



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

EL POLLO DE ENGORDA COMO MODELO DE ESTUDIO
DEL EFECTO DE LAS AFLATOXINAS Y LAS
FUMONISINAS.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA

TUTOR.:

ERNESTO MORENO MARTÍNEZ

COMITÉ TUTORAL:

CARLOS LÓPEZ COELLO

ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**EL POLLO DE ENGORDA COMO MODELO DE
ESTUDIO DEL EFECTO DE LAS AFLATOXINAS Y LAS
FUMONISINAS.**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA

TUTOR.:

ERNESTO MORENO MARTÍNEZ

COMITÉ TUTORAL:

CARLOS LÓPEZ COELLO

ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ

DECLARACIÓN

La tesis es el resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indique lo contrario, dándose reconocimiento a las fuentes de información consultadas. El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

Juan Carlos Del Río García.

*No vuelvas la espalda
a los futuros posibles
antes de estar seguro de que no tienes
nada que aprender de ellos....*

*Nunca
te conceden un deseo
sin concederte también la facultad
de hacerlo realidad.....*

Richard Bach

(Ilusiones)

DEDICATORIA

A DIOS... MI ÁNGEL

Por ser camino y no un finpor estar siempre conmigo.

A MIS PADRES Y ABUELITOS

Por su ejemplo de honestidad, deseos y perseverancia. Pero sobre todo por su amor.....

A mis abuelitos por que aún están conmigo, sin estar.....

CON AMOR Y CARIÑO

A Juan Carlitos, Karlita, Marianita y Ana por que siempre han sido motivo e ilusión en mi vida

A MI HERMANOS Y SOBRINOS

José Luis, Paty, Martha y Alejandro por tener su apoyo en todo momento, los quiero mucho. A Blanca y mis sobrinos Adriana, Laura, Karen, Moni, Luis A y Rodrigo por ser tan especiales y recordarme que la sencillez es lo más hermosos del mundo.

A MIS TÍOS Y PRIMOS

Guillermo, Patrocinio, Cristi, Carolina, Jesús, Memo, Francisco, Migue por ser unos padres y unos hermanos para mi y mi familia, no se imaginan cuanto los quiero.

A MIS AMIGOS

Emma, Norhan, Alicia, Diana, Araceli, Rosy, Tony, Michellin, Yaz, Mary, Verosca, Laurichi, Carolina, Nelli, Lidia, Vicente (gordito), Gerardo (lobo), Ricardo (dumbín), Omar, Juan Sebastian, Ernesto Marín, Jesús, Rubén, Fco Morales, Guillermo Valdivia, Alejandro Martínez, Denis A todos ustedes por brindarme su amistad..., ya saben que el orden no es importante y tampoco altera el cariño que les tengo ;

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - Universidad Nacional Autónoma de México

Por ser una gran institución y por permitirme formar parte de la “**MAXIMA CASA DE ESTUDIOS**”.

A la Unidad de Investigación en Granos y Semillas y al Depto. de Ciencias de la Salud Animal: Patología

Por darme la oportunidad de formar parte del equipo de investigadores y profesores que día a día me hace crecer profesionalmente.

Al INRA- Toulouse, Francia

Especialmente a la **Dra. Isabelle Oswald, Isabelle Goiffon y Philippe Pinton** por su amistad, hospitalidad y enseñanzas durante mi estancia en el laboratorio de Farmacología y Toxicología. Y por mostrarme otra perspectiva de la vida y de la investigación.

Al comité tutorial

Dr. Ernesto Moreno Martínez, Dr. Ernesto Ávila González y al Dr. Carlos López Coello. Gracias por todo el apoyo que he tenido de ustedes, por compartir sus conocimientos que me han ayudado a finalizar este proyecto, así como de su amistad. Espero tener la oportunidad de trabajar nuevamente con ustedes en proyectos futuros, para seguir creciendo profesionalmente y como persona.

A los miembros del jurado

Dr. Ernesto Moreno Martínez, Dr. Ernesto Ávila González y al Dr. Carlos López Coello, por que no solo me enseñaron a iniciarme en la investigación y que aun tengo mucho camino por recorrer Si no que me enseñaron el valor de hacer investigación. **Dr. René Rosiles Martínez,** gracias por sus observaciones que pueden parecer muy duras, pero me han ayudado mucho, gracias por aceptar ser parte de mi jurado para mi es importante. **Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez,** gracias por las observaciones y el apoyo brindado durante el desarrollo de este trabajo.

A todos ustedes por enriquecer con sus conocimientos y comentarios esta tesis, por su gran confianza y gran calidad humana.

TABLA DE CONTENIDO

1. Generalidades.	1
1.1 Producción pecuaria en México.	1
1.2 Alimentación e insumos en la producción animal.	1
1.3 Contaminación por hongos.	4
1.4 Micotoxicosis.	5
1.5 Distribución geográfica de las micotoxinas.	7
2. <i>Aspergillus</i> spp y Aflatoxinas.	8
2.1 Toxicidad.	9
2.2 Toxicodinamia.	12
2.3 Aflatoxicosis en pollos de engorda.	12
2.4 Dosis.	13
2.5 Signos clínicos.	14
2.6 Análisis de laboratorio.	16
2.7 Alteraciones morfológicas.	17
3. <i>Fusarium</i> spp y Fumonisinias.	18
3.1 <i>Fusarium</i> spp.	18
3.2 Fumonisinias.	19
3.3 Estructura química.	19
3.4 Mecanismo de acción.	20
3.5 Fumonitoxicosis en pollos.	21
3.6 Análisis de laboratorio.	22
3.7 Signos clínicos y alteraciones morfológicas.	22
4. Interacción de las aflatoxinas y las fumonisinias.	22
5. Hipótesis General.	24
5.1 Hipótesis particulares.	24
6. Objetivos.	25
7. Justificación.	26
8. Material y métodos.	27
9. Diseño experimental.	28
10. Análisis estadístico.	28
11. Literatura citada.	29
12. Discusión General.	37
13. Comentarios Generales del Proyecto.	41
14. Conclusiones.	42

15. Literatura citada de la discusión.	43
16. Anexos.	48

- a) **Del Río GJC**, Ávila GE, Casaubon HMaT, Rosiles MR, Ledesma MN, Petrone MV, Moreno ME. Efecto del 25-hidroxicolecalciferol en presencia de aflatoxina B₁, sobre el rendimiento productivo y patología de patas del pollo de engorda. REDVET, Ref 120604, 2006; Vo. VII, No. 12.
- b) **Del Río GJC**, Moreno RC, Pinton P, Mendoza ES, Oswald I. Evaluación de la citotoxicidad de la aflatoxina y la fumonisina en células intestinales de porcino. Rev. Iberoam Micol, 2007; 24: 136-141.
- c) A. Méndez-Albores, **J.C. Del Río-García**, E. Moreno-Martínez. Decontamination of aflatoxin duckling feed with aqueous citric acid treatment. Anim Feed Sci Tech, 2007: 249-262.
- d) **Del Río JCG**, Moreno RC, López CC Ávila GE, García CD¹, Hernández VAM⁴, Méndez AA, Moreno ME. El pollo de engorda como modelo de estudio del efecto conjunto de las aflatoxinas y las fumonisinas (trabajo a publicar).

RESUMEN

El estudio del efecto de la combinación de las micotoxinas a tomado un gran significado para la salud humana y animal, ya que es la forma en que se presentan estos compuestos en la naturaleza, por lo tanto, el riesgo está relacionado a la presencia de dos o mas metabolitos tóxicos biológicamente activos y su combinación en el alimento, generando un efecto de interacción enmarcado dentro de los principios de toxicología de sinergismo o de aditividad. Se realizaron una serie de trabajos experimentales con la finalidad de ajustar las concentraciones de micotoxinas a utilizar en el trabajo final, del mismo modo estos sirvieron para preparar la metodología de recopilación de datos, muestreo sanguíneo y de órganos, así como de ajustar las técnicas de laboratorio para la evaluación del hematocrito, proteínas, transaminasas y bilirrubinas séricas. En la investigación final se observó que la presencia de aflatoxinas y fumonisinas (AFBs+FBs) disminuyen el peso de las aves ($p<0.05$). El peso relativo de hígado, riñón y bazo se ven afectados en presencia de algún tipo de micotoxina o su combinación respecto al testigo ($p<0.05$). Del mismo modo el hematocrito, proteínas, transaminasas y bilirrubinas se ven afectadas significativamente en las aves que consumieron AFBs+FBs ($p<0.05$). Este trabajo es el primer estudio en México que pone de manifiesto que concentraciones menores a 200 o 300 mg de FB /kg de alimento en combinación con 1 mg de AFB /kg de alimento inciden negativamente sobre el desempeño y la salud del pollo de engorda bajo las condiciones experimentales empleadas.

Palabras claves: Aflatoxina B₁ | Fumonisina B₁ | Pollo de engorda | Interacción |

Summary

The research of the combined effect of mycotoxins had taken a relevant significance in human and animal health, since this is the most frequent form of presentation in nature. There is risk related between the presence of two or more biologically active toxic metabolites or its combination in feed and health, such toxins combination could give place of two meanings of toxicology: synergism or additivity. A serie of some experiments to establish the mycotoxins concentration and administration methodology for the final research were done. The experiments were also used to establish the methodology for: data recollection, blood and organs sampling, standardized clinical laboratory techniques for hematocrit, protein, transaminases and seric bilirrubines. In the last experiment was observed that aflatoxins and fumonisins (AFBs+FBs) present in the broilers feed decreased weight gain ($p < 0.05$). The presence of any kind of mycotoxins or its combinations, had negative effect on the relative weight of liver, kidney and spleen when compared with the negative control group ($p < 0.05$). At the same time, the broilers fed with combination of AFBs+FBs showed a negative effect in the hematocrit, protein, transaminases and seric bilirrubine values ($p < 0.05$). This study is the first in Mexico, that showed that mycotoxin concentrations lower to 200 or 300 mg of FB /kg in combination with 1 mg of AFB /kg in broilers feed, had a negative effect in general production performance and health of broilers chicks under the experimental conditions employed.

Key word; Aflatoxins B1 (AFB) | Fumonisin B1 (FB) | Boilers | Synergism.

El pollo de engorda como modelo de estudio del efecto de las aflatoxinas y las fumonisinas.

1. Generalidades.

1.1 Producción pecuaria en México.

En los últimos años la evolución de la economía mexicana se tradujo en una mayor demanda por alimentos, punto fundamental para el crecimiento de la ganadería, dentro de la cual la avicultura alcanzó el mayor crecimiento. La producción de carne de pollo en 2005 fue de 2,436,534.2 toneladas, en tanto que las importaciones, principalmente para el abasto de la industria empacadora, se mantuvieron en el orden de las 360,750.3 toneladas. Con base en lo anterior se determina que el Consumo Nacional Aparente (CNA) de carne de pollo se situó en 2,797,284.5 toneladas, con base en lo cual la disponibilidad por habitante al año fue prácticamente de 26,3 kg, consolidándose como la carne más consumida en México, absorbiendo más del 42% del mercado de carnes de nuestro país. (INEGI,2006).

1.2 Alimentación e insumos en la producción animal.

Al igual que en otras ramas de la producción ganadera, el aumento de los volúmenes de producción avícola conlleva al crecimiento de su consumo de alimentos balanceados y, por tanto, de granos forrajeros y oleaginosas, los que conforman parte fundamental de las dietas aplicadas para obtener los mayores índices de productividad, aprovechando para ello el potencial productivo que la mejora genética confiere a las aves de engorda (Ávila, 1990, Cuca y Avila., 1996; D'Mello *et al.*, 1997).

Se estimó que durante 1999 la engorda de pollo, así como el mantenimiento del pie de cría requirió de 3.5 millones de toneladas de granos forrajeros lo que implicó un crecimiento del 5.8% en esta demanda. Con estas cotas de consumo, la avicultura productora de carne se mantiene como la segunda área demandante de granos, los que representan el 24% y el 35% de los requerimientos globales de la ganadería por granos y pastas, respectivamente (INEGI, 2000).

La alimentación corresponde entre el 65 y 70% de los gastos en una explotación, por lo que es un factor de suma importancia para la producción animal, sin embargo por medio de un buen manejo se puede obtener una mejor eficiencia y calidad en la producción. Sin embargo, existen una serie de factores que modifican la calidad tanto nutritiva como organoléptica de los alimentos traduciéndose en deficiencias y pérdidas en la producción animal, entre los factores se encuentran principalmente la contaminación proveniente de:

- Insectos (Gorgojo del frijol; Gorgojos del maíz).
- Microorganismos patógenos bacterianos.
- Sustancias químicas.
- Metabolitos producidos por hongos.

Una de las principales contaminación de alimentos agrícolas y pecuarios ocurre con los metabolitos secundarios (micotoxinas) producidos por hongos constituyendo un problema sanitario en escala mundial. Árpád y Radomir (1999), menciona que se han aislado e identificado cerca de 100,000 especies de hongos, de los cuales 400 pueden ser considerados potencialmente tóxicos, sin embargo de estos 400 especies de hongos en la actualidad solo se conocen el 5%. Los hongos pueden invadir a los granos desde el campo ó en el almacén provocando una disminución en la calidad nutritiva y organoléptica en los alimentos invadidos, dentro de los cambios observados en los alimentos podemos mencionar:

a) Modificación de las características organolépticas del alimento: como olor, sabor, decoloración, apelmazamiento y disminución de la fluidez. Es evidente que todo esto conduce a una significativa disminución de la calidad de la ración (Gimeno, 1991; Jelinek *et al.*, 1989).

b) Deterioro y reducción de las características nutritivas del alimento: en las fases de proliferación y crecimiento fúngico hay un consumo de nutrientes básicos por parte de los mohos y levaduras produciéndose una degradación de proteínas, grasas e hidratos de carbono así como también alteraciones en los valores vitamínicos. Todo esto conduce a una disminución del valor proteico, y energético de los alimentos (Christensen y Sauer, 1982; Gimeno, 1991; Jelinek *et al.*, 1989).

c) Segregación masiva de enzimas que provoca reacciones de lisis fuertemente exotérmicas.

Es evidente que este calor perdido disminuye el valor energético original del alimento afectado. Por otro lado se pueden ocasionar explosiones e incendios por la acumulación en los silos del metano y otros gases inflamables que se desprenden en los procesos metabólicos de los hongos durante el ataque a las materias primas y piensos compuestos (Christensen y Sauer, 1982; Gimeno, 1991; Jelinek *et al.*, 1989).

d) Reducción de peso en el producto almacenado (mermas) debido a que los hongos consumen los carbohidratos del grano para sobrevivir y reproducirse (Moreno y Gutiérrez, 1992).

e) Contaminación de las materias primas y piensos compuestos por metabolitos secundarios tóxicos llamados micotoxinas y producidos por algunas especies y estirpes fúngicas con capacidad genética para producirlas dentro de ciertas condiciones físicas, químicas y biológicas (Hamilton, 1976; Moreno y Gutiérrez, 1992; Ellis *et al.*, 1991; Placinta *et al.*, 1999).

En los animales las micotoxinas provocan:

- a) **Rechazo** del alimento por parte de los animales debido a la alteración de las características organolépticas (Placinta *et al.*, 1999).
- b) **Disminución** del índice de transformación de nutrientes en el animal por una deficiencia nutritiva y energética (Placinta *et al.*, 1999).
- c) **Implantación** de micosis en los animales con la producción de enfermedades y problemas ocasionados por diferentes géneros de hongos como *Aspergillus fumigatus*, *A.flavus*, *A.nidulans*, *A.niger* (Gimeno, 1991; Smith y Hamilton, 1970)
- d) **Micotoxicosis**. Ciertos hongos poseen la capacidad genética de sintetizar metabolitos tóxicos, causantes de diversos trastornos en el desarrollo y en la producción animal, además de ser un riesgo potencial para la salud humana al quedar residuos de estas toxinas en la carne, leche o huevo (Moreno y Gutiérrez, 1992; Hamilton, 1976; Visconti *et al.*, 1999; Placinta *et al.*, 1999).

1.3 Contaminación por hongos.

Los hongos son organismos autótrofos, incapaces de sintetizar materia orgánica lo que los obliga a vivir como parásitos o saprobios, aprovechando desarrollares sobre un sustrato que contenga los diversos nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo. De acuerdo al momento del desarrollo y contaminación de los hongos se han clasificado en tres grandes grupos 1) hongos de campo, 2) hongos de almacén y 3) hongos de deterioro avanzado (Christensen y Sauer, 1982; Gimeno, 1991; Moreno y Gutiérrez, 1992)

- a) Hongos de campo: son agentes causales de enfermedades de los cultivos e invaden a los granos en el campo siendo los mas importantes por el daño que ocasionan son: *Fusarium*, *Alternaria*, *Aureobasidium* (*Pullularia*), *Acremonium* (*Cephalosporium*), *Cladosporium*, *Diplodia maydis*.
- b) Hongos de almacén: se desarrollan principalmente bajo condiciones de elevada humedad relativa, después de la cosecha, durante el transporte, el secado lento, el

almacenamiento y el procesado de los granos, en su mayoría compuestos por los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* principalmente.

- c) Hongos de deterioro: los cuales necesitan altos contenidos de humedad para su desarrollo y en la naturaleza se les encuentra colonizando materia orgánica en proceso de descomposición, siendo el caso de los hongos: *Absidia*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus niger* y *Rhizopus* entre otros.

De los hongos anteriormente mencionados algunos de ellos poseen la capacidad de sintetizar micotoxinas, sustancias químicas altamente peligrosas para la salud animal, causando mortalidad o bien baja eficiencia productiva, la cual se traduce en grandes pérdidas económicas, en la productividad animal y un riesgo para la salud humana (Christensen y Sauer, 1982; Gimeno, 1991; Moreno y Gutiérrez, 1992; Árpád, 1999).

De la gran variedad de hongos existentes en los diversos ecosistemas, los principales géneros que producen micotoxinas son *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, siendo las especies más reconocidas *Aspergillus flavus* Link; *Aspergillus parasiticus* Speare, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium niger*, que sintetizan toxinas altamente hepatotóxicas, nefrotóxicas, inmuno depresoras y cancerígenas para los animales domésticos, aves y seres humanos. (D'Mello *et al.*, 1999; D'Mello y Macdonald, 1997; Rustom, 1997).

1.4 Micotoxicosis.

Las mayoría de las micotoxinas son compuestos policetónicos resultantes de las reacciones de condensación que tienen lugar cuando se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos realizada por los hongos, estos ácidos grasos son metabolitos primarios los cuales son utilizados como reservorio de energía (Jelinek *et al.*, 1989 ; Gimeno, 1991; Ellis *et al.*, 1991 ; Coulombe, 1993; D'Mello *et al.*, 1999).

Existe una serie de factores que son determinantes para el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas, como los siguientes:

- A) **Humedad relativa** : Es la cantidad de agua existente en el ambiente y a la cual pueden disponer los microorganismos, una vez alcanzado el equilibrio entre la humedad del producto y el vapor de agua del ambiente. Este se expresa como porcentaje, valores inferiores al 65% representan un escaso crecimiento fúngico, el crecimiento y la proliferación se acelera con porcentajes mayores al 75 % (Moreno y Gutiérrez, 1992; Christensen and Sauer, 1982).

- B) **Temperatura**: la temperatura óptima para el crecimiento de los hongos se encuentra entre 25° y 30° C, sin embargo algunos autores (Christensen and Sauer, 1982) indican una temperatura de 36° a 38° C y el límite máximo entre 40° y 45° C, no obstante *Aspergillus flavus*; *A. candidus*; y *A. fumigatus* pueden crecer sin problemas hasta 55° C. Hay que destacar que la mayoría de los hongos no crecen por debajo de 5° C (Moreno y Gutiérrez, 1992; Gimeno, 1991).

- C) **Integridad del grano**: los granos partidos son mas susceptibles a la invasión y desarrollo fúngico (Moreno y Gutiérrez, 1992).

- D) **Sustrato**: en general los hongos se nutren de los micro y macroelementos existentes en cualquier material orgánico; sin embargo la producción de micotoxinas si está ligada a la composición del sustrato del tipo del grano en donde se realiza la invasión como es el maíz, trigo y sorgo entre otros (Scudamore *et al.*, 1998; Christensen and Sauer, 1982).

- E) **Oxígeno**: la mayor parte de los hongos son aerobios, una carencia de oxígeno condiciona su crecimiento. El anhídrido carbónico puede inhibir la formación de algunas micotoxinas (como puede ser la aflatoxina) (Gimeno, 1991).

La sola presencia de hongos en un determinado producto, aún de una cepa productora de micotoxina no significa que la micotoxina esté presente o que se vaya a producir, para que suceda eso se requiere que concurren las condiciones ambientales de temperatura, humedad, sustrato y tiempo de incubación; sin embargo puede ocurrir el hecho de detectar la micotoxina sin la presencia del o los hongos productores, ya que éstos y sus esporas pueden haber sido eliminados, no ocurriendo lo mismo con las micotoxinas, que permanecen en el sustrato (Christensen and Sauer, 1982; Jelinek *et al.*, 1989; Moreno y Gutiérrez, 1992; Juskiewicz y Piskorska-Pliszczynska, 1992).

1.5 Distribución geográfica de las micotoxinas.

En Canadá y Estados Unidos de Norteamérica las micotoxinas más frecuentes son la ocratoxina, vomitoxina y zearalenona, mientras que las aflatoxinas lo son México. En el Norte de Europa se presentan comúnmente la ocratoxina, vomitoxina y zearalenona y en el subcontinente Indio y Africa las aflatoxinas y fumonisinas (Sweeney y Dobson, 1998).

En todos los Continentes las diferencias climáticas entre el Norte, Centro y Sur favorecen el desarrollo de distintas especies de hongos. Las aflatoxinas son comunes en condiciones climáticas húmedas y cálidas como las que existen en América Latina, Asia y África y en ciertos lugares de Australia. Sin embargo durante el invierno se presentan las condiciones de humedad que junto con la temperatura dan las condiciones ideales para la fumonisina, zearalenona, vomitoxina, toxina T2 y ocratoxina (D'Mello, 1999; Jelinek *et al.*, 1989; Juskiewicz y Piskorska-Pliszczynska, 1992; Placinta *et al.*, 1999).

2. *Aspergillus* spp Y AFLATOXINAS.

Las aflatoxinas son un grupo de metabolitos heterocíclicos sintetizados principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* (Ellis *et al.*, 1991). Se conocen 18 tipos de aflatoxinas, las aflatoxina B1, B2, G1 y G2 son compuestos de ocurrencia natural, mientras que metabolitos como M1, M2, P1, Q1 y Aflatoxicol (Ro) entre otros, son resultado de la acción de microbios o del metabolismo del organismo sobre las 4 principales micotoxinas (Smith y Ross, 1991). Las principales aflatoxinas sintetizadas por *Aspergillus flavus* son la B1 y B2, mientras que *Aspergillus parasiticus* sintetiza los 4 tipos naturales (FIGURA 1).

Químicamente las aflatoxinas son difurocumarolactonas (Rao y Joshi, 1993), formadas por un anillo bifuran unido a un núcleo de cumarina y un anillo de pentona (AFB y AFM) o bien un anillo lactona (AFG).

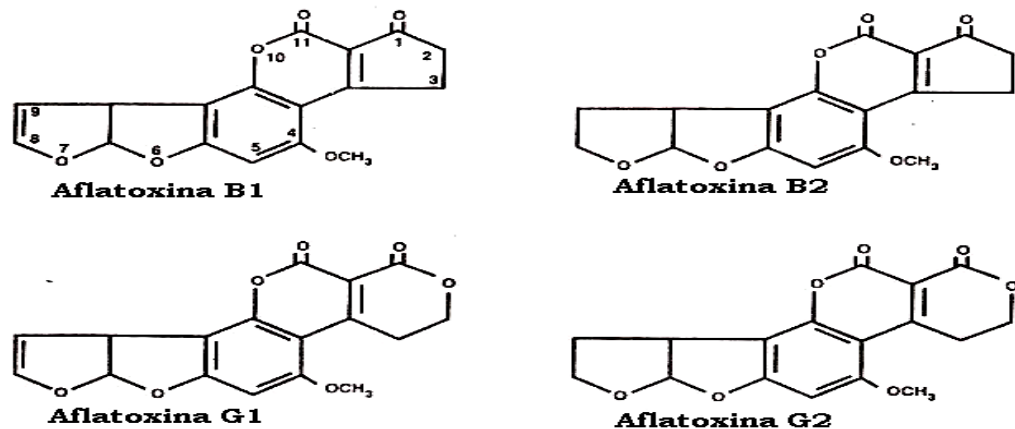


Figura 1. Estructura química de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2.

Las cepas aflatoxígenas de *A. flavus* han sido aisladas a lo largo del mundo (Takahashi, 1993; FAO, 1999). Jelinek *et al* (1989) reportan que las concentraciones de aflatoxina en granos analizados por ellos esta entre 5 y 50 µg/kg de alimento. Diversos investigadores han determinado la ocurrencia de aflatoxina en alimentos para pollos, por ejemplo Shetty *et al.* (1987) mencionan como precedente, que de 31 muestras analizadas en Nigeria, el 19% contenían aflatoxina con concentraciones entre 30 a 1,610 µg/kg de alimento y las de

Egipto (1,175 muestras de alimento para pollo) el 30.7% contenían aflatoxina en rangos que iban de 1 a 2000 µg/kg de alimento, mientras que Jindal *et al* (1993) de 240 muestras analizadas en la India, reporta que todas las muestras fueron positivas a aflatoxinas con cantidades que van de 7 a 11,600 µg/kg de alimento.

2.1 Toxicidad.

La aflatoxina B1 está clasificada como la más tóxica (LD₅₀ 1-50 mg/kg de pv) para muchas especies animales. Las especies más susceptibles a AFB1 son los patos, conejos y gatos mientras que los ratones, hámster, ratas y pollos son más resistentes. Con respecto a las especies aviares los patos son los más sensibles seguidos de los pavos, gansos, faisanes, pollos de engorda y gallinas (Muller *et al.*, 1970).

El efecto tóxico de las aflatoxinas depende de la dosis, la concentración y del tiempo de exposición, por lo que se puede distinguir procesos de curso agudo caracterizados por hemorragias severas, anorexia, depresión y muerte (Osweiller *et al.*, 1985) o bien desarrollar cuadros de curso crónico, donde se presenta una disminución en la ganancia de peso, mala conversión alimenticia, inmunodepresión e incluso desarrollo de procesos neoplásicos principalmente en hígado (Smith y Ross, 1991).

Para que las aflatoxinas puedan causar daño es necesario que ocurra absorción, distribución, biotransformación y la acumulación residual dentro de un organismo. El principal sitio de absorción es el aparato digestivo seguido del pulmón y de la piel y esto se debe a que las aflatoxinas son compuestos liposolubles (Sawhney *et al.*, 1973; Klaassen y Rozman, 1991) por lo que fácilmente son absorbidas, para posteriormente llegar al torrente circulatorio y de ahí distribuirse hacia los tejidos blandos y depósitos de grasa en los pollos, sin embargo la mayor acumulación ocurre en los órganos involucrados en la biotransformación y eliminación de los alimentos, como son el hígado y el riñón, esto fue observado por Sawhney *et al* (1973), quienes administraron aflatoxina marcada con carbono 14 en dosis única, detectando pocos minutos después de la toma la presencia en hígado y riñón principalmente, así como en otros tejidos (músculo, tejido adiposo y piel).

La biotransformación básicamente es una reacción enzimática consistente en una oxidación, reducción, hidrólisis y conjugación con diferentes sustancias para su posterior excreción (FIGURA 2). La AFB1 es biotransformada por la enzima citocromo P-450 mitocondrial en un metabolito hidrosoluble, dando origen a la aflatoxina M1, Q1, P1 y Ro localizadas principalmente en hígado (estos compuestos son mucho menos tóxicos que la AFB1), otra enzima que también se ha visto involucrada es el citocromo P-488 (Yoshisawa *et al.*, 1982). Los pollos de engorda y las gallina de postura pueden metabolizar la mayoría de la AFB1 cuando es administrada en dosis relativamente bajas (Chiple *et al.*, 1974), por ejemplo Patterson (1973) reporta que los pollos, cerdos y ratones metabolizan la AFB1 en pequeñas cantidades de M1 (5 - 10%), mientras que la mayoría da origen a la aflatoxina B_{2a} (hemiacetilato). Este hemiacetilato se ha demostrado que no es tóxico para embriones de pollo en dosis 100 veces mayores a la LD₅₀ de AFB1. Otro metabolito importante es la aflatoxina 8,9 epoxoide, la cual tiene una alta afinidad por sitios nucleofílicos del DNA celular, por lo que se cree que es la responsable del efecto carcinogénico y mutagénico de la AFB1 (Ashoor y Chu, 1975).

Otro de los compuestos resultantes de la reducción del grupo carboxilo de AFB1 y AFB2 es el aflatoxicol. Este compuesto a diferencia de los anteriores no se origina de la acción de enzimas microsomales, depende de enzimas localizadas en el citosol. Si el aflatoxicol sufre una re-oxidación por la enzima deshidrogenasa microsomal adquiere nuevamente su conformación de AFB1, por lo que, se considera una forma importante de almacenamiento de la AFB1 (Patterson y Roberts, 1970).

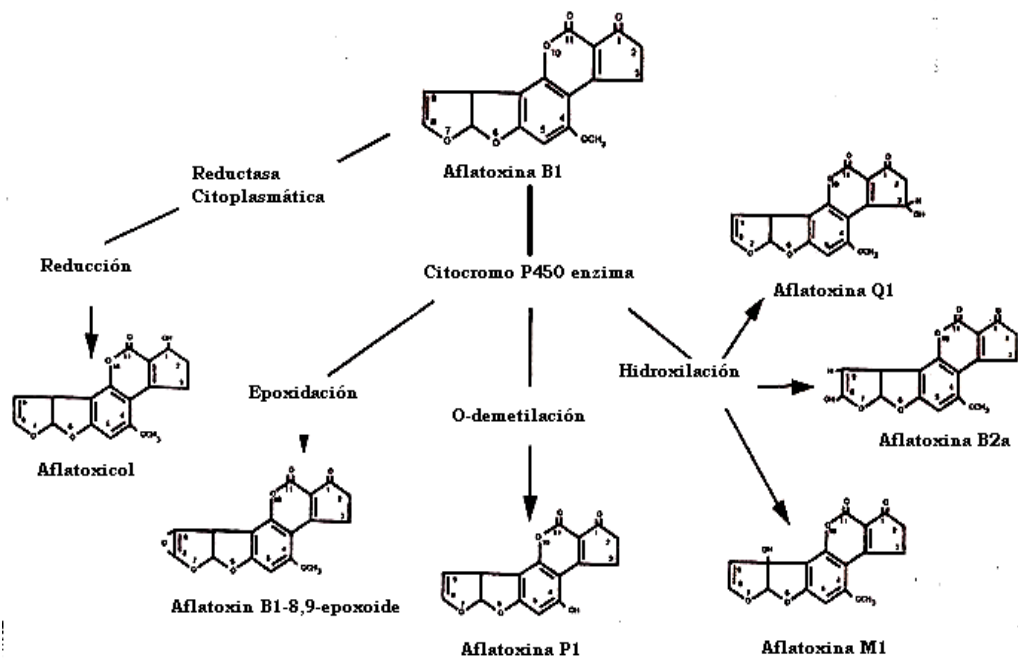


Figura 2. Biotransformación de la aflatoxina B1 (Mishara y Chitragada, 2003).

Para ser eliminadas a través de la leche, secreciones digestivas y urinarias las aflatoxinas de manera general se conjugan con ácido glucorónico y taucólico los cuales conforman a la bilis y en menor grado estas son eliminadas a través de riñón y aparato gastrointestinal. Trabajos realizados por Sawhney *et al* (1973) observaron en gallinas y pollos de engorda que al dar una dosis única por vía oral y parenteral de aflatoxina marcada, el 28% de ella se eliminaba por vía urinaria y gastrointestinal en las primeras 24 hrs y el 71% se excretaba después de 7 días, la vida media en el plasma fue de 1.5 hrs. para aparecer rápidamente en bilis. Por lo que se menciona que se puede eliminar de los tejidos en un tiempo relativamente corto entre 72 y 96 hrs posingestión. Respecto al efecto residual no se tienen evidencias que la AFM1 sea elimina a través del huevo; Sawhney *et al.* (1973) y Jacobson y Wiseman (1974) encontró diferentes concentraciones de aflatoxina (entre 0.2 y 3.3 ppb) en los diversos componentes del huevo (cascarón, yema y clara) al dar dietas con 100 a 400 ppb de AFB1.

Trucksess *et al.* (1983) alimentaron gallinas de postura con dietas que contenía 8,000 ppb de AFB1 durante 7 días, sacrificando a la mitad de las aves al término de este periodo y al resto de las aves se les alimentó 7 días más con un producto libre de AFB1. Ellos observaron la presencia de AFB1 y aflatoxicol en huevo y tejidos blandos (hígado y ovario) y AFM1 en riñón a los 7 días postconsumo de alimento contaminado.

2.2 Toxicodinamia.

Las aflatoxinas pueden interactuar con el DNA, RNA y proteínas celulares (Iwaki *et al.*, 1990), el efecto sobre el DNA es resultado de la interacción de la toxina con los sitios nucleofílicos. La interacción de las aflatoxinas con los ácidos nucleicos son de dos tipos: uno de ellos es a través de uniones no covalentes, las cuales son débiles y reversibles; el otro tipo es con uniones covalentes formando enlaces muy fuertes e irreversibles, permitiendo la formación de complejos DNA-Aflatoxina conocidos como “aductos” (Kiessling, 1986). Estos aductos son el resultado de la acción enzimática del P450, por lo que hace a las células hepáticas las más susceptibles por su alto contenido de esta enzima. Otros metabolitos como el B1-epóxido es considerado como el responsable del efecto carcinogénico (Coulombe, 1993).

2.3 Aflatoxicosis en pollos de engorda

Las aflatoxinas han sido responsables o han estado involucradas en diferentes síndromes en aves, por ejemplo en la enfermedad “X” de los pavos en el Reino Unido descrita en 1961, la cual se caracterizó por alta mortalidad, aproximadamente 100,000 pavos. Donde se realizaron esfuerzos para encontrar a un agente infeccioso, siendo estos análisis negativos al aislamiento biológico, sin embargo mediante un proceso de pruebas alimentarias se encontró una sustancia tóxica asociada con un ingrediente de la dieta , pasta de cacahuate de Brasil. También se ha relacionado con el síndrome de hígado graso y síndrome de hígado hemorrágico en aves (Kubena *et al.*, 1990).

La aflatoxicosis altera los parámetros productivos tales como ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, pigmentación, producción de huevo y rendimiento productivo, además de su efecto inmunodepresor y cancerígeno tanto en animales como en el hombre. Algunas de estas alteraciones son influenciadas directamente por la intoxicación, sin embargo otras son indirectas causadas generalmente por reducción en el consumo de alimento.

2.4 Dosis.

En general para la intoxicación con aflatoxina es importante considerar el tipo de aflatoxina, la concentración, la dosis, el tiempo de exposición, especie animal, sexo, estirpe o raza y la edad del animal expuesto. Sin embargo a pesar de las consideraciones anteriores y de años de estudio se tienen amplios rangos de las concentraciones necesarias para causar alteraciones en los parámetros productivos y reproductivos, manifestaciones clínicas de intoxicación y alteraciones morfológicas en pollos (CUADRO 1) y en pavos (CUADRO 2). Por este motivo se citan algunos autores que han realizado trabajos de investigación enfocados principalmente al efecto de la aflatoxina B1:

Cuadro 1. Efecto de AFB1 en Pollos de Engorda

Edad en días	Tiempo de consumo	Dosis µg/kg p.v	Alteraciones
1 - 7	7 - 14 días	300 a 600	Lesión hepática y muerte

(Bababunmi y Bassir, 1982 ; Muller *et al.*, 1970)

Cuadro 2. Efecto de AFB1 en Pavos.

Edad en días	Tiempo de consumo	Dosis $\mu\text{g}/\text{kg p.v}$	Alteraciones
14	35 días	100 a 800	Reducción en la ganancia de peso y lesión hepática microscópica
Pavitos		500	Reducción de la eficiencia a la vacunación de Marek.

(Edds, 1973 ; Giambrone *et al.*, 1985 ; Quist *et al.*, 2000).

2.5 Signos clínicos.

Los signos clínicos en intoxicación aguda generalmente cursan con la muerte de los animales de forma repentina, sin embargo raramente es observado esto (Pier, 1992).

En los casos de intoxicación crónica (dosis y concentraciones bajas por un periodo largo) se puede observar en pollos de engorda que consumieron alimento con una concentración de 4 mg de AFB₁/kg de alimento, por un período de 3 semanas se presentó pérdida de peso, retardo del crecimiento, elevación de la mortalidad, disminución de peso y disminución de la conversión alimenticia. Sin embargo este mismo efecto ha sido observado cuando la dieta contiene 0.5 ppm de AFB₁ en el alimento y es consumido durante cuatro semanas o más (Rao y Joshi 1993; Osborne *et al.*, 1982; DaFalla *et al.*, 1987; Del Río *et al.*, 1998) e inmunodepresión favoreciendo infecciones bacterianas y parasitarias secundarias (Ghosh *et al.*, 1990; Viridi *et al.*, 1989). Newberne. (1973) describió disminución en el número de huevos por ciclo, fragilidad del cascarón por cambios en el contenido de calcio. Diversos autores coinciden que los signos comienzan a aparecer entre la 2^a y 3er semana de ingesta del alimento contaminado (CUADRO 3).

Cuadro 3. Efecto de AFB1 en Pollos de Engorda

Edad en días	Tiempo de consumo	Dosis ($\mu\text{g}/\text{kg p.v}$)	Alteraciones
1	7 semanas	75 a 675	Retraso del crecimiento en la dosis baja y aumento de la mortalidad en la dosis alta
1	3 semanas	250 a 500	Reducción de la ganancia de peso lesión hepática e inmunodepresión
1	29 días	200	Aumento de la susceptibilidad a coccidiosis
1 a 7	10 semanas	200 a 800	Retraso del crecimiento en la dosis baja y lesión hepática grave y aumento de la mortalidad en la dosis alta.

(Smith y Hamilton, 1970; Doerr *et al.*, 1983; Giambrone *et al.*, 1985; Edds *et al.*, 1973 ; Ghosh *et al.*, 1990)

Tyczkowski y Hamilton (1987) y Schaffer *et al.* (1988) observaron aves pálidas, con pobre pigmentación, atribuyendo este hecho a una disminución en la absorción, transporte y depósito de los carotenos de la dieta en los tejidos. En gallinas ponedoras se presenta disminución en la producción y peso del huevo con 1 ppm de AFB1/kg de alimento, al ingerir este por un periodo de 4 semanas (CUADRO 4).

Cuadro 4. Gallinas de postura alimentadas con AFB1 en el alimento.

Tiempo de consumo	Dosis $\mu\text{g}/\text{kg p.v}$	Alteraciones
6 semanas	100	Alteración en el contenido de calcio en cascarón
33 semanas	610	Reducción producción de huevo y aumento de la mortalidad

(Smith y Hamilton., 1970; Bayman y Cotty, 1993)

2.6 Análisis de laboratorio.

Hematología y química sanguínea:

En pavos se ha observado disminución en la cuenta de eritrocitos, con un hematocrito de alrededor del 25 % (normal del 27%) en machos reproductores. Además las aflatoxinas son causa del aumento de la cuenta leucocitaria de heterófilos y monocitos, con linfopenia patente (Tung *et al.*, 1975). Doerr *et al.*, (1976) menciona que las concentraciones normales de proteína sérica en aves son entre 3.0 y 6.0 g/dl, además ellos detectaron una disminución del 43% en la concentración de proteínas plasmáticas al administrarse 2.2 μg de aflatoxina /Kg de pv. También describen una disminución del 64% de colesterol sanguíneo (normal 100 y 200 mg/100ml), además refirieron una disminución de proteínas específicas que actúan en la coagulación, con aumento en el tiempo de coagulación.

La concentración sérica de colesterol, triglicéridos, calcio, fósforo, así como la actividad enzimática de la Aspartato Aminotransferasa (AST), Alanino Aminotransferasa (ALT), Lactato Deshidrogenasa (LDH) y Glutamil Aminotranspeptidasa (GGT) se ve afectados al utilizar concentraciones de 0.5 ppm, 2.5 y 5 ppm de AFB₁ en el alimento (Fernandez *et al.*, 1994; Arshad *et al.*, 1993; Kumar *et al.*, 1993; Quezada *et al.*, 1993; DaFalla *et al.*, 1987).

La actividad de los leucocitos y la respuesta inmune también se ven afectadas por la presencia de aflatoxinas. El mecanismo exacto es desconocido, sin embargo el efecto negativo sobre el complemento, interferón, proteínas séricas y actividad leucocitaria son presumiblemente resultado de la lesión hepática y de la inhibición de la síntesis de proteínas (Pier y McLoughlin, 1985).

Corrier (1991) menciona que con un consumo de dietas con 0.2 a 0.5 ppm de aflatoxina la respuesta inmune contra *Pasteurella multocida*, *Salmonella pullorum* y contra el virus de NewCastle no se ve alterada, no así cuando las concentraciones son entre 0.6 a 10 ppm por kg de alimento. Sin embargo otros autores como Edds *et al* (1973b) y Batra *et al* (1991) sí observaron disminución de la respuesta inmune al utilizar las dosis bajas mencionadas.

2.7 Alteraciones morfológicas.

El hígado es el principal órgano afectado, sin embargo otros órganos y tejidos muestran también alteraciones anatómicas:

El hígado se observa decoloración pálida amarilla -verdosa, con el tiempo desarrolla focos blanquecinos, hemorragias petequiales o equimóticas, en ocasiones hematomas, el hígado puede estar aumentado de tamaño (curso agudo) o atrofiado (crónico) con fibrosis abundante. Histológicamente los hepatocitos presentan degeneración grasa, hay hiperplasia de conductos biliares, fibrosis perilobulillar y focos de necrosis, además se observa la presencia de células inflamatorias como heterófilos y mononucleares en espacio porta y alrededor de focos necróticos en el parénquima. El riñón también se observa con tonalidades pálidas blanquecinas o amarillentas, difusas, correspondientes a necrosis tubular o degeneración grasa, se describe también la presencia de infiltración linfoide. También se a descrito cardiomegalia; atrofia de bolsa de Fabricio, timo y bazo con depleción linfoide, otros hallazgos son atrofia de médula ósea observándose de color blanquecino y hemorragias en masas musculares como petequias y equimosis (Newberne, 1973; Viridi *et al.*, 1989 ; Ghosh *et al.*, 1990; Espada *et al.*, 1992; Arshad *et al.*, 1993; Kumar *et al.*, 1993; Quezada *et al.*, 1993; Quist *et al.*, 2000).

3. *Fusarium* spp Y FUMONISINAS.

3.1 *Fusarium* spp

Los hongos del género *Fusarium* sp están reconocidos mundialmente, ya que son capaces, dependiendo de la especie, de metabolizar una serie de toxinas de diversa estructura química. Muchas de las especies toxigénicas de *Fusarium* son descritas como las mayores patógenas para plantas y cereales (causante de la “podredumbre de la mazorca de maíz”), así como para alimentos para consumo animal (Placinta *et al.*, 1999). De las más importantes desde el punto de vista de salud animal y productividad están los tricotecenos, zearalenonas, moniliformina y fumonisina (Chulze *et al.*, 1996; Viquez *et al.*, 1996; D’Mello *et al.*, 1999).

Los tricotecenos están subdivididos en 2 grupos básicos, uno está formado por los derivados alcohólicos del núcleo tricoteceno y sus ésteres simples, mientras que los ésteres macrocíclicos constituyen el otro grupo más complejo. Los tricotecenos del tipo “A” que incluyen a la toxina T-2, la toxina HT-2, el diacetoxyscirpenol (DAS) y al neosolaniol (NEO), producidos por los hongos *F. sporotrichioides* y *F. poae*; en el grupo “B” encontramos al deoxynivalenol (DON, también conocido como vomitoxina), nivanelol (NIV) y fusarenol X, producidos por *F. culmorum* y *F. graminearum* entre otros. Otra toxina sintetizada por el género *Fusarium* es la zearalenona (ZEN), anteriormente conocida como toxina F-2. Y finalmente están aquellas toxinas sintetizadas principalmente por *F. moniliforme* (principalmente) y *F. proliferatum* que son la fumonisina, la moniliformina y el fusarin C. Tanto *F. moniliforme* como *F. proliferatum* figuran entre los hongos más comúnmente asociados con el maíz, y que pueden recuperarse de la mayoría de los granos, incluso de los que parecen sanos. La presencia de fumonisinas en las plantaciones de maíz en el campo guardan una correlación positiva con la incidencia de casos de estas dos especies fúngicas que predominan durante la fase tardía de madurez (Visconti *et al.*, 1999).

3.2 Fumonisinias.

Las fumonisinias son el grupo de micotoxinas más recientemente descubiertas y son producidas principalmente por *Fusarium moniliforme* Sheldon, la fumonisinia B₁ (FB₁) es la molécula predominante producida por el hongo. La fumonisinia ha sido asociada con ciertas enfermedades en animales como son la leucoencefalomalacia en equinos (LEME) y el edema pulmonar porcino (EPP). El mecanismo general de acción de las fumonisinias es la interrupción de síntesis de esfingolípidos (Placinta *et al.*, 1999; Gordon *et al.*, 2000).

Visconti *et al* (1999) mencionan que las fumonisinias están principalmente en los cultivos del maíz, habiéndose demostrado que se dan naturalmente en concentraciones biológicamente importantes en el maíz y en varios alimentos a base de éste cereal para seres humanos y piensos en distintos países de todo el mundo. Por ejemplo en Filipinas, Tailandia e Indonesia se ha observado una contaminación del 50% de maíz. Los países africanos son los mas afectados hasta en un 90%, en estos países se han detectado cantidades de fumonisinia en maíz de 2000 µg/kg de este grano y en alimento para animales rangos de 4000 a 11000 µg/kg de alimento. Otros investigadores mencionan la presencia de fumonisinia en Argentina, Costa Rica, Honduras y Venezuela pero en cantidades que van de 1 a 15 µg/g de maíz, afectando principalmente al maíz amarillo en el 83% de las muestras analizadas (Chulze *et al.*, 1996; Placinta *et al.*, 1999; Gordon *et al.*, 2000; Medina y Martínez, 2000).

3.3 Estructura química.

Las fumonisinias fueron primeramente aisladas del hongo *Fusarium moniliforme*. , sin embargo otras especies de *Fusarium* pueden producirlas, como *F. proliferatum*; *F. nygamai*; *F. anthophilium*; *F. dlamini* y *F. napiforme*. Recientemente un hongo *Alternaria* sp también mostró la capacidad de producir Fumonisinia B₁. Estos son compuestos altamente polares, por lo que ellos son solubles en agua, pero insolubles en solventes orgánicos (Ross *et al.*, 1990; Nelson, 1992).

Seis diferentes fumonisinias han sido aisladas e identificadas (FIGURA 3): fumonisinia A1, A2, B1 (descubierta en 1988), B2, B3 y B4, sin embargo solo FB1, FB2 y FB3 han sido

detectadas como contaminantes naturales en maíz (Placinta *et al.*, 1999; D'Mello *et al.*, 1999)

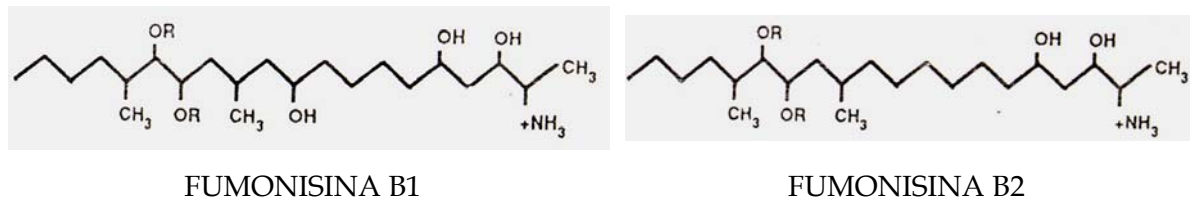


Figura 3. Estructura química de fumonisina B1 y B2..

3.4 Mecanismo de acción.

Edwards *et al.*, (2002) mencionan que la Fumonisin B1 interfiere con la biosíntesis de los esfingolípidos o la esfingosina (So), debido a que la FB1 en parte de su estructura química es similar al complejo alcohol-amino de la esfingosina (So) (FIGURA 4).

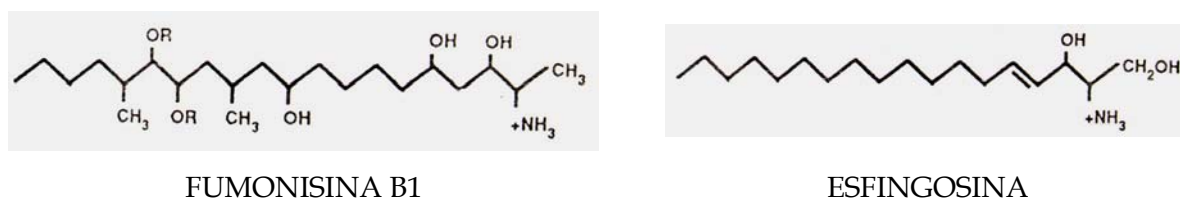


Figura 4. Estructura química de fumonisina B1 y esfingosina..

Estos esfingolípidos (fosfoesfingolípidos y glicoesfingolípidos) son importantes en la integridad de la membrana celular, en la comunicación intercelular, en el contacto celular, así como, en la actividad biológica de las células animales y vegetales. En las plantas tiene una acción fitotóxica dañando la membrana y reduciendo la síntesis de clorofila. Los esfingolípidos se encuentran en abundancia en cerebro y tejido nervioso. Por ejemplo los glicoesfingolípidos son uno de los mayores componentes de los lípidos que forman la mielina, la cual es un constituyente de la membrana de los oligodendrocitos y de las células de Schwann, en el sistema nervioso central y periférico, lo que explica las alteraciones observadas en equinos. La esfingosina (So) es sintetizada en retículo endoplásmico, a partir de esfinganina (Sa) (Mayes, 1988; Whang *et al.*, 1991 ; Visconti *et al.*, 1999).

3.5 Fumonitoxicosis en pollos.

Existen evidencias de daño bioquímico, celular y morfológico en los animales que consumen alimento contaminado con fumonisinas. Dentro de las alteraciones que se observan en equinos, cerdos, rumiantes y pollos se encuentran daño hepático, del tracto gastrointestinal, cerebro, pulmón, así como, un efecto inmunodepresor al inhibir la replicación de células leucocitarias e inhibir la actividad fagocítica de los macrófagos. Sin embargo la información es limitada respecto a los efectos de la fumonisina B1 sobre el sistema inmune de los pollos. (D'Mello *et al.*, 1999., Placinta *et al.*, 1999; Ledoux *et al.*, 1999)

Las cantidades que se han utilizado en los pollos de engorda son relativamente altas a las observadas de manera natural en cereales (0 a 5 mg de FB1/kg de cereal) (Murphy *et al.*, 1993). Ledoux *et al.*, (1999) observaron alteraciones en el peso corporal, peso de órganos y alteración en la química sanguínea al utilizar dosis de 300 y 400 mg/kg de alimento, similar a lo reportado por Brown *et al.*, en 1992 y Bailly *et al.*, (2001) quienes proporcionaron dietas contaminadas con fumonisina a patos con dosis de 5, 15 y 45 mg de FB1/kg de alimento, observando alteración en el desempeño productivo aún con la dosis más baja en comparación con el grupo control. Todos los autores coinciden en que los pollos jóvenes son los más susceptibles.

Gimeno (1991) menciona que en pollos de 2 días de edad y alimentados con 10 mg de FB1/kg de alimento, durante 6 días signos clínicos como diarreas, disminución del peso vivo y de los pesos relativos del hígado, bazo y bolsa de Fabricio. También reporta disminución de las concentraciones séricas de triglicéridos, ácido úrico y de la actividad de la fosfatasa alcalina, las concentraciones de la gamma-glutamyl transferasa, aspartatoamino transferasa, deshidrogenasa láctica, creatinquinasa y colesterol aumentaron. A concentraciones de 75 a 525 mg de FB1/kg de alimento, por un período de 21 días, observó una disminución del consumo de alimento y la ganancia de peso vivo, los pesos relativos del riñón y del hígado aumentaron y la cantidad de esfinganina libre y de la realación sérica de esfinganina/esfingosina aumentaron. Del mismo modo observó que con 225 mg de FB1/kg de alimento, lesiones histológicas en el hígado y con 75 mg de

FB1/kg de alimento, los pollos mostraron aumento en la cantidad de esfinganina libre y de esfinganina/esfingosina.

3.6 Análisis de laboratorio.

El calcio sérico, el colesterol, AST (aspartatoamino transferasa), fosfatasa alcalina, LDH (lactato deshidrogenasa) y GGT (gamma glutamiltransferasa) se incrementan, del mismo modo se eleva la concentración sérica de esfingolípidos y la relación esfinganina: esfingosina (Engelhardt *et al.*, 1989; Ledoux y Brown, 1992; Bailly *et al.*, 2001).

3.7 Signos clínicos y alteraciones morfológicas.

Dentro de los signos clínicos observados esta la presencia de diarrea, reducción del peso corporal, incremento del peso relativo del hígado, molleja y proventrículo, disminución de la conversión alimenticia y alta mortalidad. Los hallazgos morfológicos macroscópicos correspondieron a ascitis, hidropericardio y miocardio pálido. Lesiones ulcerativas en boca se observaron en pavos. Histológicamente el hígado presenta cambio graso, necrosis multifocal, hiperplasia de conductos biliares y de cordones hepáticos; degeneración y necrosis cardiaca (miocardio). En timo atrofia de corteza, así como discondroplasia; en intestino delgado se reporta moderada atrofia de vellosidades (Engelhardt *et al.*, 1989; Ledoux y Brown, 1992; Brown *et al.*, 1992).

4. INTERACCIÓN DE AFLATOXINA Y FUMONISINA.

Aún cuando existen algunos informes sobre la contaminación conjunta de diversas toxinas (Jelinek *et al.*, 1989; Michael y Alan, 1998; D'Mello *et al.*, 1999; Medina-Martínez y Martínez, 2000); lamentablemente, la información sobre toxicidad, estabilidad y grado de incidencia de muchas de las micotoxinas que se han identificado aún hoy en día es escasa y más aún en el caso del efecto combinado de dos o más micotoxinas. Esto hace que el proceso para decidir el o los métodos para su control resulten ser complicados.

Por lo tanto, la presencia de múltiples toxinas en el mismo sistema proporciona nuevos motivos de preocupación, dado que la información toxicológica sobre los efectos de la

exposición simultánea es todavía muy limitada. El uso de diversas materias primas susceptibles de estar contaminadas por más de una micotoxina, hace que el problema del efecto de éstas sea un riesgo mayor para la salud animal y por lo tanto para la economía avícola. Debido a la falta de información es difícil prever los efectos de toxinas múltiples; por ello ciertos estudios *in vitro* pueden ayudar a predecir los resultados; sin embargo para una comprensión integral es necesario la realización de estudios *in vivo*, permitiendo al organismo animal participar en el proceso de intoxicación.

Estudios recientes han demostrado que la exposición simultánea a aflatoxina B1 y fumonisina B1 puede provocar respuestas diferentes a la exposición a esas toxinas por separado (Placinta *et al.*, 1999; Medina-Martínez y Martínez, 2000), si bien se ha observado este comportamiento, aún hay pocos estudios sobre la interacción de estas dos micotoxinas. Este resultado puede deberse a una combinación de una serie de factores, entre los que se incluyen la interacción química o la potenciación/inhibición de diferentes vías metabólicas o bien puede ser que la respuesta general se deba al equilibrio entre diversas reacciones. Por consiguiente, diferentes grados de contaminación pueden representar distintas alteraciones para la salud animal y humana.

5.- HIPÓTESIS GENERAL

La ingestión de alimento contaminado con aflatoxinas (1 mg/kg de alimento) y concentración baja de fumonisinas (3 mg/g de alimento) tuvo un efecto sinérgico tóxico en el pollo de engorda.

5.1 Hipótesis particulares.




- Los pollos que consumieron aflatoxinas y fumonisinas mostraron disminución en la ganancia de peso.
- El efecto sinérgico de la combinación de aflatoxinas y fumonisinas provocó alteración en los indicadores sanguíneos como hematocrito y proteínas séricas.
- El efecto sinérgico de la combinación de aflatoxinas y fumonisinas incrementa las concentraciones séricas de las transaminasas (AST y ALT), así como de bilirrubinas en comparación con su acción individual de cada micotoxina.

6. OBJETIVOS.

Objetivo general.

Se evaluó el efecto sinérgico de las fumonisinas y las aflatoxinas, sobre los parámetros productivos, morfopatología, hematología y bioquímica sanguínea.

Objetivos particulares.

-  Se evaluaron algunos indicadores productivos (peso y consumo de alimento) en el pollo de engorda en presencia de aflatoxinas y fumonisinas.
-  Se presentaron alteraciones funcionales hepáticas a través de pruebas de química sanguínea (transaminasas, bilirrubinas y proteínas) en presencia de aflatoxinas y fumonisinas.
-  Las alteraciones morfológicas de hígado, riñón y bolsa de Fabricio en el pollo de engorda en presencia de aflatoxinas y fumonisinas fueron mas severas.

7.- JUSTIFICACIÓN Y ALCANCES

Tanto el maíz como el sorgo son granos ampliamente utilizados en la alimentación de pollos de engorda y ambos granos son susceptibles de estar contaminados con toxinas de los hongos *Aspergillus* sp y *Fusarium* sp, hongos productores de aflatoxinas y las fumonisinas, respectivamente. Estas micotoxinas han adquirido gran importancia debido a los efectos nocivos que causan al ser ingeridas a través de los alimentos, tanto en el hombre como en los animales. Las aflatoxinas son las toxinas más estudiadas, sin embargo las fumonisinas han cobrado importancia por su asociación con el maíz. Las fumonisinas son consideradas como las menos nocivas para las aves, no obstante, también son las menos estudiadas en esta especie a pesar de su efecto lesivo para el sistema nervioso, hígado, sistema inmune y actividad neoplásica en animales y el hombre.

Los estudios realizados sobre el efecto de la fumonisina en aves se llevan a cabo utilizando concentraciones altas (>300 mg/kg de alimento), que generalmente no se encuentran en las cosechas o alimento terminado, reportándose concentraciones de 1 hasta 80 mg/kg de alimento o grano. Es importante señalar que la contaminación del alimento generalmente es por más de una micotoxina y que el efecto de interacción (sinergia o aditivo) entre aflatoxinas y fumonisinas no ha sido estudiado en forma intensiva.

El estudio del efecto de dos micotoxinas permitió hacer una evaluación mas profunda del efecto de interacción de la aflatoxinas y fumonisinas en el pollo de engorda, así como:

- Evaluar si la cantidad de estas dos micotoxinas que se reportan como naturales en los granos utilizados como materia prima de alimentos para aves alteran la morfofisiología del pollo de engorda.
- Definir el efecto sinérgico de estas dos toxinas en el pollo de engorda a través de pruebas de laboratorio (químicas sanguíneas) que ayuden a evaluar el efecto funcional aún en ausencia de alteraciones morfológicas.

8. MATERIAL Y MÉTODOS.

Producción de aflatoxina.

Se inocularon 24 kilos de maíz quebrado (previamente esterilizado), con una cepa toxigénica de *Aspergillus flavus* obtenida de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS), de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM. Se agregaron 500 ml de agua destilada estéril (9 000 000 esporas por mililitro) por cada 4 kg de maíz molido, para posteriormente ser incubado a 27°C y humedad del 18% por un periodo de 30 días. Posteriormente se analizó la cantidad de aflatoxina producida, con la técnica de columnas de inmunoafinidad (aflatest). Con el inóculo de maíz contaminado se mezcló con alimento balanceado y se ajustó el alimento utilizado a una concentración de 1000 µg de AFBs/kg de alimento. La dieta elaborada cubrió las necesidades nutricionales para pollos de engorda según el Consejo de Ciencias de los Estados Unidos de Norteamérica (NRC).

Producción de fumonisina.

La cepa de *Fusarium moniliforme* (L-189-2) productora de fumonisina B1, se obtuvo a través de donación del Dr. Javier Plasencia de la Parra, del la Facultad de Química del Departamento de Bioquímica de la UNAM . El hongo se inoculó en 24 kg de maíz molido (previamente esterilizado), se incubó a 25°C a una humedad de 42%, por un periodo de 25 días. El análisis de fumonisina se hizo con la técnica de columnas de inmunoafinidad (fumonitest). El inóculo de maíz contaminado fue mezclado con alimento balanceado, ajustando una concentración mínima de 3 mg de FBs/Kg de alimento. La dieta elaborada cubrió las necesidades nutricionales para pollos de engorda según el Consejo de Ciencias de los Estados Unidos de Norteamérica (NRC).

9. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Por cada trabajo experimental se utilizaron pollos de engorda estirpe Ross de un día de edad sin sexar. Dependiendo del trabajo experimental a realizar se aplicaron el número de tratamientos requerido, en todos los casos cada tratamientos constó de tres repeticiones. El periodo de evaluación de cada trabajo fue de 21 días y 28 días según fue el caso.

La metodología a seguir en los trabajos experimentales realizados fue que al inicio del trabajo experimental y semanalmente se pesó individualmente cada ave y el consumo de alimento se determinó por corraleta.

Al día 21 de edad en cada tratamiento se seleccionaron aleatoriamente entre 6 y 12 aves las cuales fueron sangradas por punción cardiaca y sacrificadas por dislocamiento cervical. El suero se almacenó a 4°C para su posterior análisis de la concentración sérica de proteínas totales, albúmina y transaminasas (AST /ALT). Se realizó el mismo procedimiento a los 28 días de edad con las aves restantes, si así lo requería el trabajo experimental realizado.

A las aves sacrificadas se les realizó la necropsia para la observación de alteraciones macroscópicas y pesaje de hígado, riñón, bazo y bolsa de Fabricio. Posteriormente estos órganos fueron fijados en formalina amortiguada al 10% y procesados para realizar cortes histológicos.

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los análisis estadísticos para cada variable se realizaron con base en un diseño completamente al azar (ANOVA), la comparación de medias se hizo a través de la prueba de Tukey.

11. LITERATURA CITADA.

- Aguirre J. Cambios en la estructura rural-urbana de México. En Los retos de la soberanía alimentaria en México. González y Torres (coordinadores). Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM. Juan Pablos. México, 1995.
- Árpád B y Radomir L. Detoxification of mycotoxin-contaminate food and feed by microorganisms. Food Science and Technology 1999; 10: 223-228.
- Arshad S, Khan MZ, Siddique M and Javed MT. Studies on enzymes level and residual effects of aflatoxins in experimentally induced mycotoxicosis in broiler chick. Indian Vet. J 1993; 70(10): 898-902.
- Ashoor SH y Chu FS. Reduction of aflatoxin B_{2a} with sodium borohydride. Agric. Food. Chem 1975; 23: 445-447.
- Ávila GE. Alimentación de las aves. 2a ed., México, D.F, 1990.
- Bababunmi EA, Bassir O. A delay in blood clotting of chickens and ducks induced by aflatoxin treatment. Poult Sci 1982; 61(1):166-8.
- Bailly JD, Benard G, Jouglar JY, Duran S and Guerre P. Toxicity of *Fusarium moniliforme* culture material containing known levels of fumonisin B1 in ducks. Toxicology 2001; 163: 11-22.
- Bata A y Lásztity R. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. Food Science & Technology 1999; 10: 223-228.
- Batra P, Pruthi AK and Sadana JR. Effect of aflatoxina B₁, of efficacy of turkey herpesvirus vaccine against Marek's disease. Res. Vet. Sci 1991; 51: 115-119.
- Bayman P y Cotty PJ. genetic diversity in *Aspergillus flavus*: association with aflatoxin production and morphology. Can. J. Bot 1993; 71: 23-31.
- Bothast RJ, Goulden ML, Shotwell OL and Hesseltine CW. *Aspergillus flavus* and aflatoxin production in acid-treated maize. J. Stored Prod Res 1976; 12:177-183.
- Brown TP, Rottinghaus GE and Williams ME. Fumonisin Mycotoxicosis in broilers: performance and pathology. Avian Dis. 1992;36: 450: 454.
- Buchi G y Rae ID. The structure and chemistry of the aflatoxins, in: Goldblatt, L.A. (Ed) Aflatoxins. Academic Press, New York, 1969. pp 55
- Casida LE *Industrial Microbiology*. John Wiley and Sons, Inc. U.S.A. 1968.
- Chávez A. Food and nutrient consumption in rural áreas. In The food and nutrition situation in México. Pax Edit., México, 1996.

- Chipley J, Mabee MS, Applegate KL and Dreyfuss MS. Further characterization of tissue distribution and metabolism of [¹⁴C] aflatoxin B₁ in chickens. *Appl. Microbiol* 1974; 28: 1027-1029.
- Christensen CM y Sauer DB. *Micoflora in Storage of Cereal Grains and their Products*. Ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul MN. 1982: pp 219-240.
- Chulze SN, Ramirez ML, Farnochi MC, Pascale M and Visconti G. *Fusarium* and fumonisin occurrence in Argentinian corn at different ear maturity stage. *J. Agric. Food Chem* 1996; 44: 2797-2801.
- Consejo Nacional de Población. *Evolución de las ciudades mexicanas 1900-1990*, CONAPO, México, 1994.
- Conway HF, Anderson RA and Bagley EB. Detoxification of aflatoxin-contaminated corn by roasting. *Cereal. Chem* 1978; 55:115-117.
- Corrier DE. Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression. *Vet. Immunopathol* 1991; 30: 73-87.
- Coulombe RA. Biological action of micotoxins. *J. Dairy Sci* 1993; 76: 880-891.
- Cuca GM y Ávila GE. *Alimentación de las aves*. Universidad Autónoma de Chapingo, Estado de México. Depto. de Zootecnia, 1996. p.p. 1-4
- D'Mello JPF, Placinta CM, Macdonald AMC. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implication for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and technology* 1999; 80: 183-205.
- Dafalla R, Yagi AI y Adam SEI. Experimental aflatoxicosis in Hybro-type chicks: sequential changes in growth and serum constituents and histopathological changes. *Vet. Hum. Toxicol* 1987; 29: 222-226.
- Del Río JCG, Ávila EG, Casaubon MaTH, Rosiles RM, Ledesma NM, Petrone VM, Moreno EM. Efecto del 25-hidroxicolecalciferol en presencia de aflatoxina B₁, sobre el rendimiento productivo y patología de patas del pollo de engorda. *REDVET*, Ref 120604, 2006; Vol. (7): 12.
- Derache, J. *Toxicología y Seguridad de los Alimentos*. Ediciones Omega. Barcelona, España. 1990.
- D'Mello JPF y Macdonald AMC. Mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 1997; 69: 155-166
- Doerr JA, Huff WE, Wabeck CJ, Chaloupka GW, May JD, Merkley JW. Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. *Poult Sci* 1983; 62(10):1971-7.

Doerr JA. Impairment of coagulation function during aflatoxicosis in young chickens. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 1976; 35: 437-446.

Edds GT, Nair KP, Simpson CF. Effect of aflatoxin B₁ on resistance in poultry against cecal coccidiosis and Marek's disease. *Am J Vet Res* 1973; 34(6):819-26.

Edds GT. Acute aflatoxicosis: a review. *J Am Vet Med Assoc.* 1973b; 162(4):304-9.

Edwards SG, o'Callaghan y Donson ADW. 2002. PCR-based detection and quantification of mycotoxigenic fungi. *Mycological Research* 106: 1005-1025.

Ellis WO, Smith JP, Simpson BK y Oldham JH. Aflatoxin in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. *Critical Rev. Food Sci and Nutri* 1991; 30: 403-439.

Engelhardt JA, Carlton WW y Tuite JF. Toxicity of *fusarium moniliforme* var subglutinans for chick, duckling and turkey poult. *Avian Dis* 1989; 33: 357-360.

Espada YM, Domingo M, Gomez J y Calvo MA. Pathological lesion following an experimental intoxication with aflatoxin B₁ in broiler chickens. *Res. Vet. Sci* 1992; 53: 275-279.

FAO/OMS/PMA. Tercera Conferencia Internacional FAO/OMS/PMA sobre Micotoxinas. 1999

Fernandez A, verde MT, Gascon M, Ramos J, Gomez J, Luco DF y Chavez G. Variation of clinical biochemical parameters of laying hens and chickens fed aflatoxin-containing feed. *Avian Path* 1994; 23: 37-47

Garcia AG. Manual de métodos para el análisis de micotoxinas en granos. Coordinación de la Investigación científica. Programa Universitario de Alimentos. Depto. De Botánica. Instituto de Biología UNAM, México D.F. 1er edición, aprobado por la A.O.A.C. 1984. 1989.

Ghosh RC, Chauhan HV, Roy S. Immunosuppression in broilers under experimental aflatoxicosis. *Br Vet J* 1990; 146(5):457-62.

Giambrone JJ, Diener UL, Davis ND, Panangala VS, Hoerr FJ. Effects of aflatoxin on young turkeys and broiler chickens. *Poult Sci.* 64(9):1678-84.

Gimeno A. 1984. *J.Assoc. Off. Anal. Chem* 1985; 67: 194-196.

Gimeno A. VII Curso de especialización en Nutrición y Patología. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. E.T.S. Ingenieros Agronomos,. Madrid 30 y 31 de mayo. 1991: pp 1-33

Gomezjara F, Avila R y Morales M. *Salud Comunitaria. Teoría y Técnicas.* Ediciones Nueva Sociología. México, D.F. 1983.

Gordon SS, Marasas WFO, Leggott NL, Yazdanpanah H, Rahimian H y Safari N. Natural occurrence of fumonisin in corn from Iran. *J. Agric. Food Chem* 2000; 48: 1860-1864.

Hamilton PB y Garlich JD. Aflatoxin as a possible cause of fatty liver syndrome in laying hens: Poul. Sci 1970; 50: 800-804

Hamilton PB. Effect of aflatoxina on animals and the relationship with nutrition. Feedstuffs 1976; 48: 22-23.

Huff WE, Kuben LF y Harvey RB. Influence of ascorbic acid on aflatoxicosis in broiler cockerels. Poul. Sci 1987; 66: 156.

Icaza, SJ y Béhar M. *Nutrición*. Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V. México, D.F. 1981.

INEGI. Situación actual y perspectiva de la producción de carne de pollo en México 2000, Centro de Estadística Agropecuaria, Dirección General de Ganadería, México. 2000

Ismail YSR. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation gy physical methods. Food Chemistry 1996; 59: 57-67.

Iwaki M, Kitagawa T, Akamatsu Y y Aibara K. Cytotoxic effects of aflatoxin B1 and its association with cellular components in chicken embryo primary cultured cell. Biochim. Biophys. Act 1990; 1035: 146-153.

Jacobson WC y Wiseman VR. The transmission of aflatoxin B1 into eggs. Poul. Sci. 53: 1743-1745.

Trucksess M.w., L. Stoloff, K. Young, R.D. Wyatt adn B.L. Miller. 1983. Aflatoxicol and aflatoxins B1 and M1 in eggs and tissues of laying hens consuming aflatoxin-contaminated feed. Poul. Sci 1974; 62: 2176-2182.

Jamieson M y Jobber P. *Manejo de los Alimentos. Vol. 1. Ecología del Almacenamiento*. Editorial Pax-México. México, D.F. 1975.

Jelinek CF, Pohland AE y Wood GE. Worldwidw occurrence of mycotoxins in foods and feeds an update. J. Assoc. Off. Anal. Chem 1989; 72: 223-230.

Jindal N, Mahipal SK y Mahajan NK. Occurrence of aflatoxin in compound poultry feed in Haryana and effect of different storage condiction on its production. Indian J. Anim. Sci 1993; 63: 71-73.

Johri TS, Agrawal R y Sadagopan VR. Effect of low levels of aflatoxina on laying quails (*Coturnix coturnix japonica*) and their response to dietary modifications. Indian J. Anim. Sci 1990; 60: 355-359.

Juszkiewicz T, Piskorska-Pliszczynska J. Occurrence of mycotoxins in animal feeds. J Environ Pathol Toxicol Oncol 1992; 11(4):211-5.

- Kiessling KH. Biochemical mechanism of action of mycotoxins. *Pure and Applied Chemistry* 1986; 58: 327-338.
- Klaassen CD y Rozman K. Absorption, distribution and excretion of toxicants. In: Amdur, M.O; Doull, J. & Klaassen, C.D. Ed Casarett and Doull's Toxicology. *The Basic Science of Poisons*, 4th ed. Pergamon Press, New York, 1991: pp. 50-87.
- Kubena LF, Harvey RB, Phillips TD, Corrier DE y Hueff WE. Domination of aflatoxicosis in growing chickens by the dietary addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Poult. Sci* 1990; 69: 727-735.
- Kumar AA, Chand SK, Roa AT, Bisoi PC y Mishra K. Clinicopathological changes in experimental aflatoxicosis in quail. *Ind. J. Poult. Sci* 1993;28(2): 150-153.
- Ledoux DR, Bermudez AJ, Fritsche KL y Rottinghaus GE. Effects of fumonisin B1 on selected immune responses in broiler Chicks. *Poul. Sci* 1999; 78: 1275-1282.
- Ledoux DR, Brown TP, Weibking TS y Rottinghaus GE. Fumonisin toxicity in broiler chicks. *J. Vet. Diagn. Invest* 1992; 4: 330-333.
- Lehninger AL. *Bioenergetics. The Molecular Basis of Biological Energy Transformations*. W. A. Benjamin, Inc. U.S.A. 1973.
- Lindner, E. *Toxicología de los Alimentos*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1987.
- Mayes PA. Metabolims of acylglycerols y sphingolipids in: Murray, R.K., Granner, D.K. Mayes, P.A. y Rodwell, V.W. (eds) *Harper's Biochemistry*. 21 ed. Appleton and Lange Norwalk, 1988: pp. 218-225.
- Medina-Martínez MS y Martínez AJ. Mold occurrence and aflatoxina B1 and fumonisin B1 determination in corn samples in Venezuela. *J. Agric. Chem* 2000; 48: 2833-2836.
- Méndez CP. Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares: metodología y alcances, en: *Notas Censales No. 15*. INEGI, México, 1996.
- Michael JS y Alan DWD. Review Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology* 1998; 43 141-158
- Mishara HN y Chitragada Das. A Review on Biological Control and metabolism of Aflatoxin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2003; 43 (3): 245-264
- Moreno ME y Gutiérrez MG. La biología de *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas. Primera edición. UNAM, México D.F., 1992: pp 1-15.
- Muller RD, Carlson CW, Semeniuk G y Harshfiel GS. The response of chicks, ducklings, goslings, pheasants and poults to graded levels of aflatoxin. *Poult. Sci* 1970; 49: 1346-1350.

Murphy PA, Rices LG y Ross PF. Fumonisin B1, B2 and B3 content of Iowa, Wisconsin, and Illinois corn and corn screenings. *J. Agric. Food. Chem* 1993; 41: 263-266.

Nelson PE. Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia* 1992; 117: 29-36.

Newberne PM. 1973. Chronic aflatoxicosis. Review. *J Am Vet Med Assoc.* 1;163(11):1262-7.

Newberne PM. Interacción of nutrient and other factors with mycotoxins. in: KROGH P: Ed *Mycotoxins in food*. London, Academic Press, 1987: pp. 177-216.

North MO. Manual de producción Avícola. 2nd ed. México (DF); Manual Moderno, 1993.

Osborne DJ, Huff WE, Hamilton PB and Burtmeister HR. Comparasion of achratoxin, aflatoxina and T-2 toxin for their effects on selected parameters related to digestion and evidence for specific metabolism of carotenoids in chickens. *Poult. Sci* 1982; 61: 1646-1652.

Ostrowski-Meissner HT. Biochemical and physiological responses of growing chickens and ducklings to dietary aflatoxins. *Comp Biochem Physiol C* 1984; 79(1):193-204.

Ostrowski-Meissner HT. Effect of contamination of diets with aflatoxins on growing ducks and chickens. *Trop Anim Health Prod* 1983; 15(3):161-8.

Osweiller GD, Carson TL, Buck WB y VanGelder GA. *Clinical and Diagnostic. Vet. Toxic.* .rd ed Kendall/Hunt, Iowa, 1985: pp 409-450.

Park DL y Liang B. Perspectives on aflatoxin control for human food and animal feed. *Trends in Food Science and technology* 1993; 4:334-342.

Patterson DSP y Roberts BA. The formation of aflatoxins B2a and G2a and their degradation products during the vitro detoxification of aflatoxin by liver of certain avian and mammalian species. *Fd. Cosmet. Toxicol* 1970; 8: 527-538.

Patterson DSP. Metabolism as a factor in determining the toxic action of the aflatoxins in different animal species. *Food Cosmet. Toxicol* 1973; 11: 287-294.

Pier AC. and McLoughlin ME. Mycotoxic suppression of immunity. In: Lacey J. Ed *Trichothecens and Other Mycotoxins*. Wiley and Sons, Chichester, 1985: pp. 507-519.

PIER, A. Major Biological Consequences of Aflatoxicosis. in *Animal Production. J. Anim. Sci.* 1992; 70: 3964-3967.

Placinta CM, D'Mello JPF. and Macdonald AMC. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 1999; 78: 21-37.

Quezada TT, Cuellar PLH, Martínez AA, Valdivia FA y Rebollar SE. Secuencia de los efectos de la aflatoxina B₁ sobre el riñón e hígado de pollos en desarrollo. XVIII Convención nacional ANECA, Cancún, Quintana Roo, México. 1993: pp 226-231.

Quist CF, Bounous DI, Kilburn JV, Nettles VF, Wyatt RD. The effect of dietary aflatoxin on wild turkey poults. *J Wildl Dis* 2000; 1;36(3):436-44.

Rao VN y Joshi HC. Rffect of certain drugs on acute induced aflatoxicosis in chicken (4 mg aflatoxina B1/kb bwt). *Indian vet. J* 1993; 70: 344-347.

Richarson KE, Nelson LA y Hamilton PB. Effect of dietary fat level on dose response relationships in young chickens. *Poult. Sci* 1987; 66: 640-644.

Richarson KE, Nelson LA y Hamilton PB. Interaction of dietary protein level on dose response relationships during aflatoxicosis in young chickens. *Poult. Sci* 1987b; 66: 969-976.

Roncucci R, Verry M y Jeanniot JP *Interaccions between, Nutrition, food and drugs in Man*. World Rev. Nutr. Diet. Vol. 43. U.S.A. 1984.

Ross PF, Nelson PE, Richard JL, Osweiler GD; Rice LG, Plattner RD y Wilson TM. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolate associated whit equine leukoencephalomalacia and pulmonary edem syndrome in swine. *Appl. Environ. Microbiol* 1990; 56: 3224-3226.

Rustom IYS. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry* 1997; 9(1): 57-67.

Sawhney DS, Vadehra DV y Baker RC. The metabolism of ¹⁴C aflatoxins in laying hens. *Poult. Sci* 1973; 52: 1302-1309.

Schaffer J, Tyczkowski JK y Hamilton PB. Depletion of owycarotenoid pigments in chickens and the failure of aflatoxina to alter it. *Poult. Sci* 1988; 67: 1080-1088.

Scudamore KA, Yamashita A y Hetmanski MT. Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs. II Determination of mycotoxins in maize and maiza products. *Food Addit. Contam* 1998; 15: 30-55

Shetty SN, Asuzu IU y Anika SM. Aflatoxin conyamination of animal feedstuffs in Anambra State. *Trop. Vet* 1987; 5: 21-25.

Smith JE y Ross K. The toxigenic *Aspergilli*, in: Smith, J.E & Henderson, R.S. (eds) *Mycotoxins and Animal Foods*. Boca Raton, CRC Press, 1991: pp 101 – 118.

Smith JW y Hamilton PB. Aflatoxicosis in the broiler chicken. *Poult Sci* 1970; 49(1):207-15.

Sweeney MJ y Dobson ADW. Mycotoxin production by *Aspergillus* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology* 1998; 43: 141-158.

Sydenham EW, Shephard GS, Thiel PG, Marasas WFO, Rheeder JP,. Peralta-Sanhueza CA, Gonzalez HHL y Resnik SL. Fumonisin in Argentinian field-trial corn. *J. Agric. Food Chem* 1993; 41: 891-895.

Takahashi T. Distribution and characteristics of aflatoxin-production *Aspergillus flavus* in the soil of Kanagawa prefecture, central Japan. *Mycopathologia* 1993; 121: 169-173.

Torres Felipe. Dinámica económica de la industria alimentaria y patrón de consumo en México. Instituto de Investigaciones Económicas de la UNAM. México, 1997.

Trucksess MW y Stoloff L, Young K, Wyatt RD. Aflatoxicol and aflatoxins B1 and M1 in eggs and tissues of laying hens consuming aflatoxin-contaminated feed. *Poult. Sci* 1983; 62: 2176-2182.

Tungs HT y Cook RD, Wyatt PB and Hamilton PB. The anemia caused by aflatoxina. *Poultry Sci* 1975; 54: 1962-1969.

Tyczkowski JK y Hamilton PB. Altered metabolism of carotenoids during aflatoxicosis in young chickens. *Poult. Sci.* 66: 1184-1188. 1987

Viquez OM, Castell-Perez ME y Shelby RA. Occurrence fumonisin B1 in maiz grown in Costa Rica. *J. Agric. Food Chem* 1996; 44: 2789-2791.

Virdi JS, Tiwari RP, Saxena M, Khanna V, Singh G, Saini SS, Vadehra DV. Effects of aflatoxin on the immune system of the chick. *J Appl Toxicol* 1989 ; 9(4):271-5.

Visconti A y Marasa WFO, Millar JD and Riley R. Tercera conferencia internacional mixta FAO/OMS/PNUMA sobre micotoxinas. *Micotoxinas de interés creciente*. Túnez, Túnez. 3-6 marzo. 1999

Wang E, Norred WP, Bacon CW, Riley RT y Merrill AH. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisin. *J. Biol: Chem* 1991; 266: 14486-14490.

Yoshisawa H, Uchimaru R, Kamataki T, Kato R y Ueno Y. Metabolism and activation of aflatoxin B1 by reconstituted cytochrome P-450 system of rat liver. *Cancer Res* 1982; 23: 1120-1124.

12. DISCUSIÓN GENERAL

Los hongos toxigénicos junto con sus metabolitos están ampliamente distribuidos en la naturaleza y han sido detectados en muchos cultivos agrícolas (Betina, 1989). La FAO (1999) estima que cerca del 25% de los cereales en todo el mundo presenta al menos un tipo de micotoxina. Las principales micotoxinas que regularmente se encuentran en los cereales son aflatoxinas, zearalenona, ocratoxina A, deoxinivalenol y fumonisinas (Moreno y Gutiérrez, 1991; Miller, 2001; Árpád, 1999). Dentro de estas micotoxinas una de las primeras de las que se han tenido referencia en cuanto a sus características estructurales y su mecanismo de acción son de las aflatoxinas (Betina, 1989; Smith y Ross, 1991; Coulombe, 1993), siendo las fumonisinas una de las más recientemente descubiertas, asociada con ciertas enfermedades en animales como son la leucoencefalomalacia en equinos (LEME) y edema pulmonar porcino (EPP). El mecanismo general de acción de las fumonisinas es la disrupción de síntesis de esfingolípidos (Whang *et al*, 1991 ; Rosiles *et al*, 1996; Visconti *et al.*, 1999; Marasa *et al.*, 2001).

Los diversos metabolitos tóxicos producidos por hongos (micotoxinas) con capacidad toxigénica se asocian con diferentes patologías, provocando manifestaciones clínico-productivas y reproductivas diversas, esto debido a que las micotoxinas alteran diversos caminos metabólicos celulares o bien alteran rutas metabólicas similares. El estudio del efecto combinado de las micotoxinas constituye un área de gran interés, pudiendo generar un efecto de interacción enmarcado dentro de los principios de toxicología conocido como aditividad, sinergismo y antagonismo.

La aditividad se presenta cuando el efecto de dos micotoxinas es igual a la suma del efecto de cada micotoxina suministrada individualmente (D'Mello *et al*, 1997; Medina-Martínez y Martínez, 2000; Jaramillo, 2005).

El sinergismo sucede cuando el efecto total de dos micotoxinas es mayor al la suma individual de sus efectos individuales, aún en concentraciones bajas, las cuáles en muchas ocasiones consideradas como no tóxicas para los animales o el humano.

El antagonismo es cuando una micotoxina interfiere con el de la otra (Betina, 1989; Cawood *et al.*, 1991).

En todos los Continentes las diferencias climáticas entre el Norte, Centro y Sur favorecen el desarrollo de distintas especies de hongos. Las aflatoxinas son comunes en condiciones climáticas húmedas y cálidas como las que existen en América Latina, Asia y África y en ciertos lugares de Australia. Sin embargo durante el invierno se presentan las condiciones de humedad que junto con la temperatura dan las condiciones ideales para las fumonisinias, zearalenonas, vomitoxinas, toxinas T2 y ocratoxinas (D'Mello, 1997; Jelinek *et al.*, 1989 Juszkievicz *et al.*, 1992; Placinta *et al.*, 1999).

El presente proyecto incluye 4 trabajos preparativos y uno final, tomando al pollo de engorda como modelo de estudio del efecto de interacción (sinérgico o aditivo) de las aflatoxinas y las fumonisinias:

- 1) Se estandarizó la técnica y la metodología para la producción de fumonisinias.
- 2) Ajuste de la concentración en alimento de las aflatoxinas y las fumonisinias en base a la literatura consultada y experiencia previa.
- 3) Se realizó un trabajo experimental previo *in vivo*, con pollos de engorda para observar el efecto de las concentraciones iniciales propuestas para aflatoxinas y fumonisinias.
- 4) Evaluación *in vitro* del efecto de las aflatoxinas y las fumonisinias en células intestinales porcinas (estancia en Toulouse, Francia)
- 5) Trabajo final *in vivo* "El pollo de engorda como modelo de estudio del efecto conjunto de las aflatoxinas y las fumonisinias".

La producción de fumonisinias fue a partir de una cepa de *Fusarium moniliforme*, donada por el Dr. Plasencia de la Parra investigador de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para la producción de fumonisinias se siguió la metodología descrita por Dilkin *et al* (2002). Tomando como metodología final una

humedad de 42%, temperatura a 25°C y un tiempo de 45 días utilizando al maíz como sustrato.

El ajuste de la concentración de aflatoxinas se hizo según trabajos de investigación previo, en donde se utilizó 500 µg de AFB1/ kg de alimento (Hernández, 2005; Canela, 2005; Hernández, 2006; Del Río *et al*, 2006), y para la fumonisinas se utilizó la información de Robledo *et al*. (2001) quienes mencionan que la concentración promedio encontrada en maíz de México fue cercana a 3 mgde FB/kg de maíz.

Se realizó un experimento piloto para evaluar el efecto y la respuesta del pollo de engorda a estas concentraciones, por un período de 21 días. No se observó efecto sobre el peso e indicadores bioquímicos evaluados. La explicación a la falta de respuesta es que la concentración de 0.5 mg de AFB/ kg de alimento fue utilizada únicamente por 21 días y no de 49 días (Del Río *et al*, 2006; Osborne *et al.*, 1982; DaFalla *et al.*, 1987) por lo que no fue tiempo suficiente para que se produjera una acumulación gradual. Por tal motivo se recomendó realizar otro desafío *in vivo* utilizando concentración de 1 ppm y 1.5 ppm de AFB por kilo de alimento por un periodo de 21 días. Durante éste tiempo se observó un efecto similar al utilizar 1 y 1.5 mg de AFB /kg de alimento, sobre parámetros productivos, química sanguínea y alteraciones morfológicas. Decidiendo utilizar la concentración de 1 mg de AFB /kg de alimento.

Durante la estancia en el Instituto Nacional de Investigación Agronómica “INRA” en Toulouse, Francia, se realizó el proyecto de investigación “Evaluación de la citotoxicidad de la aflatoxina B1, la fumonisina B1 y combinación de ambas micotoxinas en células intestinales de porcino”, correspondiendo a uno de los artículos enviados para su evaluación y publicación en la Revista Iberoamericana de Micología, el cuál fue aceptado para su publicación (anexo escrito y carta de aceptación enviada por la revista). El objetivo de este trabajo consistió en evaluar el efecto de AFB1 y FB1 sobre la morfología, la capacidad proliferativa celular, citotoxicidad y síntesis de interleucina 8 (IL-8) en una línea celular de epitelio intestinal porcino (IPEC-1). En el presente estudio es posible observar el efecto *in vitro* individual y combinado de AFB1 y FB1 sobre células epiteliales intestinales

(CsEI) a distintas concentraciones, siendo de especial interés el efecto que causa la combinación de AFB1 y FB1 en concentraciones de 1.3 μM /3.7 μM , 2 μM /3.7 μM y 5 μM /10 μM respectivamente, estas concentraciones en μM corresponden a 1.3 μM =1.04 ppm, 3.7 μM =2.96 ppm, 2 μM =1.6 ppm, 5 μM =4 ppm y 10 μM = 8 ppm (Bouhet *et al.*, 2004). Respecto a la morfología celular se vio afectada únicamente en las concentraciones más altas de AFB1 (50 y μM = 50 ppm) y FB1 (500 μM = 500 ppm) por lo que la integridad de las células epiteliales intestinales porcinas fue susceptible a AFB1 y a la combinación AFB1/FB1, no así para la FB1, siendo necesario concentraciones de 500 μM de FB1 para alterar la morfología celular e incrementar significativamente las cantidades de LDH libres en el sobrenadante por daño celular (Pozzi *et al.*, 2001; Bouhet *et al.*, 2005; Schmelz *et al.*, 1998). Respecto a la proliferación celular, el daño celular y síntesis de IL-8 se afectaron al estar presentes en combinación la AFB1/FB1 (1.3/3.7; 2/3.7 y 5/10 μM respectivamente) al compararlo con el efecto individual de estas micotoxinas a las mismas concentraciones (Kumar *et al.*, 1993; McKean *et al.*, 2006; Rheeder *et al.*, 1992). Los datos obtenidos indican que la combinación de AFB1/FB1 en concentraciones bajas muestra un efecto sinérgico, alterando la morfofisiología de las células utilizadas, lo que puede implicar *in vivo* alteración en el desempeño productivo a estas concentraciones. Los estudios *in vitro* aportaron datos valiosos sobre el comportamiento conjunto de las aflatoxinas y las fumonisinas en concentraciones relativamente consideradas como bajas.

Los trabajos previos aportaron datos para ajustar la concentraciones a utilizar en el trabajo final de 1 mg de AFBs / kg de alimento y de 3 mg de FBs /kg de alimento.

Se anexa el trabajo final del proyecto de investigación “El pollo de engorda como modelo de estudio del efecto conjunto de las aflatoxinas y las fumonisinas”.

13. COMENTARIOS GENERALES DEL PROYECTO.

La contaminación de alimentos con AFB y FB es bien conocida en muchas partes del mundo, y ha sido implicada en el desarrollo de carcinomas hepatocelulares en humanos y animales (Jindal *et al*, 1993, Chen *et al*, 1992). El efecto individual de AFB y FB ha sido motivo de varios estudios, sin embargo existen pocos trabajos que caractericen el efecto aditivo y/o sinérgico de la presencia de AFBs y FBs *in vivo* y *in vitro*.

Se menciona que en China la presencia de cáncer primario hepático se asocia a AFB1 y FB1 presentes en el alimento (Chen *et al*, 1992). En un trabajo realizado en ratas tratadas con AFB1 y FB1 de manera secuencial, se incrementaba significativamente el potencial cancerígeno de FB1. En pavos se observó un efecto sinérgico al consumir alimento que contenía AFB1 y FB1.

Los efectos de las micotoxinas dependen entre otros factores del tiempo de exposición, la dosis y el tipo o tipos de micotoxinas presentes (Pier y McLoughlin, 1985). Las aflatoxicosis experimentales inducidas en pollos de engorde por dietas contaminadas generalmente utilizan concentraciones considerables (5 mg de AFB /kg de alimento) que permiten observar cambios morfológicos en órganos y signos clínicos agudos en breves periodos de exposición (Terse *et al*, 1993 Tolleson *et al*, 1996), no así para los trabajos realizados con fumonisinas, ya que diversos autores reportan que para causar alteraciones en necesario mas 300 mg de FB/kg de alimento, la cuál es una concentracion muy elevadas (Brown *et al*, 1992; Kubena *et al*, 1997; Ledoux *et al*, 1999; Bailly et al 2001).

Se ha descrito que la ingestión de micotoxinas ocasiona en aves cambios en la actividad sérica de varias enzimas, especialmente de aquellas que están relacionadas con el hígado (Brown *et al.*, 1992; Fernandez *et al.*, 1994; Arshad *et al.*, 1993; Kumar *et al.*, 1993), dentro de las cuales están la aspartato-aminotransferasa (AST) y alanino-aminotransferasa (ALT), gama glutamil transferasa (GGT), lactato deshidrogenada (LDH) entre otras (Allameh *et al*, 2005; Bolger *et al*, 2001; Stadnyk, 2002). Los hallazgos morfológicos macroscópicos reportados son hepatomegalia, bordes del órgano redondeados, consistencia friable, hemorragias petequiales en superficie, palidez con decoloración amarillenta (Haschek *et al*, 2001; Yoo *et al*, 1991), microscópicamente se describe degeneración lipídica con

vacuolación de los hepatocitos y necrosis, aumento de tamaño del núcleo, cariomegalia y rápida proliferación de los conductos biliares (Mobio *et al.*, 2000; Yoo *et al.*, 1991).

La utilidad de recurrir a pruebas bioquímicas relacionadas con la función hepática permite evaluar el grado de alteración metabólica ocasionada por las micotoxinas en las aves, sin embargo son pruebas poco o nunca utilizadas en esta especie en campo (Ellis *et al.*, 1991; Rheeder *et al.*, 1992).

Aun cuando en el país se ha demostrado que las aflatoxinas y las fumonisinas están presentes en las materias primas utilizadas para los alimentos balanceados de las parvadas en concentraciones variables (Flores *et al.*, 2006; Méndez-Albores *et al.*, 2004; Robledo *et al.*, 2001; Rosiles *et al.*, 1996), no se ha evaluado profundamente el perfil hepático de las aves ante agentes biotóxicos específicos, que permitan hacer una evaluación temprana de las alteraciones funcionales en presencia de aflatoxinas y/o fumonisinas o de otras micotoxinas como manifestación temprana de intoxicación subclínica que incide negativamente en los indicadores productivos.

14. CONCLUSIONES

En base a las consideraciones descritas anteriormente y a los trabajos experimentales realizados en este proyecto, se puede concluir que la presencia de fumonisinas y aflatoxinas en las concentraciones utilizadas tiene un efecto sinérgico, originando alteraciones morfofuncionales mayores que cuando actúa cada micotoxina de forma individual. El estudio de las fumonisinas como una micotoxina mas que esta presente en el alimento, comienza a tomar relevancia en salud humana y salud animal, pero a pesar de esto en las aves y en la producción avícola nacional no es tomada en cuenta o no se considera una micotoxina de interés en el medio.

Sería conveniente continuar realizando estudios con concentraciones menor de aflatoxina ssemejantes a las reportadas en campo, como fue la utilizada para fumonisinas y que es la reportada en México por Robledo *et al.*, (2001).

15. LITERATURA CITADA EN LA DISCUSIÓN.

Allameh A, Safamehr A, Mirhadi SA, Shivazad M, Razzaghi-Abyaneh M, Afshar-Naderi A. Evaluation of biochemical and production parameters of broiler chicks fed ammonia treated aflatoxina contaminated maize grains. *Animal Feed Science and Technology* 2005; 122: 289-301.

Árpád. B y Radomir, L. Detoxification of mycotoxin-contaminate food and feed by microorganisms. *Food Science and Technology*. 1999; 10: 223-228.

Arshad, S; M.Z. Khan; M. Siddique y M.T. Javed. Studies on enzymes level and residual effects of aflatoxins in experimentally induced mycotoxicosis in broiler chick. *Indian Vet. J.* 1993; 70(10): 898-902.

Bailly J.D., G. Benard., J.Y. Jouglar., S. Duran and P. Guerre. Toxicity of *Fusarium moniliforme* culture material containing known levels of fumonisin B1 in ducks. *Toxicology* 2001; 163: 11-22.

Betina V. *Mycotoxins. Chemical, biological and environmental aspects.* Amsterdam, Elsevier, 1989.

Bolger M, Coker RD, Dinovi M, Gaylor D, Gelderblom MO, Paster N, Riley RT, Shephard G, Speijers JA. Fumonisin. In *Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food.* Food and Agriculture Organization of the United Nations, paper 74. *World Health Organization Food Additives* 2001; 47: 103–279.

Bouhet S y Oswald IP. The effects of mycotoxins, fungal food contaminants, on the intestinal epithelial cell derived innate immune response. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 108: 199-209.

Brown TP, Rottinghaus GE y Williams ME. Fumonisin Mycotoxicosis in broilers: performance and pathology. *Avian Dis* 1992; 36: 450: 454.

Canela HA. Evaluación de la pigmentación en el pollo de engorda por medio de cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC), alimentando con dietas contaminadas con aflatoxina. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNAM. 2005.

Cawood, M, Gelderblom WCA, Vleggaar R, Behrend Y, Thiel PG, Marasas WFO. Isolation of fumonisin mycotoxins: A Quantitative Approach. *J Agric Chem* 1991, 39:1958-1962.

- Chen CJ, Zhang YJ, Lu SN, Santella RM. Aflatoxin B₁, DNA adducts in smeared tumor tissue from patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1992; 16: 1150-1155.
- Coulombe RA. 1993. Biological action of micotoxins. *J. Dairy Sci* 76: 880-891.
- Dafalla R, Yagi AI y Adam SEI. Experimental aflatoxicosis in Hybro-type chicks: sequential changes in growth and serum constituents and histopathological changes. *Vet. Hum. Toxicol* 1987; 29: 222-226.
- Del Río GJC, Ávila GE, Casaubon HMaT, Rosiles MR, Ledesma MN, Petrone MV, Moreno ME. Efecto del 25-hidroxicolecalciferol en presencia de aflatoxina B₁, sobre el rendimiento productivo y patología de patas del pollo de engorda. *REDVET*, Ref 120604, 2006; Vo. VII, No. 12.
- D'Mello JPF y Macdonald AMC. Mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 1997; 69: 155-166
- Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Oldham JH. Aflatoxin in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. *Critical Rev Food Sci and Nutri* 1991; 30: 403-439.
- FAO/OMS/PMA. Tercera Conferencia Internacional FAO/OMS/PMA sobre Micotoxinas. 1999
- Fernandez A, Verde MT, Gascon M, Ramos J, Gomez J., Luco DF y Chavez G. Variation of clinical biochemical parameters of laying hens and chickens fed aflatoxin-containing feed. *Avian Path* 1994; 23: 37-47.
- Flores OCM, Hernández LBP, Vázquez JM. Contaminación con micotoxinas en alimento Balanceado y granos de uso Pecuario en México en el Año 2003. *Tec Pecu Méx.* 2006; 44: 247-256.
- Haschek WM, Gumprecht LA, Smith G, Tumbleson ME, Constable PD. Fumonisin toxicosis in swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environ Health Perspect* 2001; 109: 251–257.
- Hernández RJO. Uso de un hepatoprotector y *Echinacea angustifolia* en pollos suplementados con alimento contaminado con aflatoxina de *Aspergillus flavus* Link. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán – UNAM. 2005.

Jaramillo ME. Hongos-Micotoxinas-Nutrientes: Interacciones y Efectos sobre Alimento, Digestión y Metabolismo en Aves. Memorias: III Curso de Patología Aviar y Patologías Nutricionales y Ambientales. Postgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela. Maracay, 04-08 de Junio Venezuela 2001; 2-9pp..

Jelinek CF, Pohland AE t Wood GE. Worldwidw occurrence of mycotoxins in foods and feeds an update. J. Assoc. Off. Anal. Chem 1989; 72: 223-230.

Jindal N, Mahipal SK, Mahajan NK. Occurrence of aflatoxin in compound poultry feeds in Haryana and effects of storage condiction on its production. Indian J Anim Sci 1993; 63: 71-73.

Juszkiewicz T y Piskorska-Pliszczynska J. Occurrence of mycotoxins in animal feeds. J Environ Pathol Toxicol Oncol 1992; 11(4):211-5.

Kubena LF, Edrington TS, Harvey RB, Buckley SA, Phillips TD, Rottinghaus GE t Caspers HH. Individual and Combined Effects of Fumonisin B1 Present in *Fusarium moniliforme* Culture Material and T-2 Toxin or Deoxynivalenol in Broilers Chicks. Poult Sci 1997; 76: 1239-1247.

Kumar AA, Chand SK, Roa AT., Bisoi PC y Mishra PK. Clinicopathological changes in experimental aflatoxicosis in quail. Ind. J. Poult. Sci 1993; 28(2): 150-153.

Kumar AA, Chand SK., Roa AT, Bisoi PC, Mishra PK. Clinicopathological changes in experimental aflatoxicosis in quail. Ind J Poult Sci 1993; 28: 150-153.

Ledoux DR, Bermudez AJ, Fritsche KL y Rottinghaus GE. Effects of fumonisin B1 on selected inmune respnses in broiler Chicks. Poul. Sci 1999; 78: 1275-1282.

Marasas WFO: Fusarium. Summerell BA et al. APS Press, St. Paul, 2001, cap. 24

Mayes PA. Metabolims of acylglycerols and sphingolipids in: Murray, R.K., Granner, D.K. Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. (eds) Harper´s Biochemistry. 21 ed. Appleton and Lange Norwalk, 1988: pp. 218-225.

McKean C, Tang L, Tang M, Billam M, Wang Z, Theodorakis CW, Kendall RJ, Wang JS. Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ in animals and human cells. Food Chem Toxicol 2006; 44: 868-876.

Medina-Martínez MS, and Martínez AJ. Mold occurrence and aflatoxina B1 and fumonisin B1 determination in corn simples in Venezuela. J. Agric. Chem 2000; 48: 2833-2836.

Méndez-Albores JA, Villa GA, Del Rio-García JC, Martínez EM. Aflatoxin-detoxification achieved with Mexican traditional nixtamalization process (MTNP) is reversible. *J Sci Food Agri* 2004; 84:1611-1614.

Miller JD et al. En: Fusarium. Summerell BA et al. APS Press, St. Paul, 2001, cap. 22
Mobio TA, Baudrimont I, Sanni A, Shier TW, Saboureau D, Dano SD, Ueno Y, Steyn PS, Creppy EE. Prevention by vitamin E of DNA fragmentation and apoptosis induced by fumonisin B1 in C6 glioma cells. *Arch Toxicol* 2000; 74: 112–119.

Moreno ME y Gutiérrez MG. La biología de *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas. Primera edición. UNAM, México D.F. 1991: pp 1-15.

Osborne DJ, Huff WE, Hamilton PB y Burtmeister HR. Comparasion of achratoxin, aflatoxina and T-2 toxin for their effects on selected parameters related to digestion and evidence for specific metabolism of carotenoids in chickens. *Poult. Sci* 1982; 61: 1646-1652.

Pier AC y McLoughlin ME. Mycotoxic suppression of immunity. In: Lacey J (Ed) *Trichothecens and Other Mycotoxins*. Wiley and Sons, Chichester 1985: 507-519.

Placinta CM, D'Mello JPF y Macdonald AMC. A review of word contamination of cereal grains and animal feed with mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 1999; 78: 21-37.

Pozzi CR, Correa B, Xavier JG, Direito GM, Orsi RB, Matarazzo SV. Effects of prolonged oral administration of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in rats. *Mycopathologia* 2001; 151: 21–27.

Rheeder JP, Marasas WFO, Thiel PG, Sydenham EW, Shepard GS, van Schalkwyk DJ. *Fusarium moniliforme* and fumonisin in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytophatology* 1992; 82: 353–357.

Rheeder JP, Marasas WFO, Thiel PG, Sydenham EW, Shepard GS, van Schalkwyk DJ. *Fusarium moniliforme* and fumonisin in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytophatology* 1992; 82: 353–357

Robledo Ma de L, Marín S y Ramos AJ. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y grano de café verde en el estado de Nayarit (México). *Rev Iberoam Mycol* 2001; 18: 141-144.

Rosiles MR, Garcia MT y Ross FP. Confirmación fisicoquímica de la Fumonisina B1 en maíz y alimento para equinos que murieron por leucoencefalomalacia. *Vet Mex* 1996; 27: 111 – 113.

Schmelz EM, Dombrink-Kurtzman MA, Roberts PC, Kozutsumi Y, Kawasaki T, Merrill AHJr. Induction of apoptosis by fumonisin B1 in HT29 cells is mediated by the accumulation of endogenous free sphingoid bases. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998; 148: 252–260.

Smith JE y Ross K. The toxigenic *Aspergilli*, in: Smith, J.E & Henderson, R.S. (eds) *Mycotoxins and Animal Foods*. Boca Raton, CRC Press, 1991. pp 101 – 118.

Stadnyk AW. Intestinal epithelial cells as a source of inflammatory cytokines and chemokines. *Can J Gastroenterol* 2002; 16: 241–246.

Terse P, Madhyastha MS, Zurovac O, Stringfellow D, Marquardt RR, Kemppainen BW. Comparison of in vitro and in vivo biological activity of mycotoxins. *Toxicon* 1993; 31: 1–7.

Tolleson WH, Melchior WB Jr, Morris SM, McGarrity LJ, Domon OE, Muskhelishvili L, James SJ, Howard PC. Apoptotic and anti-proliferative effects of fumonisin B1 in human keratinocytes, fibroblasts, esophageal epithelial cells and hepatoma cells. *Carcinogenesis* 1996; 17: 239–249.

Wang E, Norred WP, Bacon CW, Riley RT y Merrill AH. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisin. *J. Biol: Chem* 1991; 266: 14486-14490.

Yoo H, Norred WP, Wang E, Merrill AHJr, Riley RT. Sphingosine inhibition of *de novo* sphingolipid biosynthesis and cytotoxicity are correlated in LLC-PK1 cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992; 114: 9–15.

16. ANEXOS

- a) **Del Río GJC**, Ávila GE, Casaubon HMaT, Rosiles MR, Ledesma MN, Petrone MV, Moreno ME. Efecto del 25-hidroxicolecalciferol en presencia de aflatoxina B₁, sobre el rendimiento productivo y patología de patas del pollo de engorda. REDVET, Ref 120604, 2006; Vo. VII, No. 12.
- b) **Del Río GJC**, Moreno RC, Pinton P, Mendoza ES, Oswald I. Evaluación de la citotoxicidad de la aflatoxina y la fumonisina en células intestinales de porcino. Rev. Iberoam Micol, 2007; 24: 136-141.
- c) A. Méndez-Albores, **J.C. Del Río-García**, E. Moreno-Martínez. Decontamination of aflatoxin duckling feed with aqueous citric acid treatment. Anim Feed Sci Tech, 2007: 249-262.
- d) **Del Río JCG**, Moreno RC, López CC Ávila GE, García CD¹, Hernández VAM⁴, Méndez AA, Moreno ME. El pollo de engorda como modelo de estudio del efecto conjunto de las aflatoxinas y las fumonisinas (trabajo a publicar).