20. **World Gastroenterology Organisation.** 2008. *Probióticos y Prebióticos.* WGO.
21. **Morales, R. et al.** 2007. *Las paredes celulares de levadura de Saccharomyces cerevisiae: un aditivo natural capaz de mejorar la productividad y salud del pollo de engorde.* Universitat Autònoma de Barcelona.
22. **Aguilar, B. et al.** 2005. *Estudio de la variación de la composición de los polisacáridos contenidos en la pared celular de la levadura Saccharomyces cerevisiae.* e-Gnosis. 3(12):1-8.
23. **Kaneko, J. et al.** 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* ELSEVIER.
24. **Nuñez, L. et al.** 2007. *Patología clínica veterinaria.* FMVZ.

25. **Wiener lab.** 2000. Método colorimétrico para la determinación de proteínas totales en suero. *Proteínas Totales AA*. Wiener laboratorios S.A.I.C.
26. **Wiener lab.** 2000. Método colorimétrico para la determinación de albúmina en suero. *Albúmina AA*. Wiener laboratorios S.A.I.C.
27. **Latimer, K. et al.** *Patología Clínica Veterinaria*.
28. **Wiener lab.** 2000. Método UV optimizado (IFCC) para la determinación de GPT/ALT en suero o plasma. *GPT (ALT) Línea líquida AA*. Wiener laboratorios S.A.I.C.
29. **Wiener lab.** 2000. Método (Szasz modificado) para la determinación de GGT en suero o plasma. *G-G-Test cinética AA*. Wiener laboratorios S.A.I.C.
30. **VICAM.** FumoniTest and FumoniTest WB. VICAM
31. **National Research Council.** 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. National Academies Press.
32. **SAGARPA.** 2015. NOM-033-SAG/ZOO-2014. *Métodos para dar muerte a los animales domesticos y silvestres*.
33. **Majó, N. et al.** *Atlas de la Necropsia Aviar. Diagnóstico macroscópico. Toma de Muestras*. SERVET.
34. **Sobrane, F. et al.** 2016. *Effects of mycotoxin adsorbents in aflatoxin B1 and fumonisin B1 contaminated broiler diet on performance and blood metabolite*. Revista Brasileira de Zootecnia. 45(5):250-256.
35. **Morbini, L. et al.** 2006. *Adição de bentonita sódica como adsorvente de aflatoxinas em rações de frangos de cort*. Ciencia rural.
36. **Girish, C. et al.** 2004. *Evaluation of modified glucomannan and hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the*

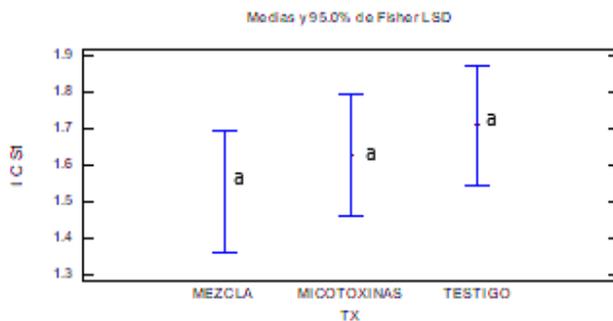
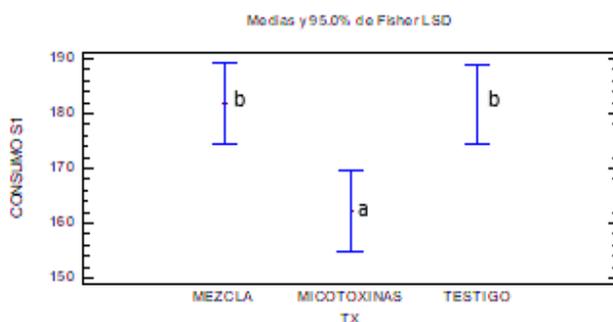
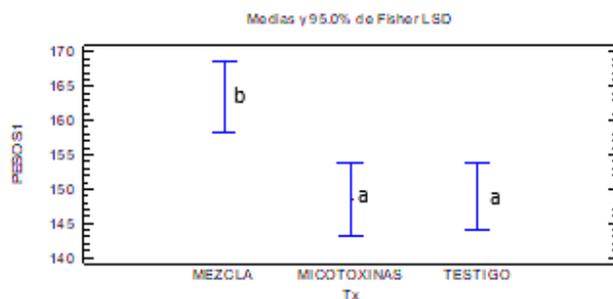
- individual and combined toxicity of aflatoxin and T2 in broiler chickens. Australian Poultry Science Symposium. 16:126-129.*
37. **Indresh, H. et al.** 2013. *Effects of high grade bentonite on performance, organ weights and serum biochemistry during aflatoxicosis in broilers. Veterinary World. 6(6):313-317.*
38. **Rodriguez E. et al.** 2009. *Alteraciones morfológicas y bioquímicas en el pollo de engorda por ingestión de Fumonisinás. Tesis UNAM.*
39. **Azizpour, A. et al.** 2015. *Assessment of serum biochemical parameters and pathological changes in broilers with chronic aflatoxicosis fed glucomannan-containing yeast product (Mycosorb) and sodium bentonite. Bull Vet Inst Pulawy. 59:205-211.*
40. **Gokhan, E. et al.** 2016. *Efficacy of dietary sodium bentonite against subchronic exposure to dietary aflatoxin in broilers. Bull Vet Inst Pulawy. 50:107-112.*
41. **Landeros, P. et al.** 2008. *Evaluación de dos adsorbentes en dietas de pollos de engorde contaminadas con Fumonisinás B1. Revista Salud Animal. 30(1):50-58.*
42. **Chen, X. et al.** 2016. *Interactive effects of dietary protein concentration and aflatoxin B1 on performance, nutrient digestibility, and gut health in broiler chicks. Poultry Science. 95:1312-1325.*
43. **Yunus, A. et al.** 2011. *Aflatoxin B1 in affecting broiler's performance, immunity, and gastrointestinal tract: a review of history and contemporary issues. Toxins. 3:566-590.*
44. **Kumar, R. et al.** 2009. *Histopathological changes in broiler chickens fed aflatoxin and cyclopiazonic acid. Veterinarskicarchiv. 79(1):31-40*

45. **Arce, J. et al.** 2008. *Comportamiento productivo y cambios morfológicos en vellosidades intestinales del pollo de engorda a 21 días de edad con el uso de paredes celulares de Saccharomyces cerevisiae.* Vet. Mex. 39(2):223-228.
46. **Karaman, M. et al.** 2005. *Evaluation of the detoxifying effect of yeast glucomannan on aflatoxicosis in broilers as assessed by gross examination and histopathology.* British Poultry Science. 46(3):394-400.
47. **Ekhlas, K. et al.** 2012. *Histopathological changes of some internal organs in broilers fed aflatoxin.* AL-Qadisiya Journal of Vet.Med.Sci. 11(2):70-79.
48. **Reyna, L. et al.** 2009. *Comportamiento productivo y toxicosis en pollos de engorde alimentados con aflatoxinas B1, B2 y tres adsorbentes de micotoxinas.* Téc Pecu Méx. 47(3):285-297.

12. ANEXOS

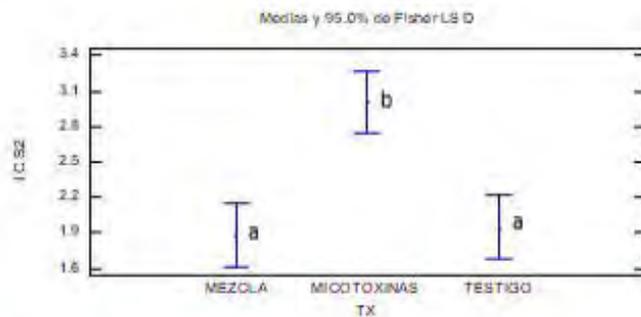
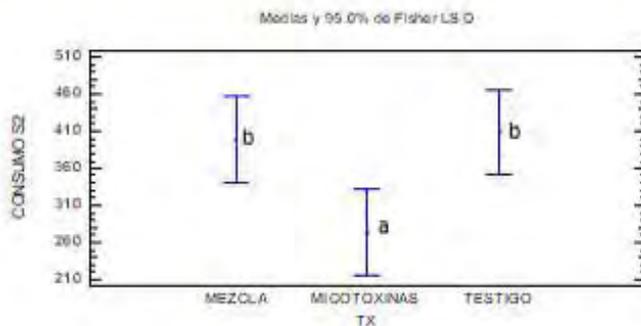
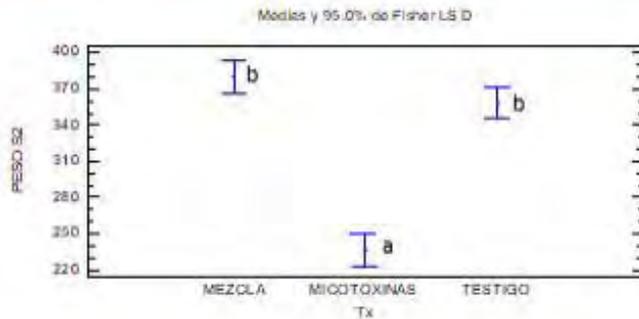
†

Gráfico 1. Indicadores productivos: peso (g), consumo alimenticio (g), índice de conversión (I.C) para la semana 1



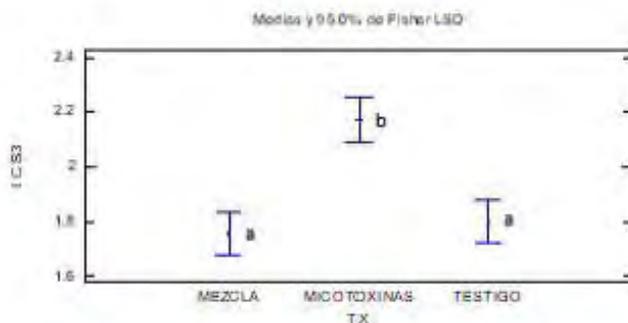
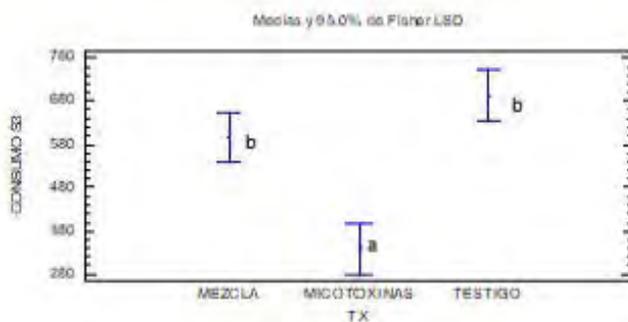
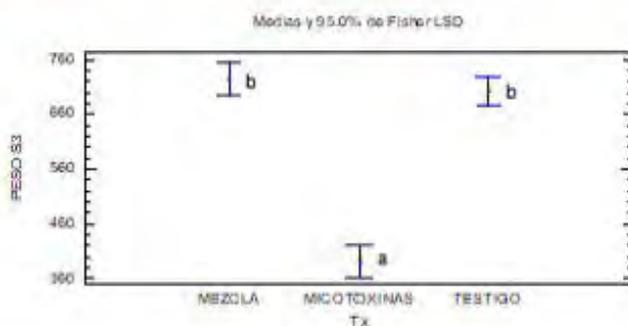
Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. Mezcla= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Gráfico 2. Indicadores productivos: peso (g), consumo alimenticio (g), índice de conversión (I.C) para la semana 2



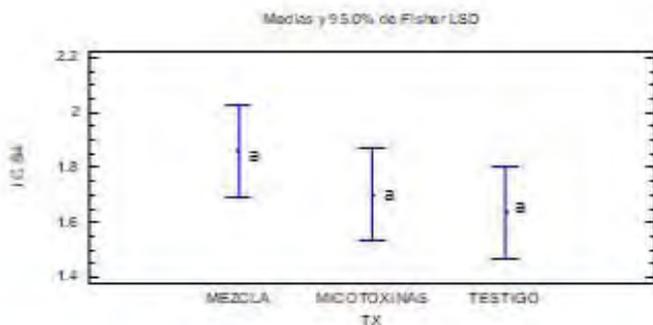
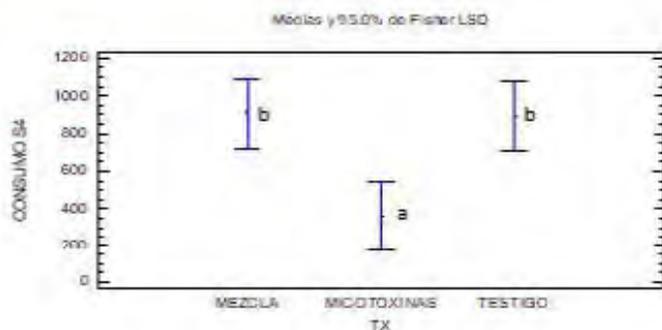
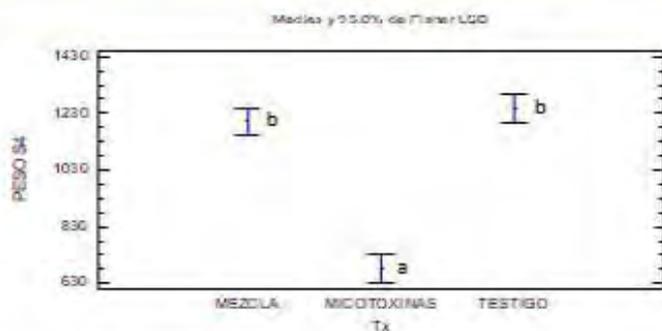
Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. Mezcla= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Gráfico 3. Indicadores productivos: peso (g), consumo alimenticio (g), índice de conversión (I.C) para la semana 3



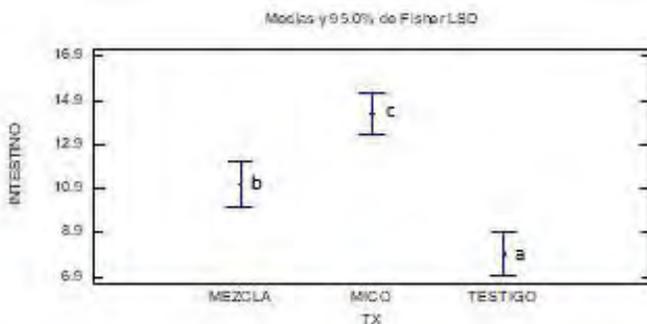
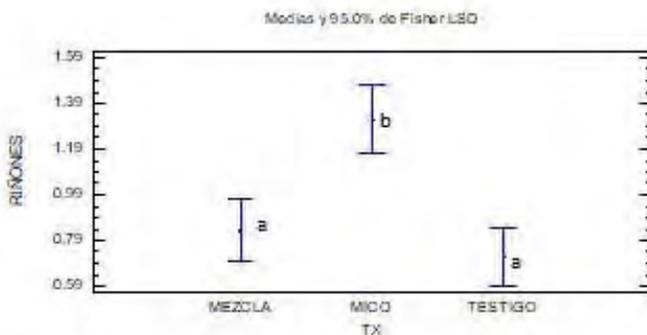
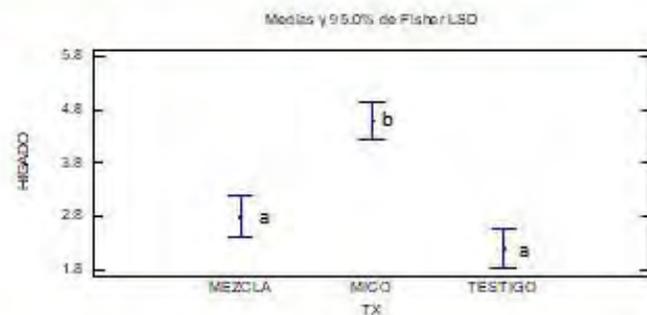
Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. Mezcla= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Gráfico 4. Indicadores productivos: peso (g), consumo alimenticio (g), índice de conversión (I.C) para la semana 4



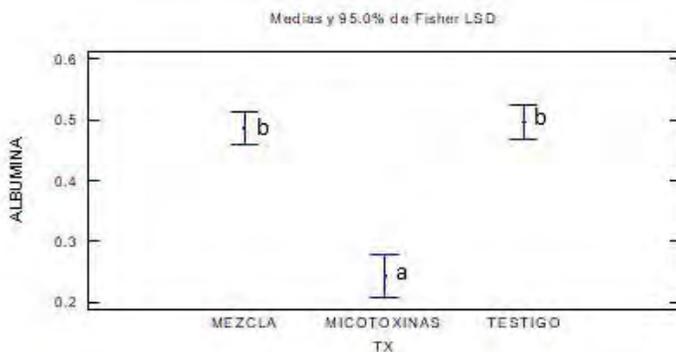
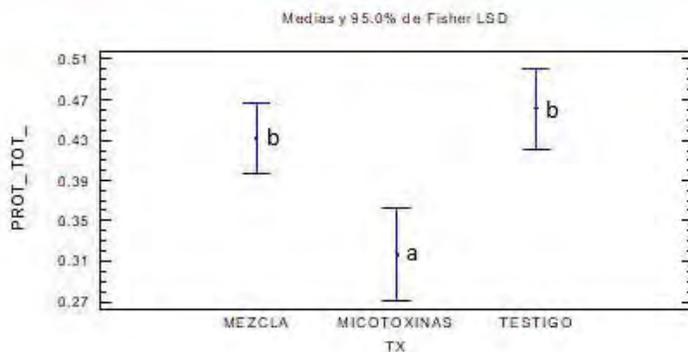
Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. Mezcla= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Gráfico 5. Peso relativo: hígado (%), riñones (%), intestino (%).



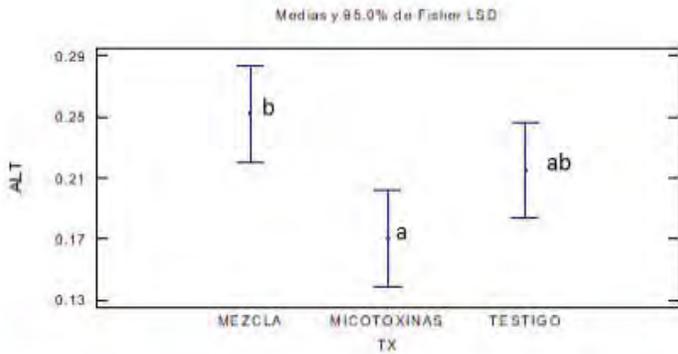
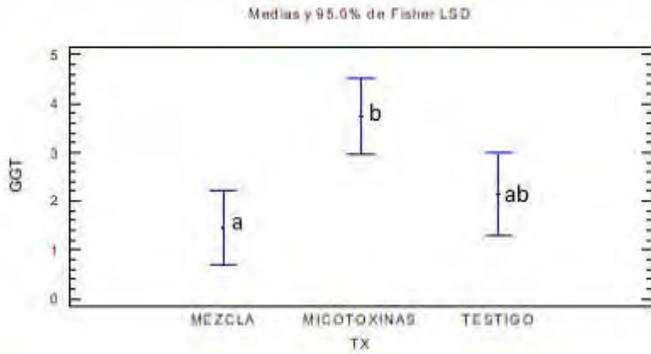
Micotoxinas= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1. Mezcla= 200 µg/kg AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$.

Gráfico 6. Proteínas totales y albúmina



Micotoxinas= 200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ AFB1 + 1 mg/kg FB1. Mezcla= 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

Gráfico 7. *Gammaglutamil transpeptidasa (GGT), alaninoamino transferasa (ALT)*



Micotoxinas= 200 $\mu\text{g/kg}$ AFB1 + 1 mg/kg FB1. Mezcla= 200 $\mu\text{g/kg}$ AFB1 + 1 mg/kg FB1 + 0.7 kg/T PCL + 0.3 kg/T. Bentonita. Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

REDITUABILIDAD

1. Costo pollitos.

# Pollos	Costo
1	\$ 9.00
1000	\$ 9,000.00
10000	\$ 90,000.00

2. Consumo de alimento acumulado.

TESTIGO

# Pollos / Días	1		1000		10000	
	Kg	Costo	Kg	Costo	Kg	Costo
21	0.692	\$ 4.27	691.780	\$ 4,268.28	6917.80	\$ 42,682.83
28	1.585	\$ 9.78	1585.28	\$ 9,781.18	15852.80	\$ 97,811.78
49	5.689	\$ 35.10	5689.40	\$ 35,103.60	56894.00	\$ 351,035.98

MICOTOXINAS

# Pollos / Días	1		1000		10000	
	Kg	Costo	Kg	Costo	Kg	Costo
21	0.340	\$ 2.10	339.810	\$ 2,096.63	3398.100	\$ 20,966.28
28	0.700	\$ 4.32	700.120	\$ 4,319.74	7001.200	\$ 43,197.40
49	2.177	\$ 13.43	2177.050	\$ 13,432.40	21770.500	\$ 134,323.99

MEZCLA

Días/# Pollos	1		1000		10000	
	Kg	Costo	Kg	Costo	Kg	Costo
21	0.596	\$ 3.68	595.840	\$ 3,676.33	5958.400	\$ 36,763.33
28	1.506	\$ 9.29	1506.180	\$ 9,293.13	15061.800	\$ 92,931.31
49	5.694	\$ 35.13	5694.240	\$ 35,133.46	56942.400	\$ 351,334.61

3.Adición de Aditivos.

PCL

Días/# Pollos	1		1000		10000	
	g/Kg	Costo	g/Kg	Costo	g/Kg	Costo
21	0.417	\$ 0.008	417.088	\$ 8.342	4170.880	\$ 83.418
28	1.054	\$ 0.021	1054.200	\$ 21.084	10542.000	\$ 210.840
49	3.986	\$ 0.080	3985.800	\$ 79.716	39858.000	\$ 797.160

BENTONITA

Días/# Pollos	1		1000		10000	
	g/Kg	Costo	g/Kg	Costo	g/Kg	Costo
21	0.179	\$ 0.01	178.752	\$ 8.94	1787.520	\$ 89.38
28	0.452	\$ 0.02	451.800	\$ 22.59	4518.000	\$ 225.90
35	0.798	\$ 0.04	797.700	\$ 39.89	7977.000	\$ 398.85
42	1.217	\$ 0.06	1216.500	\$ 60.83	12165.000	\$ 608.25
49	1.708	\$ 0.09	1708.200	\$ 85.41	17082.000	\$ 854.10

MEZCLA (Alimento + Aditivos)

Días/# Pollos	1	1000	10000
	Costo	Costo	Costo
21	\$ 3.69	\$ 3,693.61	\$ 36,936.12
28	\$ 9.34	\$ 9,336.80	\$ 93,368.05
49	\$ 35.30	\$ 35,298.59	\$ 352,985.87

4. Producción Peso vivo

TESTIGO

Días/ Tx	1		1000		10000	
	Kg	\$ Venta	Kg	\$ Venta	Kg	\$ Venta
21	0.717	\$ 33.70	716.930	\$ 33,695.71	7169.30	\$ 336,957.10
28	1.249	\$ 58.72	1249.300	\$ 58,717.10	12493.00	\$ 587,171.00
49	4.066	\$ 191.10	4066.040	\$ 191,103.88	40660.40	\$ 1,911,038.80

MICOTOXINAS

Días/ Tx	1		1000		10000	
	Kg	\$ Venta	Kg	\$ Venta	Kg	\$ Venta
21	0.393	\$ 18.49	393.32	\$ 18,486.04	3933.20	\$ 184,860.40
28	0.682	\$ 32.03	681.56	\$ 32,033.32	6815.60	\$ 320,333.20
49	2.991	\$ 140.56	2990.64	\$ 140,560.08	29906.40	\$ 1,405,600.80

MEZCLA

Días/ Tx	1		1000		10000	
	Kg	\$ Venta	Kg	\$ Venta	Kg	\$ Venta
21	0.713	\$ 33.49	712.600	\$ 33,492.20	7126.00	\$ 334,922.00
28	1.213	\$ 57.01	1212.930	\$ 57,007.71	12129.30	\$ 570,077.10
49	4.001	\$ 188.05	4001.000	\$ 188,047.00	40010.00	\$ 1,880,470.00

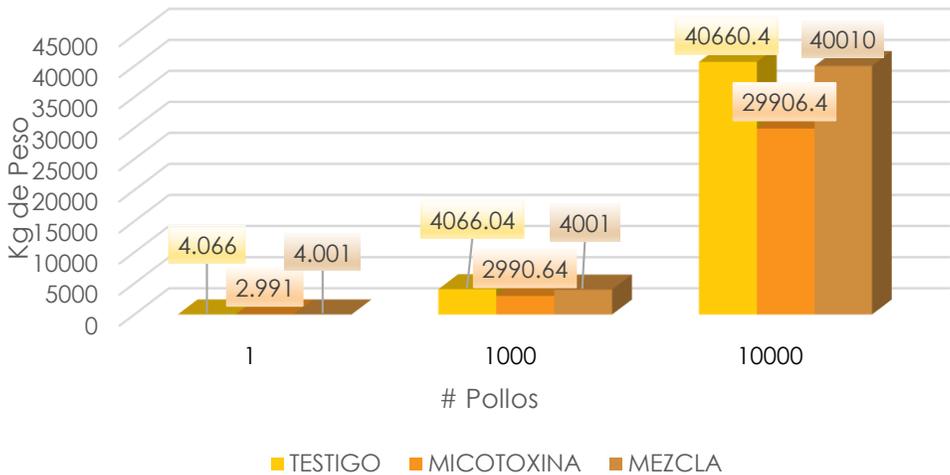
5.Ganancia

		Costo Alimento	Venta Peso vivo	Ganancia
Tx		1	1	1
Testigo	21	\$ 4.27	\$ 33.70	\$ 29.43
	28	\$ 9.78	\$ 58.72	\$ 48.94
	49	\$ 35.10	\$ 191.10	\$ 156.00
Micotoxinas	21	\$ 2.10	\$ 18.49	\$ 16.39
	28	\$ 4.32	\$ 32.03	\$ 27.71
	49	\$ 13.43	\$ 140.56	\$ 127.13
Mezcla	21	\$ 3.69	\$ 33.49	\$ 29.80
	28	\$ 9.34	\$ 57.01	\$ 47.67
	49	\$ 35.30	\$ 188.05	\$ 152.75

		Costo Alimento	Venta Peso vivo	Ganancia
Tx		1000	1000	1000
Testigo	21	\$ 4,268.28	\$ 33,695.71	\$ 29,427.43
	28	\$ 9,781.18	\$ 58,717.10	\$ 48,935.92
	49	\$ 35,103.60	\$ 191,103.88	\$ 156,000.28
Micotoxinas	21	\$ 2,096.63	\$ 18,486.04	\$ 16,389.41
	28	\$ 4,319.74	\$ 32,033.32	\$ 27,713.58
	49	\$ 13,432.40	\$ 140,560.08	\$ 127,127.68
Mezcla	21	\$ 3,693.61	\$ 33,492.20	\$ 29,798.59
	28	\$ 9,336.80	\$ 57,007.71	\$ 47,670.91
	49	\$ 35,298.59	\$ 188,047.00	\$ 152,748.41

		Costo Alimento	Venta Peso vivo	Ganancia
Tx		10000	10000	10000
Testigo	21	\$ 42,682.83	\$ 336,957.10	\$ 294,274.27
	28	\$ 97,811.78	\$ 587,171.00	\$ 489,359.22
	49	\$ 351,035.98	\$ 1,911,038.80	\$ 1,560,002.82
Micotoxinas	21	\$ 20,966.28	\$ 184,860.40	\$ 163,894.12
	28	\$ 43,197.40	\$ 320,333.20	\$ 277,135.80
	49	\$ 134,323.99	\$ 1,405,600.80	\$ 1,271,276.81
Mezcla	21	\$ 36,936.12	\$ 334,922.00	\$ 297,985.88
	28	\$ 93,368.05	\$ 570,077.10	\$ 476,709.05
	49	\$ 352,985.87	\$ 1,880,470.00	\$ 1,527,484.13

PROYECCIÓN PESO ACUMULADO AL DÍA 49



Proyección de ganancias al día 49

