



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**EVALUACION DEL EFECTO DE LAS OCRATOXINAS Y LAS AFLATOXINAS
SOBRE LOS PARAMETROS PRODUCTIVOS EN POLLOS DE ENGORDA
VACUNADOS CONTRA LA COCCIDIOSIS AVIAR.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
JOSE ANTONIO RINCON DELGADO**

ASESOR DR. JUAN CARLOS DEL RIO GARCIA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX

2009



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.

AGRADECIMIENTOS:

A MIS PADRES:

Gracias por haberme brindado tanto tiempo, tanto esfuerzo, tanto sacrificio pero sobre todas las cosas por haberme llenado tanto de amor, sin ustedes nada de lo que eh llegado a realizar hubiese sido posible sus valores y sus principios son la base de mi educación gracias "Toño" y "Lupita" por hacerme el hijo más afortunado del mundo.

A MIS HERMANAS:

Bianca y Ángel que puedo decir de ustedes si no que son las mejores hermanas que cualquier persona pudiera tener y desear, porque entre nosotros nunca ha habido distinciones, envidias y rencores ustedes también son parte fundamental de este logro y son parte de mi vida y de mi ser las adoro a ti "negrita" por ser una hermana comprensiva capaz de dejar todo por nosotros, y a ti "gordita" por enseñarme que lo más importante es el amor de la familia.

A VALE Y A ANGEL ANTONIO:

A ti Vale por ser el tesoro de esta familia y hacer mis días más felices y siempre ser parte de mis pensamientos y enseñarme con tu inocencia que todavía existe la pureza en este mundo y sabes que siempre puedes contar conmigo porque a pesar de todo lo que pase tu nunca vas a dejar de ser mi niña consentida te quiero Vale preciosa.

Ángelito ahora que eres parte de mi vida solo quiero que sepas que eres el suerito que ilumina nuestra vida y que tus risitas cada día hacen que este mundo se vea mejor te quiero precioso.

A GLAUDA:

Mi amor gracias por ser parte de mi vida, de mis triunfos y mis anhelos, mis derrotas y fracasos, gracias por enseñarme a saber que el verdadero amor existe y que con tu ternura y el gran amor que me profesas me haces ser una mejor persona cada día solo tú y Dios saben que inmenso es el amor que te tengo te amo mi amor y solo quiero darte las gracias por tu comprensión y por tu paciencia.

A MIS ABUELOS:

Gracias a ellos por permitir que yo esté aquí este triunfo es parte de ellos que aunque ya no están aquí parte les pertenece Cteofás Rincón (q.e.p.d), Manuel Delgado (q.e.p.d), Angelita Roque (q.e.p.d) Paz Solís (q.e.p.d) gracias abues donde quiera que estén.

A MIS TÍOS:

A Reynol Rincón gracias por tu apoyo por ser parte de nuestra familia y siempre estar al pendiente de nosotros, tus enseñanzas me han hecho crecer como persona y ese espíritu de lucha lo transmites a cualquiera gracias por todo cariño tío te quiero mucho.

A ti tío Efrén que pocas personas en el mundo son como tu sensibilidad con la gente es lo que te hace ser diferente de los demás y que siempre estas al pendiente de nosotros y gran parte de mi inspiración para ser profesionista depende de ti gracias tío "chátito".

A mi tía América cuando pienso en ti lo primero que se me viene a la mente es la gran mamá que eres y que a pesar de todo lo que tuviste que sufrir sigues siendo una gran persona y como no también pensar en ese gran sazón que te caracteriza gracias por ser un ejemplo a seguir tanto para tus hijos como para tus nietos y sobrinos te quiero tía Ame.

A ti tío José por ser el ejemplo para mis tíos y mi padre y ser ese roble que nunca verá doblarse y a pesar de tener que sortear todas las trabas de la vida sigues y seguirás siendo tan grande que nada ni nadie te podrá doblar.

A mi tía Celia por estar al pendiente de mí y nunca doblarte gracias por tus enseñanzas.

A MIS PRIMOS:

A Jonathan por ser un amigo a pesar de ser mi primo y por estar conmigo las veces que necesita de alguien cuando no estaba mi familia y por preocuparte siempre por mí.

A Luis Rincón por enseñarme a superarme y a tener objetivos fijos en la vida y nunca rendirse a mitad del camino y por ser un gran primo.

A Lorena y Alfredo Rincón por ser parte de mi infancia y siempre estar conmigo.

A Felipe a Esperanza y a Itzel Rincón por ser mis amigos y por todas las experiencias que hemos vivido como familia y por ser parte de mí.

A Carmen Delgado por siempre ser tan aliviada y tratar de comprender mi situación gracias prima por todo.

A MIS AMIGOS:

A Etienne Mira por ser siempre mi amigo y siempre tomarme en cuenta para muchos planes de tu vida aunque casi no nos vemos yo sé que siempre puedo contar contigo gracias "Eti".

A Gustavo Medel por ser una persona sencilla y sensible la cual me ha enseñado a creer en las metas en la vida y no sucumbir en el intento a pesar de lo malo que se pueda pasar gracias "Gu".

A Luis Salgado por ser mi amigo desde el primer día en que entre a la universidad y nunca dejar de serlo y por tratar de cambiar al mundo nunca dejándote influenciar por la manipulación de este sistema.

A Miguel Ortiz por estar conmigo en cualquier momento y ser una persona amable la cual me ha enseñado que a pesar de lo que ha vivido aun cree en un futuro mejor gracias "Motita".

A Héctor Rodríguez por ser mi amigo y por siempre tratar de apoyarme en la escuela y porque siempre nos unió la música gracias "Chay".

A Marco Figueroa por ser mi amigo desde que íbamos en el GCF y por demostrarme que a pesar de que han pasado los años tu amistad sigue ahí sin que nada ni nadie la rompa gracias Marco.

A Iván Morales uno de mis mas grandes amigos de la infancia el cual me enseñó que luchando siempre uno progresa y sale adelante a ti "cabezón" gracias.

A Elias Mario fuiste parte de mi infancia fuiste cómplice de las travesuras que seíamos hacer pero sobre todo tu amistad me enseñó a valorar muchas cosas buenas de la vida gracias "gordo".

A José Luis mi gran amigo de la secundaria gracias por estar conmigo en esos buenos años de juventud gracias por todo "Choché".

Gracias a "a las "Patys", a "Ale", a las "Marys" "Chucho", a "Iván" a "Rubén", a "Kasimba", "Palencia", a "Poncho", a "Julían" al "Pelos".

También quiero agradecer a todos los amigos que se vída mencionar y a todos aquellos que por una u otra razón se víde espero me disculpen pero la lista es muy inmensa gracias a todos.

A MIS ASISTENTES

Dr. Juan Carlos del Río García gracias por haberme dado la oportunidad de ser uno de sus tesisistas, y siempre apoyarme en todo momento que lo requerí, gracias por ser tan buen profesor pero sobre todo por tener una calidad humana impresionante gracias por todo su apoyo "doc".

A MIS PROFESORES.

A todos los profesores que desde el kinder y hasta la universidad me han forjado como profesionista y como ser humano gracias "profes".

A LA U.N.A.M.:

Al hercico Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Vallejo el cual representa una gran parte de mi educación tanto como universitario y como persona gracias por todas tus enseñanzas contigo esta mi espíritu y mi raza, "tequila con añejo arriba Vallejo".

A me querida FÉST CAMPO, por ser la responsable de que yo tenga una profesión en la vida y tratar de ser alguien más humano, por darme todos mis estudios y todo el corazón para poder estudiar esta profesión gracias U.N.A.M.

A MIS PERRITOS.

Gracias "winnie" y "peluso" por ser parte de mi vida y acompañarme en mis momentos de soledad y siempre estar de buenas conmigo aunque yo no lo esté gracias por dejarme estudiarlos y por ser una parte muy importante de mi vida, y a ti "missi" que aunque te me fuiste antes de tiempo fuiste un gran impulso para estudiar lo que ahora estudio gracias donde quiera que estés nunca te olvidare.

A DIOS.

Gracias Dios mío por dejarme terminar mi carrera y por levantar mi fe cuando alguna vez la perdí en el camino y con ella me pude perder yo y sobre todo por ayudarme a ser un mejor ser humano cada día.

INDICE

Resumen.....	4
Introducción.....	5
Coccidiosis.....	7
Historia de la coccidiosis.. ..	7
Localización y Lesiones.....	7
Ciclo Evolutivo.....	8
Patogénesis.....	12
Signos clínicos y Diagnostico.....	12
Control.....	12
Profilaxis.....	13
Inmunización.....	14
Hongos y Micotoxinas.....	15
Especies de Hongos Productores de Aflatoxina.....	15
Historia de las Micotoxinas.....	17
Condiciones que necesitan los hongos para sintetizar aflatoxinas.....	19
Estructura Química de la Aflatoxina y su clasificación.....	19
Biotransformación.....	21
Dosis y Signos Clínicos.....	25
Aflatoxicosis aguda.....	25
Aflatoxicosis crónica.....	26
Patógena.....	28
Alteraciones Morfofisiológicas.....	29
Macroscópicos.....	29
Microscópicas.....	30
Proteínas y albúmina.....	30
Concentración Enzimática.....	31
Hematocrito.....	33
Especies de Hongos Productores de Ocratoxina.....	34
Condiciones que necesitan los hongos para sintetizar ocratoxina.....	34
Estructura Química y clasificación.....	35

Biotransformación.....	35
Signos según dosificación.....	38
Dosis aguda.....	38
Dosis subcrónica.....	38
Alteraciones morfofisiológicas.....	41
Proteínas y albúmina.....	42
Concentración Enzimática.....	42
Bilirrubinas.....	43
Justificación.....	45
Hipótesis.....	46
Objetivo.....	47
Materiales y metodología.....	49
Diseño experimental.....	4
Parámetros a evaluar.....	49
Análisis Estadístico.....	50
Resultados.....	51
Peso.....	51
Consumo de alimento.....	52
Conversión alimenticia.....	53
Transaminasas.....	55
Proteínas y Albúmina.....	56
Hematocrito.....	57
Bilirrubinas.....	58
Discusión.....	60
Peso.....	60
Consumo de alimento.....	61
Conversión alimenticia.....	61
Transaminasas.....	62
Proteínas y Albúmina.....	64
Hematocrito.....	65
Bilirrubinas.....	65

Conclusiones.	67
Bibliografía.....	68

Resumen.

La coccidiosis es una infección parasitaria causada por los protozoarios intestinales del género *Eimeria sp*, disminuyendo el rendimiento en la ganancia de peso en el pollo de engorda, conversión alimenticia y en casos severos la muerte de las aves afectadas. Entre las especies que afectan al pollo de engorda y que se consideran de importancia económica están: *Eimeria acervulina*, *E. máxima* y *E. tenella*. Frente al problema del aumento en la resistencia a las drogas en programas de prevención, el uso de vacunas es en la actualidad la mejor alternativa para el control de la infección, ya que se estimula la inmunidad sin inducir el fenómeno de resistencia a los anticoccidiales. Sin embargo hay ocasiones en que el uso de vacunas no produce los resultados esperados, y esto se debe a la presencia de micotoxinas tales como las aflatoxinas y las ocratoxinas. Las micotoxinas y los parásitos intestinales provocan por separado grandes pérdidas económicas para el avicultor, ya que estas afectan significativamente las variables productivas de las aves principalmente a las más jóvenes. En este trabajo se evaluó el efecto conjunto de la presencia de *Eimeria spp* y micotoxinas, sobre el peso, consumo diario de alimento y la conversión alimenticia, así como las alteraciones ocasionadas en la bioquímica sanguínea. La presencia de aflatoxinas u ocratoxinas en alimento en los grupos, aflatoxinas vacunado (AFBV), aflatoxina más vacunado más desafío (AFBVD), ocratoxina vacunado (OTAV) y ocratoxina vacunado más desafío (OTAVD), son concentraciones consideradas bajas (460 ppb y 556 ppb respectivamente), así como la presencia de *Eimeria spp* afectaron negativamente el peso, el consumo diario y la conversión alimenticia ($p < 0.05$), del mismo modo se afectó la concentración sérica de proteínas, transaminasas y bilirrubinas. En las aves que fueron vacunadas y que consumieron alimento con ocratoxinas se vieron afectadas, observándose un menor grado de protección vacunal apreciándose un daño intestinal similar a las aves que únicamente fueron desafiadas. ($p < 0.05$). Sin embargo cabe señalar que las aves vacunadas y que no consumieron alguna de las micotoxinas utilizadas en este estudio, mostraron un comportamiento productivo mejor, que las aves que no recibieron vacuna, ni micotoxinas. Lo que representa un beneficio que incide en mejoras ganancias económicas para el productor.

Introducción.

En los últimos años la evolución de la economía mexicana se tradujo en una mayor demanda por alimentos, lo cual fue un factor 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 un estimado del 42% del mercado de carnes de nuestro país (67).

Dentro del contexto socioeconómico del país, las actividades pecuarias tienen una gran importancia ya que, proporcionan alimentos y materias primas, divisas, empleo, distribuyen ingresos en el sector rural. La ganadería, y en específico la producción de carne, es la actividad productiva más común en el medio rural, pues se realiza sin excepción en todas las regiones ecológicas del país y aún en condiciones adversas de clima que no permiten la práctica de otras actividades productivas (87).

La producción de carnes en México se sustenta en diferentes ramas de la ganadería, dentro de las cuales sobresalen la bovina, la porcina y la avícola, que en conjunto aportan el 98% de la producción doméstica de productos cárnicos, el resto de las actividades destinadas a la producción de carne, como son la producción ovina, caprina, la de conejos y la de pavos, entre otros, mantienen una posición restringida e influenciada por los hábitos de consumo de la población, así también por regiones establecidas de consumo en el territorio nacional además de los precios fluctuantes de éstas. Tenemos que dentro de la producción de carne hay una gama muy extensa de sistemas de producción dentro de los que destacan, las granjas de producción con un alto nivel de tecnología, hasta pequeños productores para autoconsumo (traspatio) (85).

Para el año 2000 la producción de carne de pollo, fue de 1, 825,249 toneladas, 5.1% superior al año anterior. El CNA de carne de pollo en 2001 se situó en 1, 928,022 toneladas, en términos generales 5.3% superior a la del año precedente. El consumo *per cápita* anual estimado fue de 20kg (119).

La producción preliminar de carne de pollo en 2002 ascendió a 2, 011,500 toneladas, marcando un crecimiento de 4.3% con respecto al año previo, con lo que se aseguró un abasto creciente, tanto para el mercado de carne fresca, como para la industria alimenticia. El volumen de la producción de carne de pollo en el 2003 se ubicó en el orden de las 2,160,400 toneladas, ocupando el 45% de la producción nacional de carne en México (120).

El CNA de carne de pollo en 2004 continuó, su crecimiento, para situarse en 2, 490,700 toneladas, 8.1% más que en 2002, con el cual se aseguró una disponibilidad “*per cápita*” de 23.9 kilogramos al año (120).

Las enfermedades que afectan el tracto intestinal de las aves tienen un impacto considerablemente negativo sobre la eficiencia productiva de las mismas en las diversas ramas de la avicultura. El daño que provocan los agentes patógenos a nivel intestinal repercute directamente sobre la absorción de nutrientes y por lo tanto sobre la ganancia de peso y conversión alimenticia (73,91). Teniendo en cuenta que los costos de alimentación representan el 70 % de costos de producción en aves de engorda, el impacto económico es considerable (71).

Es bien sabido que esta enfermedad parasitaria, tiene una alta prevalencia en los sistemas avícolas, y los pollos de engorda pasan prácticamente el 90% de su vida productiva (entre 6-7 semanas) dependiendo del alimento medicado con anticoccidiales para evitar o minimizar el efecto de la parasitosis, siendo el costo de un 1% en este rubro de la producción total del ciclo completo (128).

Coccidiosis

Historia de la *Eimeria spp.*

A principios del siglo XX, en el único medio para combatir la coccidiosis era tratar con drogas anticoccidiales incluidas en el alimento que consumían las aves, sin embargo esto era costoso y provocó grandes pérdidas de aves y menores tasas de conversión alimenticia (93); este control químico–profiláctico de la coccidiosis se inició cuando se descubre la acción anticoccidial de las sulfas, procedimiento que se mantiene vigente con el uso de drogas de diversa naturaleza. Sin embargo, hay un problema adicional que es la forma subclínica de la enfermedad y su persistencia. Un brote de esta enfermedad puede producir pérdidas considerables, por lo que los avicultores tienden a tratar preventivamente a sus aves hasta pocos días antes de su sacrificio, lo cual dada la reducida duración del ciclo productivo ocasiona la emergencia de cepas resistentes que reducen la eficacia de las drogas (19, 24,114).

También la quimioterapia se utilizaba para tratar brotes después de observar los signos de la infección, pero las pérdidas eran incompatibles en la relación costo-beneficio. Por lo cual surgió el concepto de medicación preventiva. En la actualidad la mayoría de las de las parvadas comerciales en sistemas intensivos reciben tratamientos preventivos y la medicación terapéutica ante brote es la última opción (126).

Sin embargo las infecciones por las diferentes especies de género *Eimeria* son ubicuas, debido a que la única limitante de su distribución es la presencia de sus hospederos. La enfermedad se presenta más comúnmente, bajo condiciones de alta densidad poblacional, lo cual favorece a la concentración de poblaciones potencialmente patógenas del parásito. Por tanto la coccidiosis tiene especial importancia en las explotaciones de avicultura intensiva (71).

Desde el punto de vista histórico el control de coccidiosis aviar ha jugado un papel muy importante en la productividad de las empresas avícolas. En la actualidad frente a una globalización inminente, e inmersos en un mercado altamente competitivo, dicho control podría representar la diferencia entre el estado de pérdidas o ganancias en las empresas avícolas. Por lo anterior, es de gran importancia establecer una estrategia integral para mantener bajo control a la coccidiosis aviar. Debido a la importancia de esta enfermedad se han utilizado varios métodos para controlarla, incluyendo mejores prácticas de manejo, uso de fármacos anticoccidianos, selección genética hacia aves más resistentes a esta enfermedad y utilización de vacunas (106).

Etiología.

La coccidiosis es una de las enfermedades más importantes de la avicultura mundial, el agente causal pertenece al Phylum *Apicomplexa*, (71); la enfermedad es caracterizada por provocar diferentes grados de enteritis en las aves, afecta el rendimiento de los pollos de engorda, produciendo una disminución en la ganancia de peso, conversión alimenticia deficiente y, en los casos severos, provoca la muerte de los animales. Entre las especies que afectan al pollo de engorda y que son de importancia económica, están *Eimeria acervulina*, *E. maxima* y la *E. tenella* (10).

Cuadro 1.
LOCALIZACIÓN Y LESIONES *Eimeria spp.*

Especie.	Importancia.	Región intestinal afectada.
<i>Eimeria tenella</i>	Altamente patogénica, causa coccidiosis hemorrágica cecal y frecuentemente la muerte.	Ciegos.
<i>Eimeria necatrix.</i>	Muy patogénica, causa coccidiosis y con frecuencia la muerte.	Intestino delgado, medio o entero.
<i>Eimeria maxima</i>	Puede causar alta morbilidad y a veces mortalidad, provoca coccidiosis subclínica asociada con pérdida de peso marcada.	Intestino delgado medio y bajo.
<i>Eimeria acervulina.</i>	Es menos patogénica que <i>Eimeria máxima</i> , pero reduce la ganancia de peso y la conversión	Intestino delgado alto.

	alimenticia e impide la absorción de nutrientes y pigmentos.	
<i>Eimeria mitis.</i>	Es difícil de diagnosticar, en caso de infecciones masivas causa signos como de <i>E. acervulina</i> .	Intestino delgado medio y bajo.
<i>Eimeria brunetti.</i>	Puede ser muy patogénica, causa pérdida de peso y mortalidad. Para diagnosticar es muy difícil ya que genera lesiones indistintas en el tracto intestinal bajo, en ocasiones causa necrosis en el intestino delgado bajo y el intestino grueso.	Intestino delgado y recto.

(125).

Los sitios y naturaleza de las lesiones varían entre especies, la *E. acervulina* puede causar lesiones a nivel duodeno; las cuales se tratan de lesiones lineales irregulares blancas, (“rayado de cebra”) vinculados con gametos y ooquistes. En lesiones mayores suelen coalescer y volverse menos obvios. Los ooquistes de *E. mitis* se pueden encontrar en el duodeno, en la parte media del intestino, *E. necatrix* produce lesiones focales tanto blancas como rojas, presentando un abultamiento en las paredes intestinales, y se acompaña de disentería; las lesiones blancas son nidos de esquizontes (71).

Ciclo evolutivo.

Los protozoarios del género *Eimeria* tienen un ciclo de vida complejo que resulta determinante en el desarrollo de la enfermedad. El ave ingiere la fase de ooquiste esporulado que es la fase infectante y por acción de los jugos digestivos (sales biliares y tripsinas), (71); y la molleja, se rompe su pared y se liberan los esporoquistes y de ellos a su vez los esporozoitos que invaden las células epiteliales del intestino, con objeto de iniciar las fases de reproducción asexual y sexual lo que conduce al desarrollo de miles de ooquistes y que se difunden con las heces. Una vez esporulados, los ooquistes son infectantes para las otras aves de la misma parvada (137).

La esporulación requiere de tres condiciones que son: humedad, calor y oxígeno, si estas condiciones son óptimas se requiere de 1 a 2 días con una temperatura de 25-30 grados centígrados (71).

Los esporozoítos invaden a las células epiteliales de las vellosidades intestinales y después algunos esporozoítos se desarrollan para así formar a los trofozoítos redondeados, los cuales contienen un núcleo el cual se divide por fisión múltiple (esto es el principio de la reproducción asexual esquizogónica) (117, 60).

La masa de ellos resultante se le conoce como primera generación de esquizontes. Los núcleos del esquizonte se desarrollan para generar merozoítos. Los merozoítos escapan del esquizonte e invaden a nuevas células epiteliales formando una segunda generación de esquizontes y una nueva generación de merozoítos. Algunos merozoítos pueden desarrollarse para formar una nueva generación de esquizontes, pero muchos de ellos penetran a las células epiteliales y comienzan la fase de reproducción sexual (137).

Algunos de ellos se desarrollan para generar microgametocitos, los cuales dan origen a los microgametos que tienen forma de espermatozoides mientras que otros se desarrollan para construir macrogametocitos, los cuales dan origen a los macrogametos. Los microgametos fecundan a los macrogametos para dar origen a un huevo o cigoto, que crece en el interior de la célula formando un esporonte que crece forma una pared y queda libre denominándose ooquiste inmaduro el cual es expulsado en las heces y bajo la influencia de los factores medio ambientales se produce su maduración para formar los ooquistes maduros característicos. En algunas especies como *E. acervulina*, *E. mitis*, *E. praecox* y *E. mivati*, los merozoítos invaden células epiteliales y la continua proliferación de esquizontes y gametocitos causan un gran daño a estas células. Sin embargo otras especies como la *E. maxima*, *E. tenella*, *E. necatrix*, llevan a cabo su ciclo de vida en capas mas profundas provocando así una mayor destrucción tisular. Figura 1 (117,137).

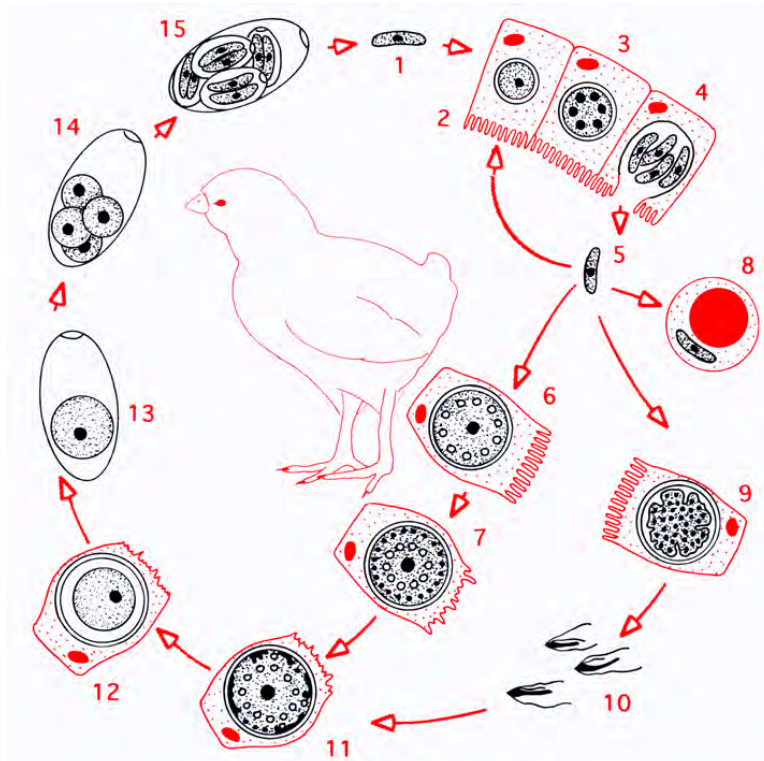


Figura 1. Ciclo evolutivo de *Eimeria* spp en las aves. (117).

Fases presentes en la evolución: 1)Esporozito, 2) Trofozoito, 3)Esquizonte., 4)Merozoito, 5)Macrogametogonia, 6)Macrogametocito, 7)Macrogameto, 8)Intraepitelial, 9)Microgametocito, 10)Microgameto, 11)Cigoto, 12)Esporoquiste intracelular, 13)Ooquiste esporulado con esporoquistes y esporozoítos, 14)Esporogonia, 15)Ooquistes maduros.

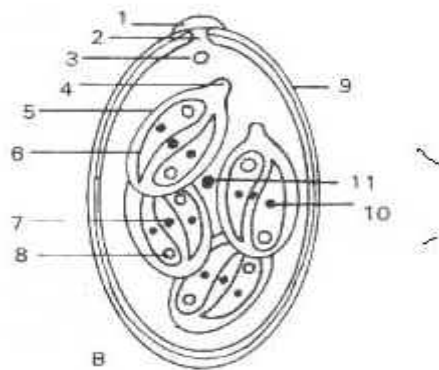


Figura 2. Estructura del Ooquiste maduro de *Eimeria* spp. (117)

- 1) Cápsula del Micrópilo., 2) Micrópilo, 3) Gránulo Polar., 4) Cuerpo de Stiedda., 5) Esporoquiste., 6) Esporozito., 7) Cuerpo residual del esporoquiste., 8) Cuerpo

residual del esporozoito., 9) Pared del ooquiste., 10) Glóbulo refractante del esporoquiste., 11) Cuerpo residual del ooquiste.

Patogénesis.

Fuertes infecciones pueden producir mortalidad y las ligeras pueden provocar pérdidas sobre la ganancia de peso, conversión alimenticia. En algunos casos como lo son *E. acervulina* y *E. máxima* se ve disminuida la producción de enzimas digestivas como lo son la amilasa, sacarasa y maltasa, por lo tanto disminuye la capacidad de absorción del primer tercio y tercio medio del intestino. Tanto el efecto inmuno-inflamatorio como el daño tisular provocado por el parásito afectan a la secreción de jugos digestivos, la absorción, transporte de los nutrientes y carotenoides. Así mismo, las bacterias y otros agentes secundarios pueden invadir a las células dañadas causando enteritis (138).

Signos Clínicos y Diagnóstico.

Se presenta disentería, diarrea o heces mucoides blandas, aunque en cepas menos patógenas los únicos signos son la falta de crecimiento, deterioro de la conversión alimenticia. La necropsia es esencial para confirmar el diagnóstico. Las lesiones más notables se encuentran en la superficie serosa, pero se debe de examinar bien la serosa de la mucosa, el examen de frotis húmedos diluidos, en solución salina isotónica, bajo un cubre objetos, con una iluminación adecuada normalmente será suficiente para detectar esquizontes, y ooquistes, con el objetivo de mayor aumento se verán los merozoitos. Este tipo de diagnóstico tiene sus complicaciones ya que son comunes las infecciones múltiples por distintas especies, las infecciones graves conducen a sobrepoblación de parásitos y a lesiones en sitios diferentes al de predilección (71).

Control.

La coccidiosis es generalmente controlada por la incorporación de drogas anticoccidiales en el alimento que va a ser consumido por las aves. Muchos componentes de estas drogas, han perdido eficacia contra las coccidias, bien sea por la aparición de fenómeno de resistencia o por problemas de subdosificación, de allí que la vacunación sea en la actualidad la

alternativa práctica para el control de esta parasitosis en pollos de engorde, pues el fenómeno de la inmunidad incompleta, es el principal riesgo que existe en este tipo de aves (128).

La “inmunidad incompleta” es aquella que se presenta en las aves que reciben programas de alimentación con anticoccidiales que limitan el desarrollo del ciclo de las coccidias y no permiten el establecimiento de la inmunidad, corriendo el peligro de brotes de coccidiosis clínica o subclínica después de la suspensión de los anticoccidiales durante el período de restricción, o en casos de subdosificación en el alimento a edades más tempranas (6).

Profilaxis.

Los adelantos productivos que se han producido en la avicultura se deben principalmente al incremento de potencial productivo esto se basa sobre todo en la genética y la producción que favorece a dicho potencial con un menor consumo de alimento. El lavado y la desinfección amplios de una nave, tal vez no la esterilicen, pero pueden reducir a tan bajo nivel la cantidad de microorganismos infecciosos que puedan provocar enfermedad. Se puede controlar la probabilidad de que se infecte una parvada, así como la intensidad y resolución de una infección, si se siguen prácticas sólidas de prevención de enfermedades, antes y después de llegar nuevas parvadas. Dentro de estas prácticas tenemos, que tengan alimento y agua adecuados, bien ubicados y de buena calidad; aplicación de vacunas y medicaciones a tiempo y proporcionar un ambiente menos estresante (117).

Debido al rápido reemplazo de los lotes (descanso de 18 a 21 días), en las operaciones de los sistemas de pollos de engorda, el riesgo de que ocurra la infección es alto, y si el tratamiento preventivo no es instaurado con cuidado y efectividad, puede aparecer la infección clínica en cualquier momento con efectos devastadores en el sistema (139).

En lo que tiene que ver con la higiene en las granjas comerciales es imposible evitar la infección, y unas de las principales causas de fuente de infección es la contaminación ambiental residual de las parvadas anteriores, pero para disminuir el número de ooquistes es

necesario que la cama se mantenga seca, esto para evitar la esporulación para lo cual se debe de poner mayor atención en evitar el derramamiento del agua de los bebederos y el goteo de las tuberías, se considera que criar las aves en pisos perforados reduce la probabilidad de infección, pero en aves de engorda no es comercialmente factible (71).

La vacunación es considerada una forma de profilaxis natural, menos costosa que la quimioterapia, evita la posibilidad de inducción de resistencia, no tiene efectos tóxicos, y no deja residuos en los tejidos animales (129).

Inmunización

Frente al problema del aumento en la resistencia a programas de drogas preventivas el uso de vacunas es en la actualidad es la mejor alternativa para el control de la infección, ya que estimula la inmunidad sin inducir el fenómeno de resistencia a los anticoccidiales (138).

El uso de vacunas presenta varias ventajas como son disminuir el impacto económico, evitar la inducción de resistencia al uso de quimioterapéuticos, no tiene efectos tóxicos y no deja residuos en los tejidos.

De lo anterior surge la importancia de la investigación en vacunación contra la coccidiosis aviar, toda vez que el método inmunológico (inmunización planeada) tiene un gran campo de acción, por cuanto, a pesar del control quimioterapéutico que se ha instaurado hasta la fecha, aún sigue teniendo la coccidiosis la misma relevancia que hace más de cinco décadas, debido a los efectos negativos que ejercen estos parásitos sobre las aves (130).

La primer vacuna que se introdujo al mercado Latinoamericano fue la coccivac B que contenía ooquistes esporulados de *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. imbatí*, esta vacuna se recomendaba regularmente con amprolio a los 10 días de la posvacunación para disminuir el efecto de esta misma ya que era muy severa con el ave. Pero a raíz de que ha ido evolucionando la vacunación en coccidias se ha dejado de usar, ya que hoy en día se utiliza por aspersión en la incubadora. Otra vacuna, que fue la segunda que se dio a conocer en

Latinoamérica fue la Inmunocox *E. tenella*, *E. mivati*, *E. acervulina* y *E. necatrix*. , en un principio se aplicaba en el agua de bebida e incluso se proponían dos dosis en la primera semana de vida pero esto ha cambiado ya que ahora se coloca con un gel en la bandejas de pollitos de incubadora. La vacuna Nobilis COX ATM del laboratorio Intervet se desarrolló en Holanda la cual contiene ooquistes esporulados de *E. acervulina*, *E. tenella* y dos especies de *E. máxima*, las especies de esta vacuna son tolerantes a los ionóforos, en especial al la monesina la recomendación es usarla por aspersion al día de edad (107).

En la coccidiosis al igual que en otras enfermedades la probabilidad de desarrollar la infección y la severidad de esta depende de varios factores como es: la estación del año, temperatura, humedad de la cama, ventilación, edad de la parvada, factores de tensión, especies presente y número de ooquistes ingeridos. También actúan como portadores mecánicos, el hombre, los roedores, las aves silvestres, el equipo, los camiones, etc (3).

Hongos y micotoxinas.

Especies de hongos productores de aflatoxinas.

La FAO determina que el 25% de los granos del mundo están contaminados por hongos, siendo por esto muy importante prevenir las consecuencias que estos hongos y sus micotoxinas producen en los animales domésticos, que al ser afectados, provocan grandes pérdidas económicas e incluso riesgos a la salud de los consumidores de dichos animales contaminados (56). Aproximadamente se estiman unas 400 especies de hongos con capacidad toxigénica, los cuales producen una o más micotoxinas (4).

En gran parte la nutrición animal se basa en el consumo de granos y sus derivados éstos son cosechados en dos ciclos durante el año, en condiciones climáticas diferentes a lo cual el crecimiento, cosecha y poscosecha varía de zona a zona lo que repercute en él en la calidad de los productos finales. En los estimados actuales se han contabilizado aproximadamente 100,000 diferentes especies de hongos (101).

Características generales que deben conservar los granos:

Bajo las mismas condiciones de almacenamiento, los granos pueden tener calidades diferentes dependiendo del tipo de grano que se coseche, la calidad inicial de los granos depende de los siguientes factores: condiciones climáticas durante el período de maduración de la semilla, grado de maduración en el momento de la cosecha, daños mecánicos, impurezas, humedad, temperatura, insectos y roedores. Entre los microorganismos, los hongos son los principales, presentes en los granos almacenados y forman la más importante causa de pérdidas y detrimento durante el almacenamiento. De modo que los hongos presentes en los granos y semillas han sido divididos en dos grupos, “hongos de campo” y “hongos de almacén”, existiendo un tercer grupo denominado “hongos de deterioro avanzado”.

Clasificación de los Hongos en Base a su crecimiento. Tabla 2 (18,30).

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

Al igual que en otras ramas de la producción ganadera, el aumento de los volúmenes de producción avícola lleva al crecimiento de consumo de alimentos balanceados y por tanto, de granos forrajeros, pastas y/o granos oleaginosos, los que conforman parte fundamental

de las dietas aplicadas para obtener los mayores niveles de productividad, aprovechando para ello el potencial productivo que la mejora genética confiere a las aves de engorda (86).

A medida que aumenta el número de aves, tanto en el aspecto productivo como en el doméstico, el médico veterinario participa con más frecuencia en el cuidado de su salud y con el objeto de llegar a un diagnóstico más exacto y establecer un régimen de tratamiento adecuado, el médico hace uso del laboratorio clínico (23).

Historia de las Micotoxinas.

Los primeros casos de micotoxicosis conocidos fueron debidos al centeno contaminado con *Claviceps purpurea*, en la edad media. En 1912 Quevedo, en la Argentina, describió la acción de los metabolitos tóxicos de un *Aspergillus sp* del maíz sobre varias especies animales, lo que constituye la primera observación científica de las micotoxicosis en Sudamérica. En 1960 la intoxicación masiva de pavos en Inglaterra llevó al aislamiento de las aflatoxinas, llamadas así pues son producidas por especies del grupo *Aspergillus flavus* (88).

La presencia de las micotoxinas en los vegetales puede deberse: o a la infección de la planta en el campo por el hongo patógeno o a la colonización por los saprobios, o al crecimiento de los mohos saprobios o patógenos post-cosecha sobre los frutos y granos almacenados, o al desarrollo fúngico saprobio durante el almacenamiento de los materiales ya procesados (127).

En países como Canadá y Estados Unidos de Norteamérica las micotoxinas más frecuentes y de mayor importancia son las ocratoxinas, vomitoxinas y la zearalenona, mientras que las aflatoxinas lo son para el Centro y Sudamérica (México, Guatemala, Belice, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Chile, Venezuela, Argentina, Colombia y Brasil) (101).

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

Fue hasta 1962 cuando en Gran Bretaña se detectó un brote de una enfermedad explosiva que arrasó con 100.000 pavos de los cuales sólo en 500 se diagnosticó enfermedad con hallazgo de lesiones hepáticas. La etiología era desconocida en ese momento, por lo que la enfermedad se llamó “Enfermedad X de los pavos” (Turkey X disease). Después se encontraron casos esporádicos en patos y faisanes de los cuales después de analizar el alimento consumido por los animales (cacahuete brasileño), descubrieron metabolitos fluorescentes que nombraron aflatoxinas, debido a su productor, el *Aspergillus flavus* (70).

En lo que a salud pública se refiere la epidemia más grande registrada se desarrolló en la India en 1974, en la cual 108 de 307 pacientes que habían consumido maíz contaminado con aflatoxinas murieron de la llamada cirrosis de la niñez de la India (68).

En 1988, gracias al esfuerzo para remover las aflatoxinas en los alimentos ya contaminados, se inicia el uso de aluminosilicatos como secuestrantes de las toxinas, protegiendo a las aves de los efectos tóxicos generados por las aflatoxinas (4).

Desde entonces numerosas investigaciones se han hecho acerca del efecto de las aflatoxinas en la salud de los animales domésticos en los cuales se ha detectado baja ganancia de peso, desarrollo lento, problemas en la reproducción, diarrea, desórdenes respiratorios, hemorragias, reducción en la producción de leche y huevo; así como la afectación del sistema inmunológico, con el consecuente incremento en el desarrollo de infecciones por bacterias, virus, y otros agentes causantes de enfermedades, lo cual incluso ocasiona la muerte de los animales (13,53,78,132,136).

La importancia que cabe recalcar es que todos los seres vivos son susceptibles a las aflatoxinas. *A. flavus* está adaptado a emplear un amplio espectro de fuentes orgánicas, además de ser saprofito, es un organismo patógeno oportunista en plantas, insectos y vertebrados incluyendo al hombre y animales domésticos; sus efectos pueden ser agudos o crónicos dependiendo del organismo afectado, la dosis y frecuencia de exposición (5).

Condiciones que necesitan los Hongos para sintetizar Aflatoxinas.

Las condiciones optimas para que dichos hongos produzcan las aflatoxinas son temperatura (30 – 35 °C), alta humedad (65 – 80% de humedad relativa), (68,101); por lo que es importante cuidar las condiciones de almacenamiento en las cuales se tiene al grano destinado a la alimentación de los animales (71).

Estructura química de las aflatoxinas y clasificación.

Químicamente las aflatoxinas son difuranocumarinas, (14); estos compuestos están formados por anillos heterocíclicos, los furanos relacionados a la toxicidad y un anillo de lactona responsable de la fluorescencia y el cual también hace posible que estos metabolitos sean susceptibles a la hidrólisis alcalina (FIGURA 4) (91).

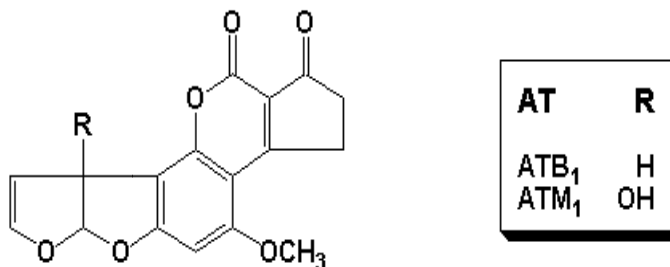


Fig. 3 Estructura Química de la Aflatoxina B1 y M1.

Hasta el momento, se han aislado 18 diferentes tipos de aflatoxinas, de las cuales las más importantes son: Aflatoxina B₁, Aflatoxina B₂, Aflatoxina G₁ y Aflatoxina G₂.

Las letras B y G se refieren a los colores azul (blue) y verde (green) de fluorescencia observados bajo luz ultravioleta de onda larga; esta propiedad de fluorescencia de las aflatoxinas ha llegado a ser la base para la cuantificación por métodos fisicoquímicos,(2); y los números se refieren a los patrones de separación de estos compuestos al utilizar el método de cromatografía de capa fina (FIGURA 3) (15).

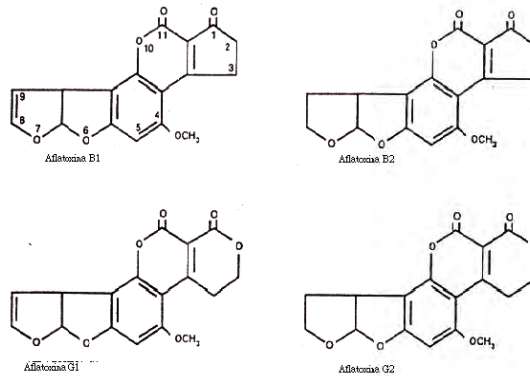


Figura 4 Estructura Química de Aflatoxina B₁, Aflatoxina B₂, Aflatoxina G₁ y Aflatoxina G₂.

Dentro del grupo de las aflatoxinas, la más importante es la Aflatoxina B₁ (C₁₇ H₁₂ O₆), por ser la más tóxica y tener los efectos mas carcinogénicos, (50, 74, 95,118); es el carcinógeno más potente conocido en la naturaleza (60).

En las aves, en orden decreciente, las especies mas susceptibles son: patos, pavos, gansos, faisanes, pollos, (50); los animales jóvenes son más susceptibles que los animales adultos (50, 70, 73,74).

Las aflatoxinas son un grupo de metabolitos secundarios, producidos por *Aspergillus flavus* Link (Figura 5) y *Aspergillus parasiticus* Speare (40).

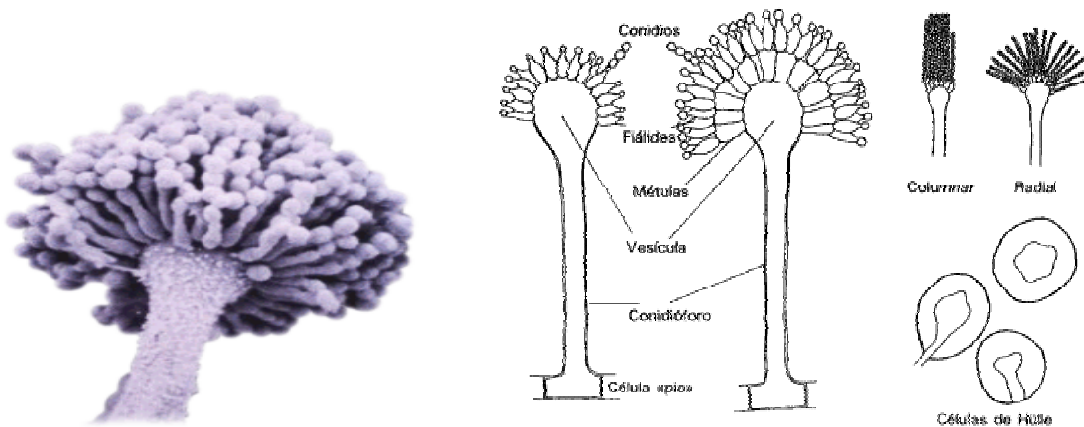


Figura. 5 Estructura esquemática y microscópica de *Aspergillus flavus*.

Clasificación Taxonómica de *Aspergillus* (96).

Reino: *Fungi*

Filo: *Ascomicota*

Orden: *Eutoriales*

Familia: *Trichocomaceae*

Genero: *Aspergillus*

Especie: *flavus*

Se conocen unas 900 especies de *Aspergillus*, que Rapper y Fennell clasifican en 18 grupos. Los mohos del género *Aspergillus* causan el deterioro de muchos productos alimenticios. Los productos metabólicos de la invasión fúngica suelen ser muy tóxicos, tanto para el hombre como para otros animales. También producen la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, apelmazado y finalmente podredumbre de las semillas (96).

Características morfológicas generales del género *Aspergillus*.

El color es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de *Aspergillus*. Tienen distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Las cabezas conidiales presentan, bajo el microscopio, cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme y a simple vista las más grandes suelen parecer diminutas alfileres sobre el substrato. En los *Aspergillus*, los conidios constituyen cadenas que se originan en la célula conidiógena o fiálide. En algunos *Aspergillus* hay células adyacentes a las fiálides denominadas métulas o células de soporte. Los *Aspergillus* poseen una o dos series de células sobre la vesícula, o bien presentan simultáneamente cabezas de ambos tipos (96).

Dentro de las principales aflatoxinas encontramos cuatro las cuales son: AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂. Por lo general AFB₁ es encontrada en mayores concentraciones que las otras

y es la más potente, siendo carcinógena, teratógena y mutagénica, y el órgano que más afecta es el hígado, por lo que es considerada una hepatoxina, (96); *Aspergillus flavus* produce además ácido aspergílico, ácido kójico, aspertoxina, esterigmatocistina, fisicon y flavotoxinas entre otros compuestos (40).

Biotransformación.

Desde el punto de vista bioquímico, las aflatoxinas son consideradas como inhibidores biosintéticos y en el caso de la Aflatoxina B₁ (AFB₁) se ha encontrado que su actividad biológica tiene varias fases: 1) Interacción con el ADN e inhibición de las polimerasas responsables de la síntesis tanto de ADN como ARN; 2) Supresión de la síntesis del ADN; 3) Reducción de la síntesis del ARN e inhibición del ARN mensajero; 4) Alteraciones en la morfología del nucleolo y 5) Reducción de la síntesis de proteínas (21).

La toxicidad de las aflatoxinas está ampliamente investigada, esto obedece directamente a la repercusión en la salud humana, así como a las pérdidas materiales y económicas que puede ocasionar una intoxicación aguda (113).

Toxicocinética.

La Toxicocinética de la aflatoxina se divide en cinco pasos, los cuales son:

1) **ABSORCIÓN:** sitio principal de absorción es el tracto gastrointestinal, sin embargo, también pueden absorberse a través de los pulmones y la piel. Gracias a que las aflatoxinas son compuestos altamente liposolubles, son altamente absorbibles hacia el torrente sanguíneo (50).

2) **DISTRIBUCIÓN:** las aflatoxinas tienden a infiltrarse en los tejidos blandos y depósitos grasos de los animales en general, lo que explica la predisposición por sexo siendo más afectadas las hembras que los machos. Sin embargo, la mayor acumulación de las aflatoxinas se da en los órganos involucrados en la biotransformación de las mismas, como

son el riñón y el hígado. En una prueba realizada por Trucksess 1983, los análisis de tejidos realizados después de 7 días de administración de aflatoxinas, revelaron que el hígado tenía dos veces más concentración que el riñón, mientras que este tuvo siete veces más concentración que el músculo y la sangre, comprobando así que los órganos blanco con mayor concentración de aflatoxina y por tanto, los más afectados son el hígado y el riñón (50).

3) BIOTRANSFORMACIÓN: la transformación de las aflatoxinas dentro del organismo se divide en dos fases (50).

Fase I : la aflatoxina B1 es biotransformada por las enzimas citocromo P-450 en muchos metabolitos hidrosolubles incluyendo aflatoxinas M1, Q1, P1 y Aflatoxicol. Las aves pueden metabolizar la mayoría de las aflatoxinas B1 cuando estas son administradas en pequeñas cantidades.

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

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

La epoxidación es una vía que se encarga de actuar sobre el doble enlace presente en el anillo bifurano de la aflatoxina. El producto resultante es la aflatoxina 8,9 epóxido, muy reactivo en el DNA, siendo el presunto responsable de la carcinogénesis y mutagenicidad de la aflatoxina B1.

La reducción se encarga de reducir el grupo carbonilo presente en las aflatoxinas B1 a un grupo hidróxilo con el fin de formar aflatoxicol y dihidroaflatoxicol. Estos compuestos pueden reoxidarse por medio de una enzima microsomal y formar de nuevo la aflatoxina B1, por lo que son considerados como almacén de AFB1 (50).

Fase II: Se han reportado muchas reacciones de conjugación de los metabolitos de las aflatoxinas, siendo las más importantes las de sulfatos y ácido glucurónico (50).

4) **ELIMINACIÓN:** Las aflatoxinas así como sus metabolitos se excretan principalmente por la bilis y en menor cantidad en el riñón. El 28% de las aflatoxinas se eliminan por las excretas en 24 horas, mientras el 71% fue recuperada de las excretas después de 7 días. Después de 1.5 minutos de la presencia de la aflatoxina en el plasma, ésta se hace presente en la bilis, siendo la concentración aproximada 7 veces mayor en la bilis que en el plasma, lo que indica que los metabolitos de la aflatoxina B1 se excretan en gran concentración por la bilis. La proporción de excreción vía bilis, orina y contenido intestinal es de 70:15:15 respectivamente. En animales en los que se suspende por completo la ingestión de aflatoxinas, la vida media de la aflatoxina dentro del organismo es de 1.4 días (50).

5) **RESIDUOS:** La aflatoxina M1 se secreta en la leche de las vacas que reciben una dieta que contiene AFB1. Aunque no hay evidencia de excreción de AFM1 en el huevo de gallina, algunos otros metabolitos pueden excretarse en el huevo, así como la AFB1, aunque en cantidades mucho menores a las encontradas en el organismo de la gallina (50).

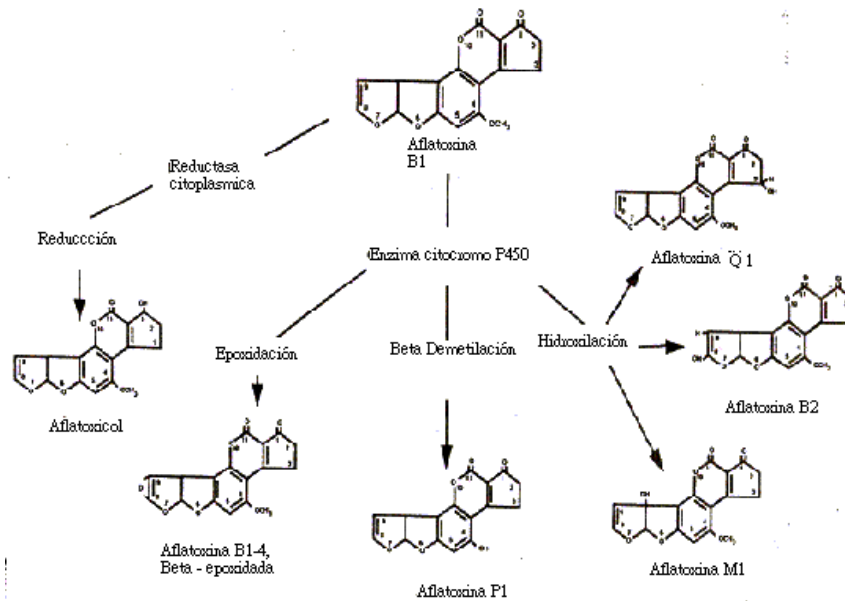


Figura. 6 Toxicocinética de AFB₁ (50).

Además del hígado, la exposición respiratoria del polvo contaminado con AFB1 se asocia a tumores del tracto respiratorio. Los neumocitos y las células epiteliales de la mucosa nasal activan a la AFB1, formando el mismo tipo de aductos que se forman en los hepatocitos, ya que dichas células tienen una gran proporción de citocromo p 450, y por lo tanto son más susceptibles a la acción de la AFB1 (50).

Dosis y signos clínicos.

La enfermedad producida por aflatoxinas es llamada aflatoxicosis, de la cual hay dos presentaciones según el curso, y éste depende del tiempo de exposición y cantidad de aflatoxinas que han tenido los animales:

Aflatoxicosis aguda:

Resulta de la ingestión de altas concentraciones de aflatoxina en poco tiempo. Los signos incluyen depresión, anorexia, ictericia y hemorragias. Los hallazgos más importantes son, ictericia, hemorragias, aumento en las enzimas séricas, necrosis hepática severa, primordialmente periportal en pavos, patos, pollos, ratas y gatos (50,71).

Además en la fase aguda de la enfermedad se asocia un incremento en la susceptibilidad para adquirir enfermedades como coccidiosis cecal, la enfermedad de Marek, salmonelosis, hepatitis con cuerpos de inclusión y la enfermedad infecciosa de la bolsa de Fabricio (Gumboro) (118).

Se han reportado fallas en la vacunación ligadas a la aflatoxicosis en pollos y respuestas dispares en la vacunación demostradas para la enfermedad de Newcastle, bronquitis infecciosa, enfermedad de Gumboro y cólera aviar (50).

La inmunosupresión se explica por la atrofia en la bolsa de Fabricio, donde se dan los primeros cambios, (50); el timo y el bazo, órganos en los cuales existe una depleción linfóide y una respuesta mitogénica reducida de linfocitos T y B, (118); disminuyendo la respuesta inmunomediada por células en gran medida y la inmunidad humoral en menor cantidad. La aflatoxina suprime la función inmune, primero uniéndose a los polirribosomas de los linfocitos T, provocando en ellos trastornos irreversibles e interfiriendo así con la síntesis de proteínas, (50); y secundariamente, actúan disminuyendo la síntesis del DNA, generando cambios y pérdidas en la actividad enzimática y en el metabolismo y ciclos celulares, que pueden resultar en necrosis y apoptosis (60).

También hay reducción en la actividad del complemento, (118); debido a la escasa producción del mismo por parte del hígado, (71); se describe también un decremento en la capacidad fagocitaria de los heterófilos y macrófagos, así como en la producción de citocinas por las células del sistema inmune, que juegan un papel clave al inicio de la respuesta inflamatoria cuando los órganos han sido dañados (60).

Aflatoxicosis crónica:

Forma más usual de la enfermedad, resultando de la exposición a una dosis baja de aflatoxinas por un periodo prolongado. Los efectos ocurren después de días a meses y sus signos incluyen pérdida de peso, baja de producción de leche o huevos. Los hallazgos más importantes son: lesiones hepáticas (proliferación de ductos biliares en lóbulos hepáticos

periféricos), cambios en hepatocitos que incluyen degeneración grasa, inflamación y necrosis. A medida que el proceso avanza, el tejido conectivo prolifera llegando a fibrosis periportal, acompañada de regeneración nodular de hepatocitos y esteatosis hepática. Se encuentran hepatocitos con variación marcada en el tamaño nuclear y hepatocitos megalocíticos, (50); incluso llegando en el último estadio a producir neoplasias normalmente en el hígado, pero el páncreas, vesícula, huesos y el tracto urinario pueden también presentarlas (118).

La susceptibilidad que tienen los pollos ante la enfermedad depende de factores como la edad, se ha demostrado que los animales muy jóvenes y los viejos suelen ser más vulnerables que los adultos (50, 71,74). En segundo lugar está el sexo, demostrándose que los machos son más vulnerables que las hembras, (50, 55,71); mientras que las hembras tienden a acumular por más tiempo las aflatoxinas que los machos debido a la liposolubilidad de las micotoxinas.(118).

Signos que se presentan en las aves de acuerdo con la dosis de la aflatoxina integrada en su cuerpo:

A dosis mayores de 0.5 mg/kg de alimento existe una reducción en la resistencia a enfermedades como salmonelosis, coccidiosis, enfermedad de Gumboro y candidiasis, se dan fallas en la pigmentación normal de la piel y músculos debido al decremento en el transporte y la deposición de los carotenos, conjugado con alguna de estas enfermedades se ve una notable baja en el crecimiento, peso y conversión alimenticia (74).

Con 0.75 mg/kg de alimento, se presenta anorexia, vocalizaciones anormales, caída de la pluma, decoloración de las patas, ataxia y miopatía esquelética (118).

Con dosis de 2.5 mg/kg de aflatoxinas en el alimento se observa un crecimiento retardado, una pobre conversión alimenticia y algunas veces, convulsiones y opistótonos preceden a la muerte (50,74, 103,118).

Con dosis de aflatoxinas de 10 mg/kg en el alimento, los animales pueden llegar a presentar signos nerviosos entre los cuales se incluye debilidad en los miembros pélvicos, alas caídas y puede presentarse muerte súbita (50).

Patógenia.

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

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

La médula ósea concentra más aflatoxinas que el encéfalo, el tejido muscular y la grasa corporal, en donde la concentración es menor (115).

Se llega a concentrar cierta cantidad de aflatoxinas en los órganos del sistema inmunológico, produciendo depleción de los mismos y en algunos casos necrosis y/o atrofia (98).

La mayor excreción de las Aflatoxina B1 se da en las heces ocurriendo en condición de gran pureza sus derivados; estas vía de eliminación, representa el 65% del total excretado, el resto se elimina por orina (115).

Las aflatoxinas tienen un efecto depresor sobre los tejidos hematopoyéticos y esto se ve mostrado en la sangre y en suero, ya que existen cambios en los perfiles serológicos como lo son las Bilirrubinas, en el AST, ALT y Hematocrito (96).

Alteraciones Morfofisiológicas.

Macroscópicas.

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

El hígado es el principal órgano afectado, y su peso relativo crece significativamente aún con dosis bajas de aflatoxina, el aumento en el peso relativo es debido a una acumulación progresiva de lípidos (111).

En el año de 1986 Huff describe que la atrofia hepática y no la hepatomegalia es el cambio inicial en etapas tempranas de la intoxicación. (64) Además de la hepatomegalia el hígado puede presentar palidez, coloración amarillenta, friabilidad, congestión, áreas hemorrágicas, y zonas puntiformes de color gris blanquecino (118).

Además puede haber también edema en la vesícula biliar, menor viscosidad del líquido biliar y ascitis teñida con bilis en los casos más severos (74).

Los riñones muestran engrandecimiento de tamaño, congestión, palidez y edema periférico. El agrandamiento de los riñones va relacionado a un efecto compensatorio fisiológico por la acción de las aflatoxinas (111).

El bazo tiende a observarse aumentado de tamaño y congestionado. La bolsa de Fabricio llega a presentar reducción en su peso relativo y distintos grados de atrofia, al igual que el timo y testículos (74,118).

En el aparato digestivo hay inflamación de proventrículo y molleja por un efecto irritante directo de las toxinas, (62); el páncreas puede estar aumentado de tamaño y edematoso y en el intestino se observa enteritis mucosa a nivel del duodeno (112).

Asimismo pueden encontrarse petequias y equimosis que agravan el posible efecto de los traumatismos externos en los animales afectados, ya que incrementan la debilidad capilar interfiriendo con muchos componentes de la coagulación especialmente de la protrombina, afectando así las vías extrínseca e intrínseca de la coagulación (74,118).

Microscópicas.

Histológicamente se ha indicado tumefacción de los hepatocitos, diferenciación en el tamaño de hepatocitos y de sus núcleos. En los casos crónicos se observa degeneración vacuolar en el hígado la cual corresponde a cambio graso necrosis focal acompañada a menudo por hemorragias multifocales, congestión en los sinusoides hepáticos y proliferación anormal y progresiva de ductos biliares y cálculos biliares A medida que va progresando, se encuentra cariomegalia, numerosas estampas mitóticas, nucleolos evidentes, aumenta la proliferación de ductos biliares en los cuales se acumulan los pigmentos biliares en gran medida y fibrosis, con depósitos de reticulina y colágena; estos cambios pueden acompañarse de hepatocitos regenerados en forma nodular (hiperplasia regenerativa nodular),(71,74);e inflamación por heterófilos y células mononucleares en las zonas portales (50,118).

A medida que avanza el proceso, el hígado se ve más pequeño de lo normal debido a la inhibición mitótica y la necrosis hepatocelular que aumenta progresivamente (118).

Proteínas.

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

Cysewsky 1997, describe que el hígado es considerado como órgano blanco primario para aflatoxinas con un consecuente daño sobre la actividad metabólica y capacidad secretora de éste órgano, por lo que la hipoproteínemia es debida a una reducción a nivel hepático de la síntesis proteica y a una mayor fragilidad capilar, lo que permite la fuga de proteínas al intersticio (28).

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

Albúmina.

Durante aflatoxicosis y la ocratoxicosis, el descenso en la concentración de albúmina es causado por la inhibición de síntesis de proteínas en hígado (1, 63,76, 79,80, 99, 132).

La albúmina es la más abundante de las proteínas plasmáticas, sintetizada por el hígado y es liberada al torrente sanguíneo de forma más o menos continua. La hipoproteínemia es debida a una reducción hepática de la síntesis proteica y a una mayor fragilidad capilar, lo que permite la fuga de proteínas al intersticio (98,124).

Concentración Enzimática.

Una de las formas para evaluar el daño hepático es por medio de laboratorio realizando las correspondientes pruebas entre ellas tenemos la determinación de enzimas hepáticas entre las cuales están: alaninaminotrasferasa (ALT), aspartatoaminotrasferasa (AST) y lactatodeshidrogenasa (LDH).

En lo que a la cuantificación enzimática del suero, aún a dosis bajas de aflatoxinas se observa un incremento en los niveles de AST, y ALT (31).

ALT.

La actividad de la ALT en los diferentes tejidos se da en el pollo en orden decreciente primero en músculo cardiaco, tejido pulmonar y por último en el hígado. No existe una gran actividad de esta enzima en el plasma de pollos normales. Algunos autores informan

de un aumento en la ALT en pollos con lesión hepática, mientras que otros autores consideran que esta medición no es una prueba diagnóstica útil para descubrir la enfermedad hepática en las aves (23).

La actividad de las enzimas séricas se ha utilizado como la principal parámetro de la toxicidad de las aflatoxinas en los pollos. Ogguz *et al.*, 2002, reporta que dosis de AFB1 de 0.1 mg/kg de alimento llevado a 42 días, hubo un incremento significativo en la concentración sérica tanto de la AST como de la ALT, sin embargo, la concentración sérica de ALT no aumento con dosis de AFB1 de 0.05 mg/kg de alimento (99).

Da Falla *et. al.*, 1987, administraron 0.5 ppm de AFB1 por 4 semanas, observando actividad significativamente mayor en SDH (succinato deshidrogenasa) y GDH (glutamato deshidrogenasa). Un aumento en LDH (lactato deshidrogenasa), FAS (fosfatasa alcalina sérica), Fosfatasa ácida, AST y ALT fue reportada en pollos recibiendo 3 – 6 ppm de AFB1 por 42 días. (31)

Las aflatoxinas causan anemia debido a una inhibición a nivel de médula ósea, caracterizada por reducciones en el paquete celular, cuenta eritrocítica, concentración de hemoglobina y volumen medio corpuscular. La absorción del hierro y su retención inicialmente se reducen pero se compensan al poco tiempo. Los pollos jóvenes son más susceptibles a la anemia. Los leucocitos totales se incrementan, pero existe una linfopenia. El hematocrito se ve reducido significativamente con dosis de .625 a 10 ppm (117).

El incremento de las enzimas séricas medidas fue interpretado como una consecuencia de la degeneración de los hepatocitos con una subsecuente salida de las enzimas de éstos.

AST.

La AST está presente en muchas células, sin embargo ésta es útil en la evaluación de lesiones que se presentan en hígado y músculo, por ser la de mayor actividad en estos

tejidos. La evaluación de AST es mas específica que la ALT en lesiones hepatocélulares en la mayoría de las especies animales (31,32, 41).

Hematocrito.

En lo que respecta a los cambios en los elementos celulares de la sangre, varios autores han descrito que las aflatoxinas producen anemia caracterizada por una disminución en los valores de hematocrito, del número total de glóbulos y de la concentración de hemoglobina, aún en dosis muy bajas (63,124).

La determinación del origen de la anemia es debido a una inhibición a nivel de médula ósea, caracterizada por reducciones en el paquete celular, cuenta eritrocítica, concentración de hemoglobina y volumen medio corpuscular. La absorción del hierro y su retención inicialmente se reducen pero se compensan al poco tiempo. Los pollos jóvenes son más susceptibles a la anemia. Los leucocitos totales se incrementan, pero existe una linfopenia.

Con dosis graduales de aflatoxinas, se observó una disminución en los valores de hematocrito, hemoglobina con hiperplasia mieloide y disminución en el tejido adiposo de la médula ósea, además de esplenomegalia y una leve respuesta macrocítica cuando se emplearon dosis bajas que disminuyeron el conteo de eritrocitos pero no provocaron cambios en hematocrito y hemoglobina (132).

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

Los factores de coagulación, sobre todo los factores VII, V y el fibrinógeno se ven reducidos considerablemente a dosis de AFB1 de 2.5 mg/kg de alimento. La protrombina se ve afectada a niveles de 0.625 mg/kg de alimento, siendo la más sensible a la aflatoxicosis (50).

Ocratoxina.

Especies de hongos productores de hongos productores de ocratoxinas.

Ocratoxinas

Las ocratoxinas son metabolitos de los géneros *Aspergillus Penicillium* y *Fusarium*.

Esta molécula de estructura compleja ha sido detectada en numerosos alimentos, como los cereales, las legumbres, las especias, el café, el cacao, los frutos secos, la carne.(43) Asimismo, se ha comprobado que también puede ser producida por otros hongos filamentosos, pertenecientes mayoritariamente a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (7, 8,116).

Hay 7 tipos de ocratoxinas, siendo la Ocratoxina A (OTA) la más importante por ser la más comúnmente encontrada; pero sobre todo, por ser la más tóxica para las aves, principalmente para los pollitos en crecimiento (45).

La Ocratoxina A fue descubierta en 1965 en África por Van der Merwe y colaboradores (134).

Condiciones que necesitan los hongos para sintetizar ocratoxina.

La Ocratoxina A es una micotoxina mayoritariamente presente en contaminaciones primarias por mohos de muchos productos vegetales y de modo particular en cereales y legumbres de regiones geográficas tanto templadas como frías y húmedas. Puede considerarse como una de las micotoxinas más frecuentes en la contaminación de los granos de cereales, la ocratoxicosis parece ser un fenómeno mundial, aunque la magnitud de estas contaminaciones puede mostrar variaciones que varían en el tiempo y el espacio, porque las condiciones necesarias para que los micomicetos filamentosos produzcan

metabolitos tóxicos cuando se desarrollan sobre las materias primas alimenticias suelen ser bastante complejas (104).

Estructura química de la ocratoxina y clasificación.

Las estructuras químicas de la OTA y de otras micotoxinas producidas por el género *Penicillium* se detallan en la siguiente Figura 8.

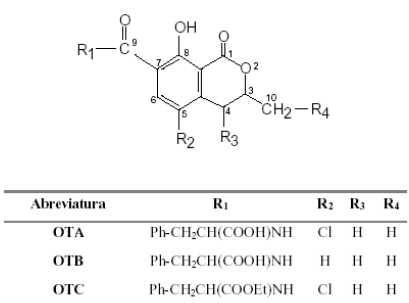


Figura 8. Estructura química de la Ocratoxina A y fórmula resumida de sus análogos (46).

Químicamente se trata de derivados del 3-4-dihidrometillisocumarin unido con un enlace amido a un grupo amino de la l-b –fenilalanina (49).

A pesar de que se han barajado diversas hipótesis respecto a la OTA incluyendo una etiología viral que posteriormente fue rechazada, en 1974 se propuso la hipótesis de una causa fúngica en el desarrollo de la enfermedad (76).

Biotransformación.

Toxicocinética

Absorción y distribución

La mayoría de especies animales en las que se han realizado estudios presentan una primera y rápida absorción de la Ocratoxina A en el estómago facilitada por sus propiedades

ácidas, seguida de una absorción intestinal lenta, cuando entre a la sangre y la luz intestinal se da un gradiente de concentración favorable (46,47).

Una de las propiedades toxicocinéticas más significativas de la OTA es su alta afinidad por proteínas plasmáticas. Esta unión será determinante de la persistencia de la toxina en la sangre y por lo tanto de su toxicidad. El porcentaje de toxina unida a proteínas es muy alto en la mayoría de los casos y ello hace que en casi todas las especies estudiadas, incluido el hombre, la fracción libre sea menor del 0.2% (34,47).

Metabolismo.

Los principales metabolitos derivados de la OTA son el producto de su hidrólisis OT, los derivados hidroxilados 4-OH-OTA y 10-OH-OTA, y los productos de conjugación (Figura 8), de todos ellos la OT y 4-OH-OTA son los más significativos. La población microbiana intestinal es capaz de metabolizar la OTA hasta OT y Phe principalmente por la actividad de la enzima carboxipeptidasa (47).

Los principales metabolitos hepáticos parecen ser los epímeros (4R y 4S)-OH-OTA en cuya formación está implicado el sistema citocromo P450 (81). Se ha demostrado que en la formación de estos metabolitos, principalmente (100).

La OTA puede ser sustrato del enzima fenilalanina hidroxilasa (Figura 8) dando lugar a la T y r-OTA, presente en el hígado de animales intoxicados. Por último, se ha visto que la OTA se puede conjugar con el glutatión.

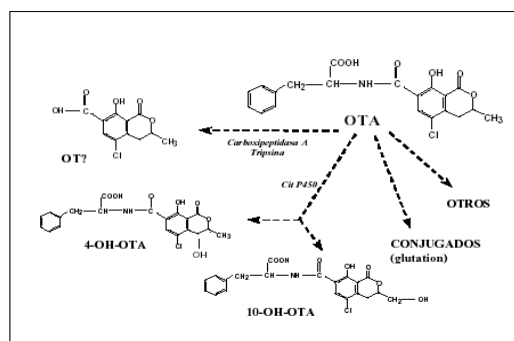


Figura 9. Metabolitos de la ocratoxina. (27)

Eliminación

El aclaramiento de la micotoxina por filtración renal está relacionado con el valor de las respectivas constantes de unión con macromoléculas específicas, por lo que se favorece la eliminación por otras rutas en casi todas las especies. En algunas aves como la codorniz, donde el aclaramiento renal supone únicamente el 4 y 0.3 % del aclaramiento total respectivamente, el sistema de excreción hepatobiliar es más importante que el urinario. Por este motivo, estas especies presentan un aclaramiento plasmático de OTA superior a las otras especies estudiadas y por consiguiente su permanencia sanguínea tiene una vida media menor. Se administró por vía intravenosa de 50 ppb de OTA en la codorniz se han obtenido vidas medias de 8.3, horas (57).

Se han echo estudios para comprobar la importancia de la unión de la OTA a proteínas en la eliminación de la misma, se llevo a cabo un estudio con ratas normales frente a ratas deficientes en albúmina, y se ha observado que la concentración de OTA en la orina y bilis de ratas carentes de albúmina es 20-70 veces mayor que en ratas normales (83).

Asimismo se estudio la eliminación de la OTA, a través de otras vías como la leche, teniéndose encontrado niveles bajos de OTA en leche de vacas, conejos, cabras y cerdos (11).

Se elimina por vía renal y hepatobiliar, así como también a través de la secreción láctea. La DL_{50} oscila entre 0,2y 58,3 mg/kg pc; perros, cerdos y pollos son especies más sensibles que rata y ratón. La ingestión crónica de OTA da lugar a la aparición de un efecto tóxico renal en todas las especies de mamíferos monogástricos estudiados. Se ha relacionado con la nefropatía porcina causada por la peste porcina africana, y en el hombre con la nefropatía endémica de los Balcanes causada por la OTA y la citrinina.

Signos asociados a la dosis de la ocratoxina.

Dosis aguda.

En dosis elevadas de 10 mg/kg la toxina pueden dar lugar a una intoxicación aguda cuyos principales signos clínicos son anorexia, pérdida de peso, poliuria, polidipsia, hemorragias digestivas y deshidratación, que provocan la muerte pocas semanas después de la administración. Se ha demostrado que los pollos son más sensibles a los efectos de la OTA en comparación con ratones y ratas (65,82,92).

Dosis subcrónica.

Nefrotoxicidad.

La nefrotoxicidad provocada por el consumo de dosis menores de 0.2 mg/kg de peso corporal de OTA presenta las siguientes características: poliuria, glucosuria, proteínuria y enzimuria. Se han realizado numerosos experimentos de toxicidad subcrónica en cerdos y aves, especies en las que frecuentemente se han producido intoxicaciones por causas naturales. La OA ha demostrado tener numerosos efectos deletéreos sobre las aves domésticas, con graves consecuencias para los rendimientos de su crianza (38,49).

Sin embargo la exposición crónica afectaría la función secretora del túbulo proximal con un mecanismo en el que parece jugar un papel importante la angiotensina II. En la dos exposiciones tanto en la aguda como en la crónica, la ingesta de OTA trastorna la acidificación urinaria al aumentar el pH de la orina, debido a que la toxina inhibe la reabsorción de bicarbonato (HCO_3^-) en los túbulos y modifica el pH en el intersticio de la papila renal (83,84).

La administración crónica de OTA puede provocar cáncer hepático y renal. Además, numerosos estudios descriptivos han sugerido una correlación entre esta micotoxina y la

nefropatía endémica de los Balcanes, la cual presenta una alta incidencia de mortalidad debido al desarrollo de tumores en el tracto urinario. Como consecuencia de la actividad cancerígena evidente en animales (65).

La OTA ha resultado teratogénica en gallinas pero no en cerdos probablemente a diferencias en la desigual transferencia placentaria entre las especies (44).

Se han realizado estudios con ratas y se han tenido resultados positivos en un medio de hepatocitos de rata, los cuales han estado expuestos a la OTA, un medio derivado de hepatocitos de rata expuestos a OA dieron un resultado positivo en el mismo test (58).

En otro experimento en el que se utilizaron distintas líneas celulares que expresaban diferentes cadenas de DNA de enzimas citocromo P450 humanos, se determinó que la frecuencia de mutaciones variaba según la línea celular eran dependientes de la dosis. Sin embargo la vía de detoxificación de muchos agentes tóxicos, entre ellos las micotoxinas es debido a la acción de la enzima citocromo P450, siendo la mas eficiente (52).

Empleando la prueba de intercambio entre cromátidas hermanas se han encontrado resultados diferentes: los primeros ensayos publicados no obtuvieron resultados positivos ni en cultivos primarios ni en líneas celulares, (9); pero diez años después pruebas con células epiteliales de vejiga urinaria de cerdo, pusieron de manifiesto que una concentración 100 ppb de OTA aumentaba en un 41% el número de intercambios entre cromátidas hermanas respecto de los controles, mientras que concentraciones más altas resultaban citotóxicas (42).

Tanto *in vitro* como *in vivo*, la OTA incrementa la formación de aductos, cabe recordar que un aducto es la unión en este caso de la molécula de ocratoxina con en el DNA celular de manera dosis-dependiente (53,97).

Además, la OTA es capaz de inducir micronúcleos en células de vesículas seminales ovinas siendo capaz de interferir en la distribución normal de los cromosomas durante la división celular (33).

Además se ha comprobado la capacidad de la OTA de inducir apoptosis en células en cultivo, (133); aunque no es éste un efecto propiamente genotóxico.

Entonces se establece una relación entre peroxidación lipídica y genotoxicidad de la OTA ya que el proceso de peroxidación lipídica podría dar lugar a radicales libres con capacidad de reaccionar con el DNA (43).

La conjugación con glutathione es una vía normal de detoxificación, no obstante, ha sido considerado recientemente como un agente activador de xenobióticos en compuestos carcinogénicos y/o electrofílicos. Se ha reafirmado la evidencia de que conjugados de glutathione con la micotoxina son nefrotóxicos (102).

Inmunotoxicidad.

Los efectos tóxicos de la OTA sobre el sistema inmune, pero los resultados resultan contradictorios en algunos experimentos realizados en ratas, se han podido observar algunas alteraciones relacionadas con dicho sistema: reducción en la producción de IL-2 y en la expresión de sus receptores, (90); disminución en la producción de macrófagos, de IL-1 y del factor de necrosis tumoral, (36); disminución en la actividad de las células “natural killer” (NK) (86).

Por otra parte, en un experimento de toxicidad subcrónica en ratones, apareció disminuida la producción de anticuerpos de manera dosis-dependiente, pero no se vieron afectadas ni la producción de IL-2 ni la actividad NK (131).

Alteraciones morfofisiológicas

Macroscópicas.

El consumo crónico de OA ha sido asociado con la nefropatía aviar espontánea, con importantes cambios fisiopatológicos (38,59).

Se ha visto que una de las principales zonas afectadas es el sistema nervioso central, incluyendo esto malformaciones craneales en los fetos (43).

Efecto congestivo y hemorrágico

El síndrome de la OTA se asemeja en este caso al producido por la carencia de vitamina K (89).

A pesar de las discrepancias toxicocinéticas encontradas en diversas especies, las lesiones renales en cerdos, aves y roedores son muy similares (33,92).

Microscópica.

Encontramos determinados efectos a nivel renal los cuales se pueden explicar por el daño en el túbulo contorneado proximal, pero otros como la baja de la tasa de filtración glomerular, poliuria y descenso de la osmolaridad de la orina, no pueden ser interpretados como una simple consecuencia de la lesión tubular proximal. Se cree que la OTA puede afectar a diferentes partes de la nefrona dependiendo de la dosis y tiempo de exposición (48).

Durante una exposición aguda sería el túbulo colector la porción más afectada, dando lugar a una alteración en la excreción de electrolitos. Seguramente, el mecanismo en este caso sea el bloqueo de la conductividad de aniones a través de la membrana plasmática (48).

Proteínas.

El mecanismo primario de acción involucrado en la toxicidad de OTA es la inhibición de la síntesis de proteínas. La OTA inhibe la síntesis proteica a nivel post-transcripcional por inhibición competitiva de la Fenilalanina sintetasa (Phe-tRNA sintetasa). A pesar de que la afinidad de OTA por la Phe-tRNA sintetasa es mucho menor que la que presenta la propia fenilalanina (Phe), OTA es probablemente muy efectiva cuando se acumula en las células ya que la concentración intracelular de Phe es pequeña (81,82).

Sin embargo la OTA compite con la Phe en la unión con su correspondiente RNA de transferencia, reacción catalizada por la Phe tRNA sintetasa. Inhibe las dos reacciones catalizadas por la Phe-tRNA sintetasa: la activación de la Phe y su fijación sobre el tRNA. Este mecanismo provoca una gran variedad de efectos tóxicos, ya que se puede producir la carencia de determinadas enzimas (76).

Albúmina.

Tanto en la ocratoxicosis, y la aflatoxicosis baja la concentración de albúmina es causado por la inhibición de síntesis de proteínas en hígado (1, 62,76, 79, 80, 99,132).

Concentración Enzimática.

Los últimos años se han estado empleando reacciones enzimáticas para el diagnóstico de las enfermedades en todas las especies animales comunes. Cuando se alteran las concentraciones de una enzima, ya sea en el suero o en un tejido, ello indica uno o mas de los siguientes procesos: 1) necrosis de las células, 2) alteración de la permeabilidad de la membrana celular, 3) dificultad orgánica para la eliminación de la enzima, 4) incapacidad de las células para sintetizar la enzima y 5) un aumento en la producción de la enzima (108).

Alaninamino transferasa (ALT=TGP).

La ALT se considera específica de lesión hepática en perros y gatos, la vida media en plasma en estas especies es de 60 Hrs.

El incremento sérico es paralelo a la lesión hepática en procesos agudos, días después a la lesión estos niveles pueden ser bajos. Esta enzima también se puede elevar por tratamientos con corticosteroides. La ALT no es usualmente utilizada para evaluar lesión hepática en caballos, vacas, ovinos, cabras o cerdos (31,41).

Alaninaspartato transferasa (AST=TGO).

La actividad más elevada de la enzima AST en el pollo se da en el músculo cardíaco, seguido del hígado y el músculo esquelético. La elevación de dicha enzima se ha relacionado con daño hepatocelular en los pollos, siendo la causa más frecuente en la elevación de su actividad la enfermedad hepática por aflatoxicosis. En general, se consideran como animales anormales, las aves que tengan una AST mayor a 230 U/L.

Cuando se encuentran lesionados los tejidos blandos, se observa un aumento en la AST de dos a cuatro veces, mientras que cuando existe necrosis hepática, se encuentran elevaciones más notables (22,23).

Los picos de elevación de la enzima se dan en los cursos agudos y subagudos de lesión hepática y su duración es relativamente corta (semanas) (51).

Bilirrubinas.

Una importante función excretora del hígado, relacionada con la secreción de bilis, es la eliminación de bilirrubina de la sangre. Este pigmento tóxico y de coloración verdosa se origina de la degradación de la hemoglobina contenida en los eritrocitos envejecidos que

son eliminados de la circulación por las células de Kupffer hepáticas y por otras células con capacidad fagocitaria del bazo.

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

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

La primera sustancia que se forma es la biliverdina, aunque en seguida se reduce hacia *bilirrubina libre o bilirrubina indirecta*, que va liberándose poco a poco de los macrófagos hacia el plasma. La bilirrubina libre se une de manera inmediata a la albúmina del plasma, que la transporta por la sangre y los líquidos intersticiales. Esta bilirrubina, aún ligada a la albúmina, sigue denominándose bilirrubina libre.

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

De manera que en una afección hepática, la tasa de síntesis de bilirrubina es normal, pero la bilirrubina formada no puede pasar de la sangre al intestino. La bilirrubina libre suele entrar al hepatocito y se conjuga de manera habitual. Esta bilirrubina conjugada regresa luego a la sangre, quizá por la rotura de los canalículos biliares congestionados o por modificación del mecanismo de excreción del hepatocito y por el vertido directo de la bilis a la linfa que drena el hígado. Por consiguiente, casi toda la bilirrubina del plasma, presente en una afección hepática es *directa o conjugada*, en lugar de libre (54,55).

Justificación.

La vacunación contra la coccidiosis aviar es un método eficiente para prevenir la enfermedad sin inducir resistencia hacia drogas anticoccidias. Sin embargo, la presencia de micotoxinas presentes en los alimentos interfiere con una protección inmunológica adecuada contra la coccidiosis aviar, lo cuales afectan el desempeño productivo del pollo de engorda en México.

Hipótesis.

La presencia de aflatoxinas u ocratoxinas en el alimento ocasionará una mala respuesta a la vacunación contra la coccidiosis aviar, afectando el desempeño productivos de los animales y alterando la química sanguínea.

Objetivo.

Evaluar el efecto de las aflatoxinas u ocratoxinas sobre la eficiencia productiva en pollos de engorda vacunados contra la coccidiosis aviar, bajo condiciones controladas y desafiadas con *Eimeria sp* de baja patogenicidad obtenidas de un brote infeccioso de campo.

Objetivos particulares.

- 1.- Evaluar el efecto sobre las variables productivas en aves vacunadas contra coccidiosis en presencia o ausencia de micotoxinas en el alimento y desafiadas con ooquistes maduros de *Eimeria spp*.
- 2.- Evaluar el efecto las variables productivas en aves vacunadas contra coccidiosis al día de edad por aspersión y desafiadas con ooquistes de *Eimeria spp*.
- 3.- Evaluar las alteraciones en el hematocrito, transaminasas y bilirrubinas séricas en aves vacunadas y desafiadas, que consumieron alimento con aflatoxinas y ocratoxinas.

Materiales y Metodología.

a) Biológicos: Se utilizaron pollos de engorda estirpe Ross ambos sexos; vacuna comercial trivalente con ooquiste no atenuados (*E. acervulina*, *E. máxima*, *E. tenella*); cepas de hongos productores de aflatoxina B1 y B2 (*Aspergillus flavus*) y de ocratoxina A (*Aspergillus ochraceus*), los cuales fueron inoculados en maíz en la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) de la FES-Cuautitlán UNAM, campo 3.

b) Reactivos: Kit comercial para la determinación en suero de transaminasa sanguíneas como la alanintransferasa (ALT), y la aspartatotransferasa (AST) y bilirrubinas.

c) Equipo: fluorómetro, espectrofotómetro, comederos y bebederos de acero inoxidable.

d) Otros: tubos capilares, tubos de ensayo de 12 x 10, gradilla, jeringas, lector de hematocrito y refractómetro de Golberte.

Diseño experimental.

Se utilizaron 90 aves de un día de edad, estirpe Ross para aplicar 8 tratamientos. El trabajo experimental tuvo una duración de 28 días. El diseño experimental consistió en:

I.- (C): sin micotoxina, sin vacuna y sin desafío.

II.- (V): vacuna comercial.

III.- (AFBV): aflatoxinas y vacunado.

IV.- (OTAV): ocratoxinas y vacunado.

V.- (CD): desafiado con aislamiento de campo de baja patogenicidad.vacunado

VI.- (VD): vacunado y desafiado.

VII.- (AFBVD): aflatoxinas, vacunado y desafiado.

VIII.- (OTAVD): ocratoxinas, vacunado y desafiado

El consumo de agua y alimento será *ad libitum*. Las aves consumieron alimento de iniciación del día 0 al 28 de edad.

Manejo de las aves.

Al día uno las aves fueron vacunadas por aspersión contra la coccidiosis aviar.

Al día 21 las aves fueron desafiadas con una cepa de campo de *Eimeria* sp.

Al día 28 se muestrearon las aves por cada tratamiento para evaluación de alteraciones morfológicas (macroscópicas y microscópicas) a nivel intestinal.

Inóculo de desafío.

Se preparó un inóculo de desafío con cepas de baja patogenicidad aisladas de un brote de campo, de una granja avícola del Estado de México. El inóculo contenía en promedio 10,000 ooquistes de *Eimeria* (*E. acervulina* 5,000 ooquistes, *E. máxima* 2,500 ooquistes y *E. tenella* 2,500 ooquistes). El inoculo fue preparado en el laboratorio de Parasitología de la FES-Cuautitlán UNAM, bajo la supervisión del M en C. Juan Pablo Martínez Labat.

Parámetros a evaluar

Se realizó una evaluación diaria, efectuando como mínimo 4 visitas. El consumo de alimento y peso se evaluó semanalmente. Otros indicadores evaluados fueron: índice de conversión, ganancia de peso, porcentaje de hematocrito y química sanguínea para evaluar la concentración de ALT, AST y bilirrubinas las cuales se determinaron al día 28 del nacimiento de la parvada.

Morfopatología.

Se tomaron 8 aves al azar de cada tratamiento, se realizó la toma de aproximadamente 5 ml de sangre obtenida por punción cardíaca, posteriormente fueron sacrificadas las aves por dislocación cervical y desangrado como método eutanásico. (Cardenenti *et al*, 2004)

Análisis estadístico.

Los análisis estadísticos para los indicadores de peso, consumo, ganancia de peso y conversión alimenticia se realizaron conforme a un diseño completamente al azar (ANOVA de una vía), realizando la comparación de medias a través de la prueba de Tukey. Los datos se analizaron utilizando el software estadístico Statgraphics 5.0 Plus con un nivel de significancia de $P < 0.05$ para todas las evaluaciones.

RESULTADOS.

El trabajo experimental inició únicamente con 4 grupos que fueron el C, V, AFBV y el OTAV, donde se distribuyeron las aves, y a partir del día 21, momento en que se realizó el desafío con el preparado de coccidias aisladas de campo. Formándose 4 grupos más que fueron el CD, VD, AFBVD y el OTAVD, como se explicó en el diseño experimental. Cabe recordar que las aves fueron vacunadas al día de edad por aspersión, según le correspondía al tratamiento designado.

Peso.

Los primeros 7 días del proyecto experimental, que es el correspondiente a las edad de los pollos, las aves del grupo C mostraron el mejor peso vivo (118.5 g), seguido de las aves del grupo V con un peso vivo de 98.9 g. Sin embargo al comparar el peso promedio de los tratamientos anteriores muestra diferencia estadística ($p < 0.05$) con los tratamientos AFBV y OTAV los cuales mostraron pesos promedios de 96.05 g y 93.06 g respectivamente. Al día 14 y 21 se registró la misma tendencia. Los grupos C y V al día 14 tuvieron pesos similares entre 332.25 g y 280.7 g ($p > 0.05$), al compararlos con los grupos AFBV y OTAV (208.11 y 198.2 g) si se observa un efecto negativo de las micotoxinas sobre los pesos. Este mismo comportamiento se registró al día 21 los grupos C y V tuvieron pesos de 520.25 g y 485.8 g y los tratamientos AFBV y OTAV de 363.94 g. y 355.33 g. Así en el día 28 observamos que las aves del grupo C presentaron un peso mayor respecto a los demás grupos, sin embargo no hay diferencia estadística con los grupos V y VD, pero si la hay con respecto a los demás grupos. Tabla 3. Peso.

Tabla 3. Peso promedio de las aves al día 7, 14, 21 y 28 de edad, expresado en gramos.

GRUPOS	Día 7	Día 14	Día 21(desafío)	Día 28
C	118.5+/- 25.4 ^a	332.25+/- 36.3 ^a	520.55+/- 54.61 ^a	823.66 +/- 40.4 ^a
V	98.9 +/- 45.8 ^{ab}	280.7+/- 128.8 ^a	485.8 +/- 216.3 ^a	817.22+/-13 ^a
AFBV	96.05 +/- 29.4 ^b	208.11+/- 60.4 ^b	363.94+/- 105.0 ^b	768+/-39.9 ^b
OTAV	93.16+/- 25.4 ^b	198.2+/- 87.7 ^b	355.33+/- 216.3 ^b	770.67+/- 41.4 ^b
CD	-	-	-	707.4+/- 51.2 ^c
VD	-	-	-	792.57+/- 26 ^{ab}
AFBVD	-	-	-	676.14+/- 42 ^c
OTAVD	-	-	-	681.71+/-59.4 ^c

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

C = Control, V = Vacunado, AFBV =Aflatoxina vacunado, OTAV = Ocratoxina vacunado, CD = Control mas desafío, VD = Vacunado mas desafío, AFBVD =Aflatoxina vacunado mas desafío, OTAVD = Ocratoxina vacunado mas desafío.

Consumo de alimento.

En la primera semana del trabajo experimental no se observó diferencia estadística ($p > 0.05$). Sin embargo en la 2^o semana se registró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre todos los tratamientos, siendo el de mayor consumo el grupo V con 322.9 g en promedio de alimento por ave, seguido del tratamiento C (282.3 g), del grupo OTAV (251.3) y el de menor consumo fue para el tratamiento AFBV con un consumo de 197.5 g. Al día 21 se conservó la misma tendencia, consumiendo mas alimento las aves de los grupos V con 695.9 g y AFBV con un promedio de 421.6 g ($p > 0.05$).

En la última semana del trabajo experimental los tratamientos que presentaron un consumo similar ($p > 0.05$) de alimento fueron el C (428.1 g), el AFBV (416.9 g) y AFBVD (347.8), al comparar los promedios de consumo de alimento de los grupos anteriores con el resto de los tratamientos, si se observaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

El mayor consumo de alimento fue para las aves del tratamiento CD, con un consumo de 819.2 g., y el menor consumo para el tratamiento AFBVD con 347 g., de alimento

consumido, mientras que los tratamientos V 663 g., OTAV 647.4 g., VD 487.8 g., y OTAVD 602.4 g. .Tabla 4. Consumo de alimento.

Tabla 4. Consumo de alimento promedio de las aves al día 7,14,21,28 expresado en gramos.

GRUPOS	Día 7	Día 14	Día21(desafío)	Día 28
C	90.1+/- 0 ^a	282.3 +/- 0 ^a	543.2+/- 0 ^a	428.1+/- 0 ^a
V	89.55 +/- 0 ^a	322.9 +/- 0 ^d	695.9+/- 0 ^d	663 +/- 0 ^b
AFB V	86.51+/- 1.68 ^a	197.5 +/- 0 ^c	421.6+/- 0 ^c	416.9 +/- 0 ^a
OTAV	86.8+/- 11.4 ^a	251.3 +/- 0 ^b	511.3+/- 0 ^a	647.4 +/- 0 ^f
CD	0	0	0	819.2 +/- 0 ^h
VD	0	0	0	487 +/- 0 ^d
AFBVD	0	0	0	347.8+/- 0 ^a
OTAVD	0	0	0	602.4 +/- 0 ^c

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

C= Control, V= Vacunado, AFBV =Aflatoxina vacunado, OTAV = Ocratoxina vacunado, CD = Control mas desafío, VD = Vacunado mas desafío, AFBVD =Aflatoxina vacunado mas desafío, OTAVD = Ocratoxina vacunado mas desafío.

Conversión alimenticia.

En cuanto a la conversión alimenticia, el día 7 y 14 del proceso experimental, no se observó diferencia estadística ($p > 0.05$) entre los grupos OTAV (2.0 kg.) AFBV (2.0 kg) y V (1.8 kg.), pero si al comparar estos tratamientos con el C (1.3 kg.) observándose una buena conversión alimenticia.

Al día 21 los tratamientos C (1.05 kg.) y V (1.05 kg.) no presentaron diferencia estadística ($p > 0.05$) entre ellos, pero si presentaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) con los tratamientos AFB (1.2 kg) y con OTAV (1.3 kg), en los que los animales consumieron mas

alimento y tuvieron una menor conversión alimenticia. Una semana después de haber sido formados y desafiados nuevos grupos, para el día 28 las aves de los grupos C (1.15 Kg.), V (1.18Kg) y VD (1.18) mostraron un patrón de conversión alimenticia similar ($p>0.05$). Mientras las aves de los tratamientos que no recibieron vacuna pero fueron desafiados, así como los tratamientos con ocratoxina y vacuna, y ocratoxina con vacuna y desafío, fueron los de menor conversión de alimento ($p<0.05$). Las aves de los tratamientos con aflatoxina vacunados con y sin desafío presentaron conversiones de 1.2, lo cual fue diferente estadísticamente respecto al resto de los grupos descritos previamente.

Tabla 5. Conversión Alimenticia promedio de las aves al día 7, 14, 21,28 expresado en kilogramos.

	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21(desafío)</i>	<i>Día 28</i>
C	1.3+/-0.004 ^a	1.3+/- 0.002 ^a	1.05+/- 0.007 ^a	1.15+/- 0.007 ^a
V	1.8+/-0.006 ^b	1.7+/- 0.001 ^b	1.05+/- 0.007 ^a	1.18+/- 0.007 ^a
AFBV	2+/- 0 ^b	1.7+/- 0 ^b	1.2+/- 0.007 ^b	1.2+/- 0.007 ^b
OTAV	2+/-0 ^b	2.3+/- 0 ^b	1.3+/- 0.007 ^b	1.3+/- 0.007 ^c
CD	0	0	0	1.4 +/- 0.007 ^c
VD	0	0	0	1.18+/- 0.007 ^a
AFBVD	0	0	0	1.2+/- 0.007 ^b
OTAVD	0	0	0	1.3+/- 0.007 ^c

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

C= Control, V= Vacunado, AFBV =Aflatoxina vacunado, OTAV = Ocratoxina vacunado, CD = Control mas desafío, VD = Vacunado mas desafío, AFBVD =Aflatoxina vacunado mas desafío, OTAVD = Ocratoxina vacunado mas desafío.

Transaminasas.

AST.

En cuanto a la concentración de la enzima AST en suero se observó al día 28 del experimento que los tratamientos OTAV (31.6 UI), AFB (22 UI) , AFBVD y OTAVD (con 17.6 UI c/u) fueron los que presentaron las concentraciones promedio más altas como era de esperarse, mostrando diferencia con los tratamientos que no consumieron algún tipo de micotoxinas utilizadas ($p < 0.05$). La concentración promedio de AST en suero para las aves de los tratamientos C, V, CD y VD osciló entre 0.97 y 2.0 UI, sin mostrar diferencia estadística entre ellos ($p > 0.05$). Tabla 6 AST.

ALT.

La ALT se comportó como la AST, donde los tratamientos con aflatoxina y ocratoxina presentaron las concentraciones mas altas ($p < 0.05$) y las aves de los grupos libres de micotoxinas las concentraciones mas bajas, como a continuación se explica. Para el tratamiento C la concentración sérica fue de 0.64 UI, el tratamiento V de 0.44 UI, el tratamiento CD de 0.88 UI y para el tratamiento VD 0.58 UI, mientras que la concentración promedio sérica para los tratamientos AFBV(2.0 UI), AFBVD (1.76 UI), OTAV (1.76) y OTAVD (1.9). Tabla 6. AST.

Tabla 6. Transaminasas sanguíneas promedio de las aves al día 28 de edad expresada en Unidades Internacionales.

GRUPOS.	AST (U/I).	ALT (U/I).
C	0.97 +/- 0.0 ^a	0.64 +/- 0.29 ^a
V	2.0 +/- 0.0 ^a	0.44 +/- 0.41 ^a
AFBV	22 +/- 0.0 ^b	2.0 +/- 0.66 ^b
OTAV	31.6 +/- 0.0 ^b	1.76 +/- 0.38 ^b
CD	1.29 +/- 0.0 ^a	0.88 +/- 0.26 ^a
VD	2.0 +/- 0.0 ^a	0.58 +/- 0.23 ^a
AFBVD	17.6 +/- 0.02 ^b	1.76 +/- 0.47 ^b
OTAVD	17.6 +/- 0.0 2 ^b	1.9 +/- 1.1 ^b

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

C = Control, V = Vacunado, AFBV =Aflatoxina vacunado, OTAV = Ocratoxina vacunado, CD = Control mas desafío, VD = Vacunado mas desafío, AFBVD =Aflatoxina vacunado mas desafío, OTAVD = Ocratoxina vacunado mas desafío

Proteínas Totales y Albúmina.

Proteínas totales.

En cuanto a las proteínas séricas se observó que el día 28 las aves del tratamiento C presentaron 0.12 g/dl y el tratamiento V 0.11 g/dl la mayor concentración, sin diferencia estadística entre éstos tratamientos ($p > 0.05$). Los tratamientos con alguna de las micotoxinas probadas en este estudio o que fueron desafiados con el inoculo de coccidias presentaron concentraciones de 0.078 a 0.097 g/dl, no habiendo diferencia entre estos grupos ($p > 0.05$), cabe mencionar que en aquellos grupos inoculados con aflatoxinas la concentración sérica de proteínas totales fue menor (Tabla 7).

Albúmina.

Para el día 28 se observó que el menor promedio de proteínas lo obtuvo el tratamiento AFBV y AFBVD con 0.071g/dl cada uno, OTAV teniendo 0.073 g/dl, CD obtuvo 0.089g/dl y OTAVD quien tenia 0.059 g/dl los cuales no presentaron diferencia estadística entre si ($p > 0.05$). Sin embargo con los otros dos tratamientos. si tuvieron diferencia estadística ($p < 0.05$), el tratamiento C con 0.11 g/dl, seguido del tratamiento V 0.11g/dl no tuvieron diferencia entre sí ($p > 0.05$).(Tabla 7 Proteínas Totales y albúmina.(g/dl).

Tabla 7 Proteínas Totales y Albúmina promedio de las aves al día 28 de edad expresada en gramos / decilitros.

GRUPOS.	Proteínas totales. (g/dl)	Albúmina. (g / dl)
C	0.12 +/- 0.005 ^b	0.11 +/- 0.038 ^c
V	0.11 +/- 0.0035 ^b	0.11 +/- 0.0035 ^c
AFBV	0.078 +/- 0.019 ^a	0.071 +/- 0.0074 ^a
OTAV	0.080 +/- 0.020 ^a	0.073 +/- 0.020 ^a
CD	0.086 +/- 0.018 ^a	0.089 +/- 0.007 ^a
VD	0.097 +/- 0.02 ^a	0.10 +/- 0.005 ^c
AFBVD	0.078 +/- 0.012 ^a	0.071 +/- 0.007 ^a
OTAVD	0.083 +/- 0.022 ^a	0.059 +/- 0.006 ^a

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

C = Control, V = Vacunado, AFBV =Aflatoxina vacunado, OTAV = Ocratoxina vacunado, CD = Control mas desafío, VD = Vacunado mas desafío, AFBVD =Aflatoxina vacunado mas desafío, OTAVD = Ocratoxina vacunado mas desafío.

Hematocrito.

En el día 28 de experimentación, las aves del grupo C presentaron el mayor porcentaje de hematocrito con 27.25 %, seguido del tratamiento V con 26.75% ($p > 0.05$). Posteriormente los tratamientos AFBV con un hematocrito del 20%, el tratamiento OTAV con 19.4%, AFBVD con 20.1 % y OTAVD que consiguió el 21.8 % de hematocrito tuvieron una diferencia significativa ($p < 0.05$) con el tratamiento C y V, así como también con el tratamiento VD 24.6% ($p > 0,05$). Tabla 8. Hematocrito.

TABLA 8. Hematocrito promedio de las aves al día 28 de edad representada en porcentaje.

Hematocrito	%
C	27.25 +/- 1.25 ^c
V	26.75 +/- 1.25 ^c
AFBV	20.4 +/- 1.14 ^a
OTAV	19.4 +/- 3.2 ^a
CD	21.8 +/- 1.4 ^{ab}
VD	24.6 +/- 1.2 ^{bc}
AFBVD	20 +/- 3.39 ^a
OTAVD	21.8 +/- 1.9 ^a

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

C = Control, V = Vacunado, AFBV =Aflatoxina vacunado, OTAV = Ocratoxina vacunado, CD = Control mas desafío, VD = Vacunado mas desafío, AFBVD =Aflatoxina vacunado mas desafío, OTAVD = Ocratoxina vacunado mas desafío.

Bilirrubinas.

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

En los muestreos que se realizaron la concentración sérica de bilirrubinas directas fue mayor en las aves del grupo que consumieron algún tipo de micotoxinas, sin embargo no hay diferencia significativa entre estos tratamientos. Sin embargo, el tratamiento que mayor concentración sérica presentó fue el tratamiento AFBVD con 0.9405 mg/l, siendo la bilirrubina directa o conjugada las mas elevadas. Esta diferencia se pueden observar en la tabla 9.

Tabla 9. Bilirrubinas Directa, Total e Indirecta promedio de las aves al día 28 de edad representada en miligramos/ litro

CONCENTRACIÓN SÉRICA DE BILIRRUBINAS (mg/l)			
TTO	B. T.	B. I.	B. D.
C	0.2565 +/- 0.513 ^a	0.5814 +/-0.4275 ^a	0.8379 +/-0.4788 ^a
V	0.2565 +/- 0.034 ^a	0.3762 +/-0.1026 ^a	0.6327 +/- 0.1368 ^a
AFBV	0.4788 +/- 0.0171 ^a	0.4788 +/-0.3933 ^a	0.855 +/- 0.4104 ^b
OTAV	0.4446 +/-0.0684 ^a	0.171 +/- 0.2565 ^a	0.6156 +/- 0.3249 ^a
CD	0.2565 +/-0.2565 ^a	0.6156 +/-0.1026 ^a	0.8721 +/- 0.3591 ^b
VD	0.2565 +/-0.4959 ^a	0.684 +/- 0.461 ^a	0.4959 +/- 0.13.68 ^a
AFBVD	0.4617 +/- 0.022 ^a	0.4788 +/-0.085 ^a	0.9405 +/- 0.0222 ^b
OTAVD	0.4446 +/- 0.0342 ^a	0.1026 +/-0.3078 ^a	0.7866 +/- 0.342 ^b

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

C = Control, V = Vacunado, AFBV =Aflatoxina vacunado, OTAV = Ocratoxina vacunado, CD = Control mas desafío, VD = Vacunado mas desafío, AFBVD =Aflatoxina vacunado mas desafío, OTAVD = Ocratoxina vacunado mas desafío.

Discusión.

Peso.

En este estudio se puede observar un efecto negativo sobre el peso de las aves al estar presente algún tipo de micotoxinas (aflatoxina u ocratoxina), y que se exagera al estar presente la infección por *Eimeria sp*, incluso después de la vacunación contra este parásito.

En el presente trabajo las aves que consumieron alimento con algún tipo de micotoxinas presentaron los menores pesos al ser comparado con las aves no expuestas a la(s) toxina(s). Esto concuerda por lo observado por Quezada *et al.*, (2000), quienes utilizaron una concentración similar de aflatoxina (0.5 mg/kg de AFB en alimento), del mismo modo Da Falla *et al.*; (1987), observaron este efecto, hasta la segunda semana de haber ingerido la aflatoxina. A pesar que estos investigadores utilizaron una concentración de 1.1 ppm que es mayor a la utilizada en este estudio, por lo que podemos decir que concentraciones menores de aflatoxina (0.5 ppm) son capaces de afectar el peso de los animales (Del Río, 1997).

Respecto al efecto de la ocratoxina Cevallos *et al.*, (2007) no reportan efecto en el peso usando dosis de (0.5mg/Kg), sobre las variables productivas, como es el peso, sin embargo detectaron signología clínica como depresión, emaciación, deshidratación y diarrea, por lo tanto el crecimiento y el peso se ve reducido (Leeson *et al.* 1995), en este estudio si se observó diferencia estadística , Gimeno *et al.* (2003), señalan que los pollos de 1 día de vida que consumen alimentos contaminados con 500 ppb de ocratoxina durante 3 semanas , se observó una reducción de la ganancia de peso vivo, en comparación con su grupo control.

En un experimento desarrollado por Gimeno *et al.* (2003) y Edds *et al.*, (1976) observaron que alimento que contenía AFB1 a concentraciones de 250 a 500 ppb en alimento, suministrados a pollitos de 1 día de vida durante 3 semanas, sufrieron una reducción de peso del 20% y se aumento la susceptibilidad a *Eimeria tenella*, aún en presencia de

coccidiostátos, quizá la explicación a este fenómeno, es que el uso de coccidiostatos ayudan a mantener una población constante de protozoarios, favoreciendo una respuesta de defensa del organismo ante dicha etiología. sin embargo al estar presente las aflatoxinas causan inmunodepresión, evita la destrucción de las eimerias y desarrollandose la lesión intestinal y por consiguiente efectos en las variables productivas. Por otra parte Hammond y Long (1973) y Ruff (1989) señalan que las aves afectadas por coccidiosis presentan retardo en el crecimiento y depresión en la ganancia de peso, alteraciones observadas en este trabajo, sin embargo, el uso de vacunas representa una buena alternativa para evitar el efecto negativo de la infestación por coccidias como se reporta en este estudio realizados por Norton *et al.*, (1989), y Evans *et al.*, (1989), quienes determinaron la eficacia de una vacuna elaborada con cepas atenuadas de las siete especies de *Eimeria*. No obstante al estar presente algún tipo de las dos micotoxinas utilizadas en las aves que fueron vacunadas, el peso fue menor que las aves del grupo control, siendo mayor la pérdida de peso, si además estas aves habían sido desafiadas con el inoculo de coccidias de campo. La susceptibilidad incrementada a la coccidiosis (aves desafiadas) con y sin vacuna se puede presentar por el efecto de las micotoxinas utilizadas, ya que se sabe tienen secuelas inmunodepresoras (Stoycho *et al.* 2002), lo cual puede interferir en el montaje de respuesta inmune, primero hacia la vacuna y posteriormente hacia el agente, así el intestino queda vulnerable ante la presencia de parásitos vacunales o infecciosos, (Quiroz, 2005) .

Consumo de alimento.

En lo que ha consumo de alimento respecta, se vio afectada en las aves que consumieron alimento con alguna de las micotoxinas utilizadas, afectándose aún mas después del desafío con coccidias de aisladas de campo. Este mismo comportamiento fue descrito por Quezada *et al.*, (2000), los cuales usaron una dosis de 0.5 mg de AFB/Kg de alimento, haciéndose notorio a partir de la tercer semana. En este experimento los cambios en el consumo de alimento se presentaron en la cuarta semana, justo una semana después al desafío. En el trabajo de Saume *et al.* (2001), indica que los índices de consumo de alimento de aves vacunadas fueron menores que los del grupo control sano y a su vez de los grupos controles

positivo tuvieron un menor consumo de alimento, siendo el grado de alteración menor presentado en este trabajo.

Conversión alimenticia.

En el trabajo realizado al evaluar la variable de la conversión alimenticia, el peor índice de conversión lo presentó el grupo CD (1.4kg.) en comparación con el grupo C (1.15Kg.), Schertter *et al.*, (1999) evaluaron el efecto de la vacunación contra coccidiosis con un grupo control, una dosis de vacuna, dos dosis de vacuna y cinco veces la dosis, desafiando con tres diferentes especies de *Eimeria*, reportando un efecto positivo cuando las aves fueron vacunadas y posteriormente desafiadas. A pesar que en este estudio solo se vacunó una sola vez, se pueden ver resultados similares. Se sabe por estudios previos que la coccidiosis altera el desarrollo de las aves, ocasionando mayor consumo de alimento para ganar un kilo de peso, esto debido a la alteración epitelial (necrosis) ocasionada y por consiguiente trastornos en la absorción de nutrientes. (Valadez, 2005). Del mismo modo se sabe que la respuesta inmunitaria contra este tipo de parásitos se desarrolla y permanece activa solo cuando el parásito está presente, por lo que el uso de vacunas (cepas atenuadas) mantiene una respuesta inflamatoria e inmune preventiva (Valadez, 2005), la cual en este estudio se vio interferida al estar presentes las aflatoxinas y las ocratoxinas.

Transaminasas

AST.

La AST, enzima presente en varios tejidos de animales, especialmente el corazón, el hígado y el tejido muscular y esta es muy útil para la evaluación de lesiones que se presentan en hígado y músculo (Defalla *et al.*, 1987). En este trabajo se registró una elevación en la concentración sérica en las aves del grupo de aflatoxinas y ocratoxinas en

comparación con el grupo C ($p < 0.05$) al día 28 de haber iniciado el experimento. Al igual que Quezada *et al.*, (2000), la evaluación de la concentración sérica de AST es utilizada cuando se sospecha de alguna patología hepática. En muchas ocasiones al utilizar concentraciones de 0.5 ppm de aflatoxina o menores no se aprecian lesiones macroscópicas, sin embargo el funcionamiento (metabolismo) si se ve alterado, en el caso de este estudio se encontró correlación de la concentración sérica con la alteración en las variables productivas.

ALT.

En el caso de la ALT se observó un comportamiento similar a AST, en el grupo C mantiene los niveles bajos, sin embargo, las aves de los grupos con aflatoxinas y ocratoxinas con vacunación y con o sin desafío presentaron una mayor concentración sérica, lo que sugiere daño hepático, sin embargo esta enzima también puede aumentar por lesiones en músculo cardíaco, músculo esquelético y tejido pulmonar (Coles, 1999), lo cual también es de esperar, ya que estas micotoxinas lesionan con mayor intensidad estos tejidos, pero al circular en sangre pueden afectar otros tejidos. Estos resultados concuerdan por lo reportado por *Quezada et al.*, (2000), quienes manejaron una concentración de 0.5mg/kg igual a la utilizada en este trabajo y otra de 1 mg de AFB/kg de alimento. En ambos casos observaron un incremento de las concentraciones séricas de ALT (*Kubena et al.*, 1993; *Jindal et al.*, 1994; *Abo-Norag et al.*, 1995). Otros autores como *Ogguz et al.*, (2002) y *Smith et al.*, (1970), reportaron que los pollos que consumieron alimento con concentraciones entre 50 y 100 ppb de AFB/Kg de alimento por un periodo de 42 días, la concentración sérica de ALT se fue incrementando conforme a la concentración utilizada de AFB.

Proteínas Séricas Totales y Albúmina.

Proteínas Séricas Totales

En este trabajo se determinó que los grupos que presentaron una baja concentración de proteínas séricas totales fueron aquellos que en su alimentación se incluyó aflatoxinas y por ocratoxinas más desafío (AFBD y OTAVD), este mismo parámetro resulto afectado en el trabajo de Quezada *et al.*(2000) quienes explican que esta disminución en la concentración de proteínas está relacionada con el daño hepático ocasionado por las aflatoxinas (Tung *et al.*, 1975 y Kubena *et al.*, 1991). De acuerdo con lo observado en este trabajo la ocratoxina también causa una disminución en la concentración de proteínas, lo cual también ha sido descrito por Devegowda (1998), que explica el mecanismo derivado del daño hepático y renal.

Albúmina.

Respecto a la concentración de albúmina los grupos más afectados fueron aquellos que recibieron algún tipo de micotoxina, comparado con aquellos grupos que no consumieron micotoxinas.

En el trabajo de Gimeno *et al.* (2000), utilizaron dosis de 308 y 610 ppb, y observaron en las aves el hígado ligeramente friable y una reducción de la concentración de calcio en el suero, las lesiones histológicas consistieron en vacuolización de los hepatocitos y una infiltración grasa (Fernández *et al.* 1994). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Lanza *et al.*, (1980). La reducción en la concentración de proteínas totales y de albúmina por presencia de micotoxinas tiene su elucidación, y esto se debe a que tanto las aflatoxinas como las ocratoxinas trastornan el funcionamiento hepático, ya sea ocasionando necrosis (dosis altas) o bien alterando el metabolismo celular (dosis bajas) al interferir con la síntesis de RNA (Kubena *et al.*, 1993, Jindal *et al.*,1994).Cabe recordar que la albúmina es sintetizada a nivel hepático (Abo Norag *et al.*,1995, Gropan JD *et al.*,1994, Jindal *et al.*1994, Ogguz *et al.* 2002, Kubena *et al* 1993).

Porcentaje de hematocrito.

En el día 28 se observó un decremento del hematocrito en los grupos de aves que consumieron algún tipo de micotoxinas, con y sin desafío, mientras que las aves que no consumieron micotoxinas estuvieron dentro de los rangos descritos por Lastra (2000); Calnek (2003); Jordan (2002) y Jassar y Singh (1993); describen que aves que consumieron alimentos con micotoxinas mostraban una disminución en el porcentaje del hematocrito, la cual no fue significativa, lo cual concuerda con los hallazgos en este estudio, esto se da sobre todo por la presencia de un efecto depresor temporal en la médula ósea.

En los efectos sobre hematocrito refiere autores como Calnek (2003); Jordan (2002), y Jassar y Singh (1993) y otros, describen que la mayor cantidad de micotoxinas se encuentra en los órganos involucrados en su biotransformación, seguidos de los aquellos con mayor actividad metabólica, incluyendo entre otros a la médula ósea, por ser un tejido activo y con una división celular constante al producir las células de la fórmula roja, fórmula blanca y plaquetas Groopman *et al.* (1994) y Jordan *et al.* (2002) y Quezada (2000) Calnek. (2003).

Bilirrubinas.

Para el día 28 se observó una diferencia significativa en la concentración sérica de bilirrubinas directas o conjugadas, incrementándose en todos los grupos expuestos a alguna micotoxina, siendo el tratamiento AFBVD el que presentó el nivel más alto de bilirrubina. Esto como consecuencia de que estos compuestos afectan el funcionamiento y la integridad hepática (57).

Medel (2008), describe resultados similares a este trabajo ya que detectó aumento de bilirrubina directa en 0.9015 mg/l en animales expuestos a las aflatoxinas, y en este trabajo se obtuvo un 0.855 mg/l en el grupo AFBVD cifra similar a la encontrada por Medel.

Tenemos que la bilirrubina directa se encuentra aumentada mientras que la bilirrubina libre no, esto debido a la afección hepática causada por la aflatoxina, la cual involucra a los

hepatocitos ocasionando cambios en la permeabilidad celular de estos, y de los canalículos, y también provoca necrosis del tejido hepático.

CONCLUSIONES.

Las enfermedades intestinales constituyen un gran problema para la avicultura y sus efectos se agravan debido a la presencia de micotoxinas en el alimento las cuales afectan los parámetros productivos de las aves.

Con los resultados obtenidos en este estudio podemos concluir que:

- El uso de vacunas es una adecuada herramienta profiláctica para el control de la coccidiosis aviar,
- La presencia de aflatoxina u ocratoxina afectan la respuesta vacunal, aún en concentraciones que no son consideradas de importancia clínica.
- La presencia de ocratoxina en el alimento, al menos en este estudio, ocasionó una interferencia mayor con la vacunación.
- La presencia de micotoxinas alteran las concentraciones séricas de transaminasas y bilirrubinas, lo cual puede ser una herramienta más de laboratorio que pueda ser utilizada en el diagnóstico en casos de micotoxicosis aviar, en conjunto con datos del desempeño productivo y análisis toxicológico del alimento.

BIBLIOGRAFIA.

1. Abo-Norag M, Edrington TS, Kubena LF, Harvey RB. "Influence of a hydrated sodium_calcium aluminosilicate and virginiamycin on aflatoxicosis in broiler chickens". J. Poult. Sc.: 1995;74: 626-632.
2. Asao T, Buche G, Abbel-Kader MM, Chang SB, Wick EL, Wogan GN. "Aflatoxins B and G". J. Am. Chem. Soc.:1963; 87: 1076-1077.
3. Bafundo K. "Factores que afectan la eficiencia de los agentes anticoccidianos en la industria del pollo de engorda." Avicultura profesional: 1989: 7 (2)(6): 136-138.
4. Bata Á, Lasztity R. "Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms". Trends in Food Science & Technology:1999;77: 223 – 228.
5. Bhatnagar D, Cleveland TE, Cotty PJ. "Mycological aspects of aflatoxin formation. In: The toxicology of aflatoxin formation. Human Health, Veterinary and Agricultural Significance". Eaton, D. L. and Groopman, J. D. (Eds.). Academic Press. New York. 1994.
6. Bedrnik P. "The role of different *Eimeria* species in a prospective coccidiosis vaccine". Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs. France. 5th Inter Cocc Confer.:1989 :17-20 oct.:667-672.
7. Belli N, Pardo E, Marín S, Farré G, Ramos JA, Sanchis, V. Occurrence of ochratoxin A and toxicogenic potential of fungal isolates from Spanish grapes. J. Sci. Food Agric: 2004;84:591-594.

8. Belli N, Marín S, Sanchis V, Ramos JA. Review : Ochratoxin A (OTA) in wines, musts and grape juices : occurrence, regulation and methods of analysis. Food Sci. Tech. Int: 2002;8:325-335.
9. Bendele AM, Neal SB, Oberly TJ, Thompson CZ, Bewsey BJ, Hill LE, Rexroat MA, Carlton WW, Probst GS. Evaluation of ochratoxin A for mutagenicity in a battery of bacterial and mammalian 20cell assays. Food & Chem. Toxicol.: 1985;23: 911-918.
10. Bermúdez A, Sharma J, Stewart B. “Principles of Disease Prevention: Diagnosis and Control”. In: Saif YM, Diseases of Poultry Iowa State Press. 2003.
11. Breitholtz-Emanuelsson A, Olsen M, Oskarsson A, Palminger I, Hult K. Ochratoxin A in Cow's milk and in Human milk with corresponding human blood samples. Journal of the AOAC International. 1993;76: 842-846.
12. Bruce E. “Evaluación experimental de la eficacia de una vacuna trivalente atenuada contra la coccidiosis aviar causada por *Eimeria tenella*, *E. acervulina* y *E. máxima* en pollos de engorde en Venezuela”. (Tesis de Maestría). Postgrado en Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela,2002.
13. Bodine AB, Mertens DR. “Toxicology, metabolism, and physiological affects of aflatoxin in the bovine. In: Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn”: Diener, UL, Asquith RL, Dickens JW. Alabama Agriculture Experimental Station, Auburn University, Alabama.1983.
14. Buchi G, Rae ID. “The structure and chemistry of the aflatoxin. In: Aflatoxins”. New York: Goldblatt, LA, Academic press.1969.

15. Bullerman LB. "Methods of detecting micotoxins in foods and beverages. In: Food and Beverage Micology". 2^a edición, E.U.A.: New York. Beuchat LR, Fd, AVI. 1987:571
16. Burke AJ. "Chemical contaminants in foods: Some analytical considerations". J. Assoc. Off. Anal. Chem. :1985:68(6): 1069 – 1073.
17. Bush BM. Interpretation of Laboratory Results for Smal Animals Clinicians. Blackwell Scientific Publications. London. 1991.
18. Carrillo L. "Orientación Biológica". UNAS. 2002:16(5):987.
19. Chadman HD. "Use of anticoccidial Drugs in Broiler Chikens in the USA". Poultry Sci.: 2001: 80: 570-580.
20. Chad SA, Baines RN. Water Consumption in broiler chicken: a welfare indicator. Worlds Poult. Sci J.: 2001 : 63-71.
21. Clifford JI, Rees KR. "Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell". Nature: 1966: 209 :312 – 315.
22. Coles EH. Diagnóstico y Patología en Veterinaria. 2a edición. México: Editorial Interamericana McGraw-Hill,1986: 80 – 86.
23. Coles, Embert H."Diagnóstico y Patología en Veterinaria". 4^a Edición. México, Editorial Interamericana McGraw-Hill, 1999:285-299.
24. Conway DP, Mathis GF. "Eficacy comparison with chemical and ionophorous anticoccidials against *Eimeria spp*". Poult. Sci: 2001: 80: 426-430.
25. Cornelius CE.. "Liver Function" in Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4a edición. USA. Ed. Kaneko JJ. 1989: 120 – 124.

26. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Patología Estructural y Funcional. 4a edición. México. Editorial Interamericana.: 1992: 11: 1115 – 1117.
27. Creppy EE, Chakor K, Fisher MJ, Dirheimer G. The mycotoxin ochratoxin A is a substrate for phenylalanine hydroxylase in isolated rat hepatocytes and "in vivo". Archives of Toxicology, 1990: (64): 279-284.
28. Cysewski SJ, Pier AC, Engstrom GW, Richard JL, Dougherty RW, Thurston JR. "Clinical Pathologic features of acute aflatoxicosis of swine" Am. J. Vet. Res. 1977:29:1577 – 1580.
29. Dai J, Park G, Perry JL, Il'ichev Y, Bow DA, Pritchard, JB, Faucet V, Pfohl-Leskowicz A, Manderville RA, Simon JD. "Molecular aspects of the transport and toxicity of ochratoxin A". Acc. Chem. Res.:2004: 37:874-881.
30. Deborah C. "Micotoxicosis". Revista Plan Agropecuario.: 2000:Enero-Febrero:45-50.
31. Defalla_A, Yabi A, Adam S. "Experimental aflatoxicosis in hybro-type chicks: secuential changes in growth and serum constituents and histopathological changes". Vet. Hum. Toxicol.: 1987:29: 222 – 225.
32. Degen GH, Gerber MM, Obrecht-Pflumio S, Dirheimer G. "Induction of micronuclei with ochratoxin A in ovine seminal vesicle cell cultures". Arch Toxicol.:1997:71: 365-371
33. Delacruz L, Bach PH. "The role of ochratoxin A metabolism and biochemistry in animal and human nephrotoxicity". J. of Biopharm. Sci.: 1990: 1: 277-304.

34. Devegowda G, Raju MVLN, Afzali N, Swamy HVLN. "Mycotoxin picture world wide: Novel solutions for their counteraction". In: Lyons, T.P. & Jacques K.A. Eds. Biotech. in the Feed Ind.: 1998:241 – 255.
35. Domijan AM, Ferencic Z, Peraica M, Radic B, Lucic A, Fuchs R "Ochratoxin A induced apoptosis in rat tubular kidney tissue". Toxicol. lett.:1999: 109 (1):72.
36. Dhuley JN. "Effect of some Indian herbs on macrophage functions in ochratoxin A treated mice". J. of Ethnopharm.:1997:58: 15-20.
37. Edrington TS, Kubena LF, Harvey RB, Rottinghaus GE."Influence of superactivated charcoal on the toxic effects of aflatoxins or T-2 toxin in growin broilers". J. Poult Sci.: 1977:76:1205-1211.
38. Elling F, Hald J, Jacobsen C, Krogh P. "Spontaneous toxic nephropathy in poultry associated with ochratoxin A". Acta Pathol. Microbiol. et Immunol. Scand.: 1975: 83: 739-745.
39. Esqueda, VM, Villegas ORM. "Efecto de la producción de Aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en maíz, sus métodos de degradación y su posible control con lectinas". Rev. Vinculación:1991:3:(20): 44-47.
40. Fernandez A, Verde MT, Gascon M, Ramos J, Gómez JD, Chavez G. "Variation of clinical biochemical parametersparameters of laying hens chicken fed aflatoxin-containing feed". Avian Path.: 1994: 23: 37-47.
41. Föllmann W, Hillebrand IE, Creppy EE, Bolt HM ."Sister chromatid exchange frequency in cultured isolated porcine urinary bladder epithelial cells (PUBEC) treated with ochratoxin A and alpha". Arch Tox, 1995: 69: 280-286.

42. F.J. Micotoxinas emergentes. Introducción. Rev. Iberoam. Micol.:2000: 17: 61-62.
43. Fukui Y, Hoshino K, Kameyana Y, Yasui T, Toda C, Nagano H. "Placental transfer of ochratoxin A and its cytotoxic effect on the mouse embryonic brain". Food & Chem. Toxicol.:1987:25: 17-24.
44. García R . Evaluación de secuestrantes de micotoxinas para reducir la toxicidades en dietas para pollo de engorda contaminadas con cultivos de *Aperigillus ocracheus* y *Fusarium tricinctum* productores de ocratoxina y toxina T-2. Tesis (Grado Maestría). México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia(Distrito Federal). Universidad Nacional Autónoma de México, 2002.
45. Galtier P." Metabolisme et mode d'action de l'ochratoxine A". Les mycotoxines. Colloque INSERM: 1975:46: 69-78.
46. Galtier P. "Pharmacokinetics of ochratoxin A in animals". En: Castegnaro M Plestina R, Dirheimer G, Chernozemsky IN, Bartsch H. Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Lyon: IARC Sci. Public.:1991:115-187.
47. Gekle M, Silbernagl S. "Renal Toxicodynamics of ochratoxin A: a pathophysiological approach". J. of Biopharma. Sci.:1996:1 277-304.
48. Gibson RM, Bailey CA, Kubena LF, Huff WE, Harvey RB ."Ochratoxin A and dietary protein. 1. Effects on body weight, feed conversion, relative organ weight, and mortality in three-week-old broilers". Poult. Sci.:1989: 68: 1658-1663.

49. Gimeno A, Martins ML. "Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos". Special Nutrients, Inc. U.S.A.: Editorial Talleres gráficos del SRL, Argentina:2003: 1-160 .
50. Groopman JD, Eaton DL.. "Aflatoxins" 1st. Edition Editorial Elvesier, E.U.A.: 1994:250-267.
51. Groene EM, Hassing I, Maarten JB, Seinen W, Fink-Gremmels J, Horbach GJ. "Development of human cytochrome P450-expressing cell lines: application in mutagenicity testing of ochratoxin A". Cancer Res.:1996: 56: 299-304.
52. Grosse Y, Baudrimont I, Castegnaro M, Betbeder AM, Creppy EE, Dirheimer G, Pfohl-Leszkowicz A. "Formation of ochratoxin A metabolites and DNA-adducts in monkey cells". Chem.-Biol. Inter.:1995: 95: 175-187.
53. Guthrie, L. D. "Effects of aflatoxin in corn on production and reproduction in dairy cattle". J. Dair. Sci.:1979: 62: 134 – 135.
54. Guyton AC, may JE.. "Tratado de Fisiología Médica".10ª Edición. México: Editorial Interamerica Mc Graw Hill, 2001:964-966.
55. Guzmán de Peña D. "Mitos y Realidades de las Micotoxinas". Revista Avance y Perspectiva. 2001: Nov. – Dic.: 20: 415 – 420.
56. Hagelberg S, Hult K, Fuchs R. Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasmabinding properties. J. of Appli. Toxicol.: 1989: 9: 91-96.
57. Hamilton PB, Huff WE, Harris JR, Wyatt RD Natural occurrences of ochratoxicosis in poultry. Poult. Sci.: 1982: 61: 1832-1841.

58. Hennig A, Fink-Gremmels J, Leistner L. "Mutagenicity and effects of ochratoxin A on the frequency of sister chromatid exchange after metabolic activation". En: Castegnaro M, Plestina R, Dirheimer G, Chernozemsky IN, Bartsch H. Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. IARC Science publications, Lyon, 1991: 115-255.
59. Hellmut W. "Enfermedades de la Aves". Editorial Acribia S.A. España Zaragoza, 1994:77-80.
60. Hinton DM, Myers MJ, Raybourne RA, Francke CS, Sotomayor RE., Shaddock JWA, Chou MW. "Inmunotoxicology" Toxicology Sciences:2003: 73: 362 – 377.
61. Hofstad, M. S. "Diseases of Poultry". 7th edición. Estados Unidos: Iowa State University, 1978.
62. Huff WE, Harvey RB, Kubena LF, Rottinghaus GE. "Toxic synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens". Poult Sci.: 1988: 67:1418-1423.
63. Huff WE, Kubena LF, Harvey RB, Corrier DE, Mollenhaver HH. "Progression of aflatoxicosis in broiler chickens". J. Poult. Sci.: 1986: 65: 1891-1899.
64. Huff WE, Doerr JA, Webeck CJ, Chaloupka GW, May JD, Merkley JW. . "The individual and combined effects on aflatoxin and ochratoxin on various processing parameters of broiler chicken". Poult. Sci.: 1986: 63: 2153 – 2161.
65. IARC. "Ochratoxin A. En: Some naturally is occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins". IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 1993: 56: 489-521.
66. <http://www.inegi.org.mx/cna>

67. Jaimez J, Fente CA, Vazquez BI, Franco CM, Cepeda A, Mahuzier G, Prognon P. “Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescent detection in food análisis” J. of Chrom. A: 2000: 882: 1-10.
68. Jayashree T, Subramanyam C. “Oxidative stress as a prerequisite for aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*”. Fr. Rad. Biol. & Med.:2000: 29: 10: 981 – 985.
69. Jones TC, DR, King NW. “Veterinary Pathology” 6th Edition Estados Unidos. Editorial Lippincott, Williams & Wilkins, 1997: 539-541.
70. Jordan ET, Pattison M. “Enfermedades de las aves” 3^a Edición.: E.U.A.: Manual Moderno, 1998: 255-255.
71. Jordan ET, Pattison M. 2002. “Poultry Diseases”. 5th Edition, E.U.A.: W.B. Saunders, 2002: 394-395.
72. Juárez M, Cervantes R, Tlacomulco L, Pertrone VM. Primera Reunión Anual de la Asociación de Especialistas en Ciencias Avícolas del Centro de México. Querétaro. 2008
73. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. “Patología de los Animales Domésticos”. 3^a Edición, México.: Editorial Hemisferio Sur Mundi-Prensa AEDOS, 1991: 2: 339,340.

74. Kececi T, Ooguz H, Kurtoglu V, Demet O. "Effects of polyvinylpolypyrrolidone, synthetic zeolite, and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis". *Brit. Poult. Sci.*: 1998; 39: 452-458.
75. Konrad I, Rösenthaller R. Inhibition of phenylalanine tRNA synthetase from "Bacillus subtilis" by ochratoxin A. *Febs letters*, 1977; 83: 341-347.
76. Krogh P, Elling F. "Fungal toxins and endemic (Balkan) nephropathy". *The Lancet*, 1976 July :40.
77. Kubena LF, Huff WE, Harvey RB, Yersin AG., Elissalde MH, Witzel DA, Giroir LE, Phillips TD, Peterson, H.D.. "Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate on growing turkey poult during aflatoxicosis". *J. Poult. Sci.*: 1991: 70: 1823–1830.
78. Kubena LF, Harvey RB, Huff WE, Elissalde MH, Yersin AG, Phillips TD, Rottinghaus GE. "Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol". *J. Poult. Sci.*: 1993:72: 51–59.
79. Kubena LF, Harvey RB, Bailey RH, Buckley SA, Rottinghaus GE. "Effects of hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens". *Poult. Sci.*: 1998: 77: 1502–1509.
80. Kuiper-GT, Scott PM." Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A". *Biomed. & Enviro. Sci.*: 1989: 2: 179-248.

81. Kuiper-GT .“Risk assessment of ochratoxin A residues in food”. En: Castegnaro M, Plestina R, Dirheimer G, Chernozemsky IN, Bartsch H. Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Lyon.IARC Sci. Public.:1991: 115-307.
82. Kumagai S.” Ochratoxin A: plasma concentration and excretion into bile and urine in albumin deficient rats”. Food & Chem. Toxicol. :1985: 23: 941-943.
83. Kuramochi G, Gekle M, Silbernagl S. “Ochratoxin A disturbs pH homeostasis in the kidney: increases in pH and HCO₃⁻ in the tubules and vasa recta”.:1997: 434: 392-397.
84. Kuramochi G, Gekle M, Silbernagl S. Derangement of pH homeostasis in the renal papilla: ochratoxin A increases pH in vasa recta blood. Nephron . Pflug. Archiv. Euro. J. of Phys.: 1997: 76: 472-476.
85. Lastra MJ. “La producción de carnes en México y sus perspectivas 1990-2000” Dirección general de ganadería del centro de estadística agropecuaria: <http://sagar.gob.mx>.
86. Lea T, Steien K, Stormer FC. “Mechanism of ochratoxin A-induced immunosuppression”. Mycopathologia: 1989: 107: 153-159.
87. Lillehoj EB. “Aflatoxins: an ecologically elicited genetic activation signal”. J. Poult. Sci.: 1991: 1-35.
88. Lindner E. “Ocratoxina A, toxina del *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium Viridicatum*”.En:Toxicología de los alimentos. Acribia España.:1995:S.A, Zaragoza: 126.

89. Luster MI, Germolec DR, Burlison GR, Jameson CW, Ackermann MF, Kenneth RL, Hayes HT “ Selective immunosuppression in mice of natural killer cell activity by ochratoxin A”. *Cancer Research* :1987: 47: 2259-2263.
90. Manning L. Chad S A and Baines RN. Water Consumption in broiler chicken: a welfare indicator. *Worlds Poult. Sci J.*: 63:63-71
91. Maurice DV, Bodine AB, Rehner NJ. “Metabolic Effects of low Aflatoxin B1 levels on Broiler”. *Clemson University E. U. A. Poultry Science*: 1982:980-984.
92. Marquardt RR, Frohlich AA. “ A review of recent advances in understanding ochratoxicosis” . *J. of Anim. Sci.* :1992: 70: 3968-3988.
93. Medel HG. Alteraciones Morfológicas y Bioquímicas en el Pollo de Engorda por Ingestión de Aflatoxinas (tesis de licenciatura). FES Cuautitlán (Estado de México) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2008.
94. Mc Carter S. “Inmunidad en el manejo de coccidiosis”. *Avicultura Profesional*: 1999: 17(7): 26- 27.
95. Mohiuddin SM, Vikram RM, Madhava RM, Ramakrishna K. “Studies of phagocytic activity and haematological changes in aflatoxicosis in poultry”. *Indian. Vet. J.*: 1986: 63: 442 – 445.
96. Moreno ME. “El maíz y las aflatoxinas en: La industria de la masa y la tortilla: desarrollo y tecnología”. Torres, F., Chong, I., y Quintanilla J. *PUAL-UNAM*, 1996:139-145.

97. Obrecht-PS, Grosse Y, Pfohl-L, Dirheimer G. Protection by indomethacin and aspirin against genotoxicity of ochratoxin A, particularly in the urinary bladder and kidney. *Arch. of Toxicol.*: 1996; 70: 244-248.
98. Ogguz H, Kececi T, Birdane TO, Onder F, Kurtoglu V. "Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characterers of broiler chicken during experimental aflatoxicosis". *Res. in Vet. Sci.*: 2000; 69: 89-93.
99. Ogguz H, Kurtoglu K., Kurtoglu, V. and Birdane YO. "Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure". *Res. in Vet. Sci.*: 2002; 73: 101-103.
100. Omar RF, Gelboin HV, Rahimtula AD "Effect of cytochrome P450 induction on the metabolism and toxicity of ochratoxin A". *Biochem. Pharma.*: 1996; 51: 207-216.
101. Peña B. "Algunas consideraciones sobre la contaminación por micotoxinas en alimentos agropecuarios en México y en el mundo". Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Producción Agrícola y Animal. Laboratorio de Toxicología, 1997.
102. Pfohl- A, Grosse Y, Kane A, Gharbi A, Baudrimont I, Obrecht S, Creppy EE, Dirheimer G. "Is the oxidative pathway implicated in the genotoxicity of ochratoxin A?". En: Creppy EE, Castegnaro M, Dirheimer G. *Human ochratoxicosis and its pathologies. Colloque INSERM, John Libbey Eurotext Ltd.*: 1993; 231: 177-187.
103. Pier AC. "Mycotoxins and animal health". *Ad. Veterinary Science. Comp. Med.*: 1981; 25: 186-240.

- 104.Pitt JI. The current role of “Aspergillus” and “Penicillium” in human and animal health J. of Med. and Vet. Mycol.:1994: 32:(1): 17-32.
- 105.Quezada T. Cuéllar H. Jarmillo JF, Valdivia AG, Reyes JL. “Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development”. Comparative Biochemistry and Physiology part C: 2000:125:. 265 – 272,
- 106.Quiroz M .A “Uso de vacunas comerciales para controlar coccidiosis aviar en pollos de engorda”. Acontecer avícola Rev.: 2005: 8:71
- 107.Quiroz M, Dibner J, Knight C. “Novus International, Inc”., 20Research Park Dr. Acontecer Avícola.2005: 8: 77 .
- 108.Raju MV, Devegowda G. “Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry, and hematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (AF, ochratoxin and T-2 toxin)”. Brit. Poult. Sci.:2000: 41: 640-650.
- 109.Rao VN, Joshi HC. Effect of certain drugs on acute induced aflatoxicosis in chicken/4mg aflatoxinab1/kg bwt)” Indian Vet. J.:1993 :70:344-347.
- 110.Refsnes M, Hetland RB, Stormer FC. “Ochratoxin A-induced apoptosis and cytokine response in human lung epithelial cells (A549)”. Toxicol. Lett. :1999 :109(1): 73.
- 111.Richardson KE, Hamilton PB. “Enhanced production of pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis in egg-type chickens”. Poult. Sci.: 1987:66: 640 – 644.

112. Roebuck BD, Maxuitenko, YY. "Biochemical mechanisms and biological implication of the toxicity of aflatoxins and related to aflatoxin carcinogenesis. Chap 2, in: The toxicology of aflatoxins". E.U.A.: D. L. Eaton and J. D. Groopman Academic Press, San Diego, 1994: 27 – 43.
113. Rosa CA, Miazzo R, Magnoli C, Salvano M, Chiac SM, Ferrero S, Saenz M, Carvalho EC, Dalcero A. . "Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of AF in broilers". *Poult. Sci.*: 2001: 80: 139–144.
114. Rose M. "Immunity to *Eimeria* Infections". *Vet. Immunol. Immunopathol.*: 1987: 17: 333-343.
115. Roy SK, Kulkarni, AP. "Aflatoxin B1 Epoxidation catalysed by partially purified human liver lipooxygenase". *Xenobiotica*: 27: (2) : 231 – 241.
116. Sage L, Garon D, Seigle-MF. "Fungal microflora and ochratoxin A risk in French vineyards". *J. Agric. Food Chem.*: 2004: 52 : 5764-5768.
117. Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, Mc Dougald, LR, Swayne DE, Calnek's Diseases of Poultry 11th Edition E.U.A. : Iowa State Press, 2003: 1109-1113.
118. Santuario JM, Mallmann CA, Rosa AP, Appel G, Heer A, Dageforde S, Bottcher M ". Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxin". *Brit. Poult. Sci.*: 1999: 40, 115–119
119. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural. Centro de Estadística Agropecuaria. "Situación actual y perspectivas de la producción de carne de pollo para el 2002". México (DF): SAGARPA, 2002.

120. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural. Centro de Estadística Agropecuaria. "Situación actual y perspectiva de la producción de carne de pollo en México en 2003". México (DF): SAGARPA,2003.
- 121.Schertter PH, Janssen , Vermeulen. "A new vaccination concept against coccidiosis in Poultry". W.P special:1999:26,27.
- 122.Smith JW, Hamilton PB. "Aflatoxicosis in the broiler Chicken". Poultry Science :1999:40: 115-119.
- 123.Stoycho . "Studies on some feed additives living partial protection against ocratoxin A toxicity in chicks". Toxicol. Lett.: 2002: 135:33-50.
- 124.Stubblefield RD., Lyon RL, Richard JL, Peden WM, Thurston, JR, Rimler RB. "Distribution and clearance of aflatoxins B1 and M1 in turkeys fed diets containg 50 or 150 ppb aflatoxin from naturally contaminated diet". Avi. Dis. :1986: 30: 788-793.
- 125.Sumano H, Gutierrez L."Farmacología Clínica de las Aves". México.: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia . UNAM,2005:374.
- 126.Sumano H. Gutierrez L. "Farmacología Clínica de las Aves". México.: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia . UNAM, 2005:375-376.
- 127.Swanson BG. Mycotoxins on fruits and vegetables. Acta Horticulturae: 1987:207: 49-61.

128. Tamasaukas R, Flores B, Rodríguez H, Purroy R, Roa N, Ruiz H. “Evaluación de la eficacia de una vacuna trivalente de cepas atenuadas de *Eimeria* spp. para el control de la coccidiosis Aviar en sistemas de producción con pollos de engorde,”. Venezuela .:Revista Científica,2002 Octubre: 8 (2): 608-613,
129. Tamasaukas R, Ruiz H, Roa N. “Relación costo-beneficio de la profilaxis de la coccidiosis aviar”. Venezuela.: Revista Científica FCV-LUZ: 1998: 8:(3):217-221.
130. Tamasaukas R. Vacunación en coccidiosis: una revisión. . Venezuela Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias Universidad Rómulo Gallegos: 1996:30.
131. Thuvander A, Breitholtz-EA, Olsen M .” Effects of ochratoxin A on the mouse immune system after subchronic exposure”. Food and Chemical Toxicology: 1995: 33: 1005-1011.
132. Ubosi CO., Hamilton PB, Dunnington EA, Siegel PB “Aflatoxin affects in White Leghorn chickens selected for response to sheep erythrocyte antigen, 1, body weight, feed conversion and temperature responses”. Poultry Science: 1985:64:065-1070.
133. Ueno Y, Umemori K, Niimi E, Tanuma S, Nagata S, Sugamata M, Ihara T, Sekijima M, Kawai K, Ueno I, Tashiro F. “ Induction of apoptosis by T-2 toxin and

other natural toxins in HL-60 human promyelotic leukemia cells . Natural Toxins:1992: 3: 129-137.

134.Van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus*. Nature: 1965: 205: 1112-1113

135.Valadez C. “Alpharma Animal Health” . México.:Acontecer Avícola 2005:8:(77)36-39.

136.Velásquez E. “Estudio control y prevención de micotoxinas en alimentos concentrados para aves y cerdos”. CENIAP-FONAIAP. 2000.

137.Venezuela Avícola. Enfermedades producidas por protozoarios: coccidiosis, histomoniasis.: <http://www.pcca.com.ve/va/articulos/e30p29.htm>. 2002 Junio:30

138.Watts A, Kennedy R. “DNA vaccination strategies against infectious diseases.” Int J Parasitol.: 1999: 29: 1149-1163.

139.Williams RB. “Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens”. Av. Path: 2005: 34(3): 159-180.