



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN SANGRE  
DE CERDOS ADMINISTRADOS EXPERIMENTALMENTE CON  
AFLATOXINA B1 Y FUMONISINA B1

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

PATRICIA PÉREZ FLORES

ASESORA: Dr. CAROLINA MORENO RAMOS  
COASESORES: Dr. SUSANA E. MENDOZA ELVIRA  
Dr. ABEL CIPRIAN CARRASCO

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2010



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 mi gran amigo” ✡

Te doy gracias, porque sé que existes, porque en el mundo y en mi vida estas presente tú.  
Te doy gracias porque todo cuanto soy, cuanto puedo y cuanto recibo, es un regalo tuyo.

*A mis padres*

**Francisco y Esther** quienes nacieron de humildes raíces pero se forjaron como el mismo hierro.

A ustedes que lejos de creer que interrumpían mis sueños para iniciar una nueva jornada de trabajo, me enseñaron a soñar trabajando.  
De quienes aprendí a dar valor a las cosas (por insignificantes que parezcan), el esfuerzo para conseguir los sueños que pueda imaginar, a buscar soluciones, sabiendo que siempre hay una.

Porque me mostraron que lo más valioso que tengo es el corazón y mis manos. Por darme la responsabilidad de tomar mis propias decisiones, enseñándome que el miedo es un sentimiento natural, pero lo sobrenatural es vencerlo.  
Y así comprender, que podemos cometer errores pero nunca el mismo dos veces.

Hoy, no pido que se enorgullezcan de mí, sino de ustedes, porque yo culmino una carrera, de las 6 que ustedes han terminado: son Ing. Mecánicos, Contadores, Médicos cirujanos, Médicos veterinarios, Ing. En Alimentos y la más importante son **“PADRES”**.

Gracias por regalarme una infancia, llena de conocimientos, una adolescencia aventurera y una juventud llena de sueños.

Pero gracias, por no darme todo lo que hubiesen querido, porque, no sé si fuera la persona que soy. Estén seguros que la herencia legada, aunque la gasté en abundancia, nunca se terminará, sino todo lo contrario.

Por la paciencia, dedicación, los cuidados y el amor, que ni con todo mi corazón podré pagar.  
QUE DÍOS LOS BENDIGA, PORQUE A MI ME HA BENDECIDO YA..... CON USTEDES.

Con todo mi ser, que los ama y admira.

*A P.P.F.*

Por nunca mirar atrás, porque aprendiste que la felicidad siempre te mira de frente y no hace falta voltear. Agradezco el tiempo que has tomado para crear a la gran persona que eres, por cuidar cada detalle, pero sobre todo por escuchar a tu corazón. Gracias por levantarte cada mañana pensando en conquistar al mundo, pero al acostarte por las noches te das cuenta que es más divertido conquistarse a sí mismo. Por nunca dejar de sonreír, por lo divertida, intrépida, aventurera y por todo lo que me falte, pero sobre todo por estar siempre a mi lado y porque no imagino mi vida sin ti. Porque se, que nunca te darás por vencida, mientras haya algo que escalar, porque seguirás adelante por lo más valioso que tienes y que se encuentra dentro de ti.

Con todo mi Amor y Respeto

*A los muéganos*

Arturo, Marizol, Toña, Cristi, Alicia, Cesar.

Por ser parte de cada momento de mi vida, juegos, charlas, besos, abrazos, travesuras, sonrisas, tristezas, regaños, consejos, pero sobre todo porque juntos somos una muralla impenetrable que protege un gran tesoro “**nuestra familia**”. Gracias por ser ejemplos a seguir y por saber que siempre estarán en mi vida sin condición alguna.

*A las maquinitas que nos hacen funcionar!!!*

Alí, Alex, Alá, Viviane, Emiliano, Karla, Eduardo y los que vengan.

Quienes con sus ocurrencias y travesuras, me mimetizan y no me permiten olvidar que debo darme un respiro para disfrutar de los pequeños detalles que la vida me regala.

*A todos mis amigos*

Mis agradecimientos por nunca desviar mis pasos y por hacer más clara mi meta.

*A Mireya*

Por la admirable paciencia, cariño y dedicación que usaste para construir la amistad que nos une, porque te preocupas por hacerme saber todo el cariño que me tienes y por acortar a 88 cms. los 3546.8 km que nos separan.

*Al honorable escuadrón*

A la amiga que desde el primer momento de mi vida en la universidad, hasta hoy hace agradable cada hora que pasamos juntas.

A quien con gotitas de lluvia grabó en mi mente que es de sabios equivocarse, y lo más valioso es dar media vuelta y comenzar desde cero.

A quien soportó hasta las caídas de caballo.

A la que con su sarcasmo y sin darse cuenta reacomodó mis ideas, la única persona que me enfrento a mis monstruos, quien le dio otro significado a las palabras feliz y cuidar y quien me arropo cuantas veces fue necesario.

A quien con su dulzura e instinto materno provee de ternura nuestra amistad.

A esa chica modosa que apareció de la nada, y que corrió el riesgo de conocerme.

Aunque no hay nombres cada una sabe qué línea les pertenece. Todas y cada una son importantes en mi vida “GRACIAS”, por permitirme expresarlas a cada momento que comparto con ustedes, porque me gusta quien soy cuando están a mi lado y porque no imagino mi vida sin ustedes, nunca se marchen de mi lado.

*A Deyanira, Janeth, Rubi y Karina*

Por haber sido parte del tesoro más hermoso e importante en mí vida, “mi carrera universitaria” siempre estarán en mi corazón.

*A mis profesores*

Aquellos que desde mi infancia se preocuparon por mi aprendizaje, y me obsequiaron sabiduría, para alcanzar mis metas.

*A los MVZ: Ignacio Benítez y Mario A. Velazco*

Por darme la oportunidad de adentrarme en el maravilloso mundo de los cerdos.

*A MVZ Héctor Iván Flores Iturbe*

Porque lejos de ser un jefe, es un líder, que me enseñó, que el mejor amigo de un veterinario es otro veterinario, por ser un ejemplo de profesionalidad, por regalarnos conocimientos que hasta hoy ningún libro ha escrito, pero sobre todo por ser el amigo, de los sabios consejos, quien se preocupa de nuestro crecimiento como médicos y como personas.

*A mi asesora de tesis*

Dra. Carolina

Por permitirme ser parte del trabajo de investigación más interesante de mi vida.

*A los Dr. Juan Carlos del Río García y Abraham Méndez*

Por los innumerables consejos y buenos deseos.

*A LA*

*UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO*

Por haber cambiado mi vida, desde el primer momento de saberme universitaria.



Porque mi sangre siempre será azul y mi piel.....dorada.

GRACIAS.....

## ÍNDICE

INDICE DE CUADROS	a
INDICE DE FIGURAS	b
RESUMEN	c
1. Introducción.....	1
1.1 Producción pecuaria en México.....	1
1.2 Alimentación en la producción porcina.....	2
1.3 Contaminación de la Materia prima por hongos.....	3
1.4 Micotoxinas.....	5
1.4.1 Genero <i>Aspergillus</i> .....	7
1.4.1.1 Clasificación Taxonómica.....	8
1.4.1.2 Características morfológicas generales.....	8
1.4.1.3 Toxicocinética.....	11
1.4.2 Aflatoxicosis en cerdos.....	13
1.4.2.1 Patogenia.....	15
1.4.2.2 Efecto inmunosupresor de las AFB1 y Fallas vacunales.....	15
1.4.2.3 Efecto de la Aflatoxina B1.....	16
1.4.3 Genero <i>Fusarium</i> .....	16
1.4.3.1 Clasificación taxonómica.....	17
1.4.3.2 Características morfológicas generales.....	17
1.4.3.3 Toxicocinética.....	19
1.4.4 Fumonisinias en cerdos.....	21
1.4.4.1 Patogenia.....	21
1.4.4.2 Efecto inmunosupresor.....	21
1.4.4.3 Efecto de Fumonisinina B1.....	22
1.4.5 Patología Clínica.....	22
1.4.5.1 Hígado.....	22
1.4.5.2 AST.....	23
1.4.5.3 GGT.....	23
1.4.5.4 Proteínas séricas.....	23
1.4.5.5 Albúmina.....	24

	1.4.5.6 Bilirrubina.....	24
2	Legislación de Micotoxinas.....	25
3	Justificación.....	26
4	Hipótesis.....	27
	4.1 Objetivos generales.....	27
	4.2 Objetivos particulares.....	27
5	Materiales.....	28
6	Metodología.....	28
	6.1 Diseño experimental.....	28
	6.2 Análisis Estadístic.....	30
	Resultados .....	31
	7.1 Peso.....	31
	7.2 AST.....	31
	7.3 GGT.....	32
	7.4 Proteínas.....	32
	7.5 Albumina.....	32
	7.6 Bilirrubinas.....	33
8	Discusión.....	34
	8.1 Peso.....	34
	8.2 AST.....	35
	8.3 GGT.....	36
	8.4 Proteínas.....	36
	8.5 Albumina.....	37
	8.6 Bilirrubinas.....	37
9	Conclusiones.....	39
10	Recomendaciones.....	40
11	Referencias.....	41
12	Anexo.....	48



## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Peso inicial y ganancia diaria de cerdos administrados Con micotoxinas FB1 y AFB1 de la presente investigación.	48
2. Comparativo de peso inicial y ganancia diaria de cerdos alimentados con dietas que contienen FB1.	48
3. Comparativo de pesos corporales de experimentos con cerdos alimentados con dietas contaminadas con 200 ppm de Fumonisina B1/Kg de alimento.	48
4. Valores estadísticos, referentes a peso corporal.	49
5. Valores estadísticos de AST	50
6. Valores estadísticos de GGT	50
7. Valores estadísticos de las proteínas.	51
8. Valores estadísticos de albumina.	52
9. Valores estadísticos de bilirrubina total.	52
10. Valores estadísticos de bilirrubina directa.	53

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructura esquemática y microscópica de <i>Aspergillus flavus</i>	9
2 Estructura Química de AFB <sub>1</sub> , AFB <sub>2</sub> , AFG <sub>1</sub> y AFG <sub>2</sub>	10
3. Toxicocinética de AFB <sub>1</sub>	13
4. Estructura esquemática y microscópica de <i>Fusarium verticilloides</i>	18
5. Estructura química de la FB1 y Esfingomielina.	19
6. Cerdos empleados en el experimento (a), Capacidad de cada grupo experimental (b).	28
7. Cinética de pesos corporales de los cerdos utilizados.	49
8. Cinética de AST en los tres muestreos.	49
9. Cinética de GGT en los tres muestreos.	50
10. Cinética de las proteínas en los tres muestreos.	51
11. Cinética de la albumina en los tres muestreos.	51
12. Cinética de la bilirrubina total en los tres muestreos.	52
13. Cinética de la bilirrubina directa en los tres muestreos.	53
14. Cinética de la bilirrubina libre en los tres muestreos.	53

## **Resumen.**

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos, de los cuales la Aflatoxina B1 (AFB1) y Fumonisina B1 (FB1) son importantes debido a sus efectos tóxicos y carcinogénicos. La aflatoxina afecta negativamente el crecimiento, la conversión alimenticia y el consumo de alimento en cerdos, los órganos más afectados son: el hígado, seguido por el riñón, por otra parte la Fumonisina causa edema pulmonar.

El presente trabajo se enfocó al estudio de la toxicidad de las Aflatoxinas y Fumosisinas en cerdos híbridos de engorda de ambos sexos con dosis de AFB1 8 ppb /cerdo y FB1 12 ppm (kg/cerdo) que fueron divididos en cuatro grupos Grupo A: Control, Grupo B: Fumonisina B1, Grupo C: Aflatoxina B1 y finalmente Grupo D: Aflatoxina B1+ Fumonisina B1, con cuatro cerdos cada uno. Inoculados diariamente con una sonda. Las variables estudiadas fueron el peso corporal de los animales, la concentración en suero de proteínas totales, albúmina, la concentración enzimática de AST (TGO),  $\gamma$ - Glutamil transferasa, Albuminas, Proteínas, Bilirrubinas directa, indirecta y total.

Los resultados obtenidos con respecto a la evaluación del peso, muestran que las micotoxinas no impactan de manera significativa de forma individual, dado que la mayor pérdida de peso se vio reflejada en los cerdos que consumieron las micotoxinas en conjunto.

Los resultados de la evaluación de AST y GGT en suero, mostraron, un incremento de actividad en los grupos B, C y D. datos que nos muestran la sensibilidad y eficacia para detectar daño hepático, la determinación de proteínas y albumina demuestra que un descenso en sus valores son causa de edema pulmonar relacionado a las Fumosisinas. Las bilirubinas presentaron incremento en los grupos B, C y D, siendo más marcada en el grupo B.

Soportando una vez más los indicios de daño hepático. Cabe mencionar que el tiempo de experimentación fue insuficiente para obtener una mayor cantidad de datos.

## **1. Introducción.**

### **1.1 Producción pecuaria en México.**

Las actividades pecuarias mantienen una gran importancia en el contexto socioeconómico del país, al igual que el resto del sector primario, han servido de base al desarrollo de la industria nacional, ya que proporcionan alimentos y materias primas, divisas, empleo, distribuyen ingresos en el sector rural y utilizan recursos naturales que no tienen cualidades adecuadas para la agricultura u otra actividad productiva. La ganadería, y en específico la producción de carne, es la actividad productiva más diseminada en el medio rural, pues se realiza sin excepción en todas las regiones ecológicas del país y aún en condiciones adversas de clima que no permiten la práctica de otras actividades productivas. La producción de carne da una gama muy extensa de sistemas de producción dentro de los que destacan, las granjas de producción altamente tecnificadas hasta las pequeñas producciones de auto abastecimiento (traspatio). (SAGARPA, 2006)

En México, la Industria pecuaria genera cerca de 5.2 millones de toneladas de carne en canal, de las cuales la producción de aves (pollos y gallinas de desecho) representa el 47%, le sigue en importancia la carne de bovino (bovinos de carne, desechos de doble propósito y leche) con el 30%; en tercer lugar se ubica la producción de carne de porcino con el 21%. Estas tres actividades concentran el 98% de la producción de carne en canal del país. (Datos promedio 2004-2006) (FIRA 2008).

El resto de las actividades destinadas a la producción de carne, como son la producción ovina, caprina, la de conejos y la de pavos, entre otros, mantienen una posición restringida e influenciada por los hábitos de consumo de la población, así también por regiones establecidas de consumo en el territorio nacional y aunado a los precios fluctuantes de éstas. Durante 2005, la economía nacional continuó con un desempeño moderado, que permitió el avance de diferentes sectores productivos, dentro de los cuales se ubico el sector ganadero. El lento proceso de reconocimiento de zonas libres de enfermedades como la Encefalopatía Espongiforme Bovina la continua presencia de brotes de Influenza Aviar de alta patogenicidad y los casos de esta enfermedad en humanos, entre otros, suscitaron cambios en los flujos internacionales de la carne y los que influyeron de forma definitiva sobre el panorama productivo de la ganadería porcícola mexicana. La cual ha sustentado en los últimos años su crecimiento, con una posición sólida en el mercado y niveles de integración

que han permitido elevar su competitividad. La producción de carne de porcino en canal en México alcanzó en 2005 un volumen de 1, 102,940 toneladas, que resultó 3.6 % superior a la del 2004, con un consumo per cápita de 15.3 kilogramos/habitante/año continuando con ello el proceso de expansión y consolidación. La consolidación de las empresas mexicanas como proveedoras de los mercados japonés y coreano permitió que las exportaciones se incrementaran en 35.2%, para situarse en 38,300 toneladas. El pronóstico de la balanza de carne y productos porcícolas en 2006 es de 1, 679,800 toneladas, 3.1 % superior a la del 2005 y una disponibilidad per cápita de 15.6 Kg al año, 2.1 % mayor al del año previo, recuperándose el nivel alcanzado en 2004. En términos generales, se estima que en los siguientes años se enfrentará un escenario propicio para que la producción porcícola continúe su desarrollo. (SAGARPA, 2006).

## **1.2 Alimentación en la producción porcina.**

La diversidad de la ganadería en México es amplia; hay desde sistemas que aprovechan vegetación de tierras marginales, subproductos disponibles o cultivos de autoconsumo, hasta los sistemas intensivos en confinamiento. La alimentación animal está basada en gran medida en los granos. Hay variación entre distintos sistemas de producción: los sistemas con rumiantes usan más forrajes y son más flexibles (pueden variar ampliamente en la proporción de granos y forrajes empleados en las raciones), mientras que los sistemas avícolas y porcícolas intensivos son semejantes mundialmente.

La demanda de granos para la alimentación animal tiene una alta correlación con la producción animal y por tanto, con la demanda de carnes, huevo, lácteos y demás productos animales (FIRA, 2008).

La porcicultura demandó aproximadamente 4.3 millones de toneladas de granos forrajeros, siendo éstos la principal materia prima de los alimentos balanceados del ganado. Este volumen representó un incremento de 3.6% con relación a la demanda estimada para el 2004. La participación de la porcicultura dentro del consumo total de granos por parte de la ganadería se mantiene sin cambios significativos, representando el 22.3% de éste. (SAGARPA, 2006)

### 1.3 Contaminación de la Materia prima por hongos.

La alimentación es un factor de suma importancia para la producción animal, (80% de los gastos) ya que por medio de un buen manejo, podemos obtener una mejor eficiencia y calidad en la producción. Sin embargo, existen una serie de factores que modifican la calidad tanto nutritiva como organoléptica de los alimentos traduciéndose en deficiencias y pérdidas en la producción animal, de estos factores podemos mencionar:

- Contaminación por insectos y pájaros.
- Contaminación por microorganismos patógenos.
- Contaminación por sustancias químicas.
- Contaminación por metabolitos producidos por hongos.

En los últimos años, la contaminación de alimentos agrícolas y pecuarios con metabolitos secundarios (micotoxinas) producidos por hongos ha suscitado gran interés a nivel mundial, debido a sus efectos perjudiciales sobre la salud y la economía. Su producción es inevitable y depende de diferentes factores ambientales en el campo y/o durante el almacenamiento. El descubrimiento de nuevas micotoxinas y la contaminación conjunta de ellas ya conocidas se están desarrollando a un ritmo elevado lamentablemente la información sobre toxicidad, estabilidad y grado de incidencia de muchas de las micotoxinas que se han identificado es escasa. (Moreno, 1996; FAO/OMS/PMA, 1999).

Los hongos son organismos autótrofos, incapaces de sintetizar materia orgánica lo que los obliga a vivir como parásitos o saprobios, aprovechando desarrollarse sobre un sustrato que contenga los diversos nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo.

Se han establecido tres tipos hongos contaminantes de granos: hongos de campo, hongos de almacén y hongos de deterioro avanzado (Christensen *et al.*, 1982; Gimeno, 1991; Moreno *et al.*, 1991)

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

almacenamiento y el procesado de los granos. *Aspergillus* y *Penicillium* principalmente.

- c) Hongos de deterioro: los cuales necesitan altos contenidos de humedad para su desarrollo y en la naturaleza se les encuentra colonizando materia orgánica en proceso de descomposición. *Absidia*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus niger* y *Rhizopus* entre otros (Burke, 1985).

De los hongos anteriormente mencionados algunos de ellos poseen la capacidad de sintetizar micotoxinas, sustancias químicas altamente peligrosas para la salud animal, causando mortalidad o bien baja eficiencia productiva, la cual se traduce en grandes pérdidas económicas. En adición directa o indirecta (a través de productos animales) el alimento contaminado tiene también un riesgo para la salud humana (Christensen *et al.*, 1982; Gimeno, 1991; Moreno *et al.*, 1991; Árpád and Radomir, 1999).

De la gran variedad de hongos existentes en los diversos ecosistemas, los principales géneros que producen micotoxinas son *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Christensen C.M, and Kaufmann H, 1996), siendo las especies más reconocidas *Aspergillus flavus* Link; *Aspergillus parasiticus* Speare, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium niger*, que sintetizan toxinas altamente hepatotóxicas, nefrotóxicas, inmunodepresoras y cancerígenas para los animales domésticos, aves y seres humanos. (D'Mello, 1999)(D'Mello and Macdonald, 1997).

La FAO estima que al menos el 25% de los cereales en el mundo están contaminados por hongos y sus micotoxinas (Deborha, 2000).

#### 1.4 Micotoxinas.

Las micotoxinas, como ya se señaló, son metabolitos secundarios (no los necesita la célula) producidos por ciertos hongos (Christensen *et al.*, 1982; Gimeno, 1991; Moreno *et al.*, 1991; Coulombe, 1993; D'Mello *et al.*, 1999).

Seguramente las micotoxinas siempre han estado con nosotros, pero hasta hace unas cuantas décadas se les reconoció como un problema de salud pública y animal. Evidencias actuales que se tienen sobre la importancia de los diferentes hongos toxígenos que invaden a granos indican que los géneros más importantes son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Christensen, Kaufmann, 1996; Brook y White, 1966).

La mayoría de las micotoxinas son compuestos policetónicos resultantes de las reacciones de condensación que tienen lugar cuando se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos realizada por los hongos, estos ácidos grasos (utilizados como reservorio de energía) junto con aminoácidos, sacáridos, ácidos nucleicos y proteínas son metabolitos primarios (útiles para el crecimiento ó reproducción de hongos). (Jelinek *et al.*, 1989 ; Gimeno, 1991; Coulombe, 1993; D'Mello *et al.*, 1999; )

Existe una serie de factores que son determinantes para el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas, desglosaremos brevemente alguno de ellos:

- A) Agua disponible (aw): es la relación existente entre el agua libre en los alimentos y la capacidad de los microorganismos para proliferar. La aw nos indica cual es la cantidad de agua disponible para el desarrollo de los microorganismos una vez se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema alimento/medio ambiente. Los valores de aw que los diversos grupos de hongos necesitan varían de acuerdo con el sustrato y la temperatura. (Gimeno, 2002).
- B) Humedad relativa (HR): es la cantidad de humedad del ambiente que disponen los microorganismos, una vez alcanzado el equilibrio entre la humedad del producto y el vapor de agua del ambiente. Este se expresa en porciento. Con respecto al porcentaje de humedad relativa, valores inferiores al 65% representan un escaso crecimiento fúngico, el crecimiento y la proliferación se



acelera con porcentajes de humedad >75 % (Moreno, 1991; Christensen and Sauer, 1982; Gimeno, 2002).

- C) Temperatura: la temperatura óptima se encuentra entre 25° y 30° C, sin embargo algunos autores indican una temperatura de 36° a 38° C y el límite máximo entre 40° y 45° C, sin embargo *Aspergillus flavus*; *A. candidus*; y *A. fumigatus* pueden crecer sin problemas hasta 55° C. Hay que destacar que la mayoría de los hongos no crecen por debajo de 5° C. (Christensen and Sauer, 1982; Moreno, 1991; Gimeno, 1991; Gimeno, 2002).
- D) Integridad del grano: Los tegumentos intactos del grano dificultan el acceso del hongo al almidón endospermico. Los granos partidos son más susceptibles a la invasión y desarrollo fúngico que los granos enteros (Moreno, 1991; Gimeno, 2002).
- E) pH: Los hongos toleran un intervalo de pH (2.5 - 7.5), de modo general soportan mejor el medio ácido que el alcalino. Es de destacar que ellos mismos son capaces de alterar el ph, utilizando como fuente de energía los ácidos orgánicos del alimento o los excretados por bacterias acidificantes que pueden aparecer durante el período de deterioro del alimento. (Gimeno, 2002).
- F) Sustrato: en general los hongos se nutren de micro y macro elementos existentes en cualquier material orgánico; sin embargo la producción de micotoxinas está ligada a la composición del sustrato (Scudamore *et al.*, 1998; Moreno, 1991; Christensen and Sauer, 1982; Gimeno, 2002).
- G) Oxígeno: la mayor parte de los hongos son aerobios, una carencia de oxígeno condiciona su crecimiento. El anhídrido carbónico puede inhibir la formación de algunas micotoxinas (como la aflatoxina) (Gimeno, 1991).
- H) Minerales: está relacionado con la composición del sustrato a pesar de que el hierro y el zinc son los elementos más importantes para un desarrollo fúngico, otros pueden ser necesarios para la producción de micotoxinas. (Gimeno, 2002).
- I) Presencia de insectos: la presencia de insectos actúa como agente de diseminación de la micoflora y contribuye al crecimiento y multiplicación de los hongos. (Moreno, 1991; Gimeno, 2002).
- J) Estirpes específicas: En una misma especie fúngica, no todas las estirpes se comportan de la misma forma.

La sola presencia de hongos en un determinado producto, aún de una cepa productora de micotoxina no significa que la micotoxina esté presente o que se vaya a producir, para que suceda eso se requiere que concurren las condiciones ambientales de temperatura, humedad, sustrato y tiempo de incubación; sin embargo puede ocurrir el hecho de detectar la micotoxina sin la presencia del o los hongos productores, ya que éstos y sus esporas pueden haber desaparecido, no ocurriendo lo mismo con las micotoxinas, que permanecen en el sustrato (Christensen and Sauer, 1982; Jelinek et al., 1989; Moreno, 1991; Juszkievicz et al., 1992).

#### 1.4.1 Genero *Aspergillus*

Las micotoxinas más estudiadas son las producidas por *Aspergillus flavus* (Fig. 1) y *Aspergillus parasiticus* conocidas como Aflatoxinas, que son potentes compuestos mutagénicos y carcinogénicos presentes en el alimento. La población humana, particularmente aquella cuya dieta básica incluye granos, está en riesgo de exposición. Por consiguiente es necesario monitorear y controlar la contaminación por aflatoxinas en alimentos de consumo humano, así como en aquellos destinados a la alimentación del ganado (Guzmán, Peña, 2005).

El género *Aspergillus* fue descrito por primera vez en 1729 por P.A. Micheli quien comprobó que la cabeza conidial de este hongo se parecía a un “aspergillum” (instrumento utilizado para dispersar agua bendita).

El nombre Aflatoxina es un acrónimo, formado por la siguiente combinación: la primera letra, “A” del genero *Aspergillus*, las siguientes tres letras “FLA” de la especie *flavus* y el nombre “TOXINA” por el daño que causa (Ellis et al., 1991).

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 1960 cuando en Inglaterra se detectó un brote de una enfermedad explosiva que arrasó con 100.000 pavitos, de los cuales sólo en 500 se diagnosticó enfermedad con el hallazgo de lesiones hepáticas. La etiología era desconocida en ese momento, por lo que a la enfermedad se le llamó “Enfermedad X de los pavos” (Turkey X disease). Primero se detectaron casos en pavos, pero después se encontraron casos esporádicos en patos y faisanes. Después de analizar el alimento consumido por las aves (cacahuete

brasileño), descubrieron metabolitos fluorescentes que nombraron aflatoxinas, debido a su productor, el *Aspergillus flavus*. (Jones *et al.*, 1997)

Al mismo tiempo, en Estados Unidos, se desató una epidemia de hepatomas en truchas arcoíris, que posteriormente se relacionó con la contaminación por aflatoxinas de una mezcla de semillas de algodón, uno de los componentes de la dieta de dichos peces, descubriéndose así la primera evidencia del efecto carcinógeno de las aflatoxinas. En 1973, se encontraron residuos de aflatoxinas en los huevos y en las canales de pollos, lo que hace constar que los granos no solo afectan a los animales que los consumen, sino que éstos acumulan las aflatoxinas en su organismo, afectando secundariamente al humano. En cuanto a salud pública, la epidemia más grande registrada se desarrolló en la India en 1974, en la cual 108 de los 307 pacientes que habían consumido maíz contaminado con aflatoxinas, murieron, en la llamada “Cirrosis de la niñez de la India” (Iheukwumere *et al.*, 2003).

En 1988, gracias al esfuerzo para remover las aflatoxinas en los alimentos ya contaminados, se inicia el uso de aluminosilicatos como secuestrantes de toxinas (Árpád and Radomir, 1999)

#### **1.4.1.1 Clasificación taxonómica de *Aspergillus*** (Moreno, M. E., 1996).

- Reino: *Fungi*
- Filo: *Ascomicota*
- Orden: *Eutoriales*
- Familia: *Trichocomaceae*
- Género: *Aspergillus*
- Especie: *flavus*

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

Los mohos del género *Aspergillus* causan el deterioro de muchos productos alimenticios. Los productos metabólicos de la invasión fúngica suelen ser muy tóxicos, tanto para el hombre como para otros animales. También producen la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, apelmazado y finalmente podredumbre de las semillas. (Moreno, 1996.)

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

El color del crecimiento micelial es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de *Aspergillus*. Poseen distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Las cabezas conidiales presentan, bajo el microscopio, cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme y a simple vista las más grandes suelen parecer diminutas alfileres sobre el sustrato. 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. (Moreno, 1996).

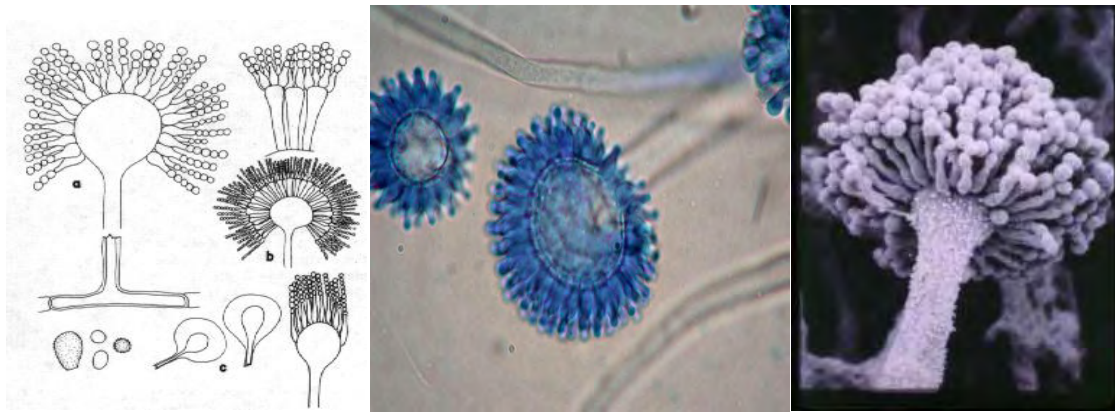


Fig. 1 Estructura esquemática y microscópica de *Aspergillus flavus*

Las principales aflatoxinas son cuatro: AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> y AFG<sub>2</sub>. Generalmente AFB<sub>1</sub> 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 (Moreno, 1996.). *Aspergillus flavus* produce además ácido aspergílico, ácido kójico, aspertoxina, esterigmatocistina, fisicona y flavotoxinas entre otros compuestos. (Esqueda, y Villegas, 1991.)

Químicamente las aflatoxinas son difuranocumarinas (Buchi, G. and Rae, I. D., 1969), 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. (Lillehoj, 1983) (Fig. 2).

Hasta el momento, se han aislado 18 diferentes tipos de aflatoxinas, de las cuales las más importantes son: AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> y AFG<sub>2</sub>

Las letras B y G se refieren a los colores azul (blue) y verde (green) de fluorescencia observados bajo luz ultravioleta de onda larga; esta propiedad de fluorescencia de las aflatoxinas ha llegado a ser la base para la cuantificación por métodos fisicoquímicos (Asao, et al 1963) y los números se refieren a los patrones de separación de estos compuestos al utilizar el método de cromatografía de capa fina. (Bullerman, 1987) (Fig. 2).

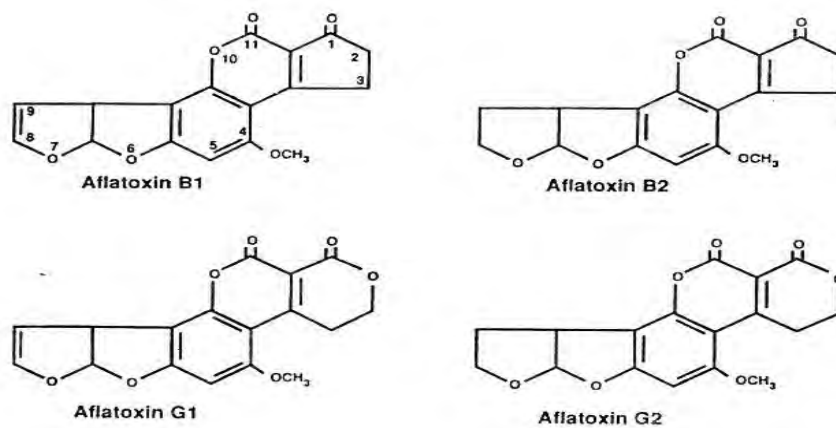


Fig. 2 Estructura Química de AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> y AFG<sub>2</sub>

Dentro del grupo de las aflatoxinas, la más importante es la aflatoxina B1 (C<sub>17</sub> H<sub>12</sub> O<sub>6</sub>), por ser la más tóxica y tener efectos carcinogénicos (Groopman, 1994) (Jordan and Pattison, 2002) (Mc. Donald, 2001) (Saif, 2003); es el carcinógeno más potente conocido en la naturaleza. (Hinton, 2003)

Desde el punto de vista bioquímico, las aflatoxinas son consideradas como inhibidores biosintéticos y en el caso de la AFB<sub>1</sub> 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 nucléolo y 5) Reducción de la síntesis de proteínas. (Clifford and Rees, 1966).

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. (Roebuck and Maxuitenko, 1994)

### 1.4.1.3 Toxicocinética de la Aflatoxina

Se divide en cinco pasos (Fig. 3), los cuales son:

- a) **Absorción:** el sitio principal de absorción es el tracto gastrointestinal, sin embargo, también pueden absorberse a través de los pulmones y la piel. Gracias a que las aflatoxinas son compuestos altamente liposolubles, son altamente absorbibles hacia el torrente sanguíneo.
- b) **Distribución:** las aflatoxinas tienden a infiltrarse en los tejidos blandos y depósitos grasos de los animales en general, 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 mas 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.
- c) **Biotransformación:** la transformación de las aflatoxinas dentro del organismo se divide en dos fases. (Groopman and Eaton, 1994)

1. Fase I: la aflatoxina B1 es biotransformada por las enzimas citocromo P-450 en muchos metabolitos hidrosolubles incluyendo aflatoxinas M1, Q1, P1 y Aflatoxicol.

Los hepatocitos son las células más afectadas por la acción tóxica de la Aflatoxina B1 (AFB1), lo que se relaciona con la gran cantidad que tienen estas células de citocromo P-450 dentro de ellas, comparándolas con las células de otros órganos. (Stubblefield, 1986).

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.

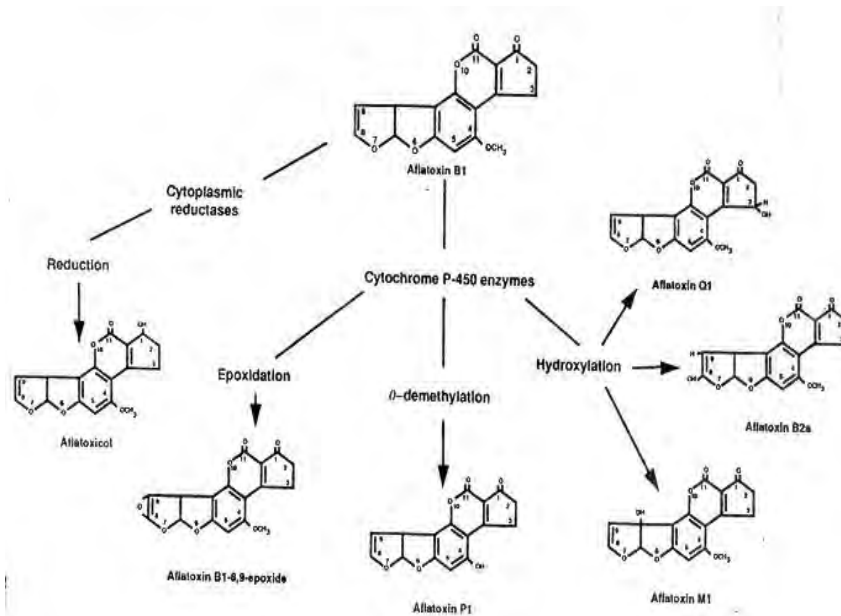
La **epoxidación** es una vía que se encarga de actuar sobre el doble enlace presente en el anillo bifurano de la aflatoxina. El producto resultante es la aflatoxina 8,9 epóxido, muy reactivo en el DNA, siendo el presunto responsable de la carcinogénesis y mutagenicidad de la aflatoxina B1.

La **reducción** se encarga de reducir el grupo carbonilo presente en las aflatoxinas B1 a un grupo hidroxilo con el fin de formar aflatoxicol y edihidroaflatoxicol. 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. (Groopman and Eaton, 1994.)

2. Fase II: Se han reportado muchas reacciones de conjugación de los metabolitos de las aflatoxinas, siendo las más importantes las de sulfatos y **ácido glucurónico**. (Groopman and Eaton, 1994)

d) **Eliminación:** Las aflatoxinas así como sus metabolitos se excretan principalmente por la bilis y en menor cantidad en el riñón. El 28% de las aflatoxinas se eliminan por las excretas en 24 horas, mientras el 71% fue recuperada de las excretas después de 7 días. Después de 1.5 minutos de la presencia de la aflatoxina en el plasma, ésta se hace presente en la bilis, siendo la concentración aproximada 7 veces mayor en la bilis que en el plasma, lo que indica que los metabolitos de la aflatoxina B1 se excretan en gran concentración por la bilis. La proporción de excreción vía bilis, orina y contenido intestinal es de 70:15:15 respectivamente. En animales en los que se suspende por completo la ingestión de aflatoxinas, la vida media de la aflatoxina dentro del organismo es de 1.4 d. (Groopman and Eaton, 1994)

e) **Residuos:** La Aflatoxina M1 se secreta en la leche y orina de las vacas que reciben una dieta que contiene AFB1. (Groopman and Eaton, 1994)



**Fig. 3** Toxicocinética de AFB<sub>1</sub>

#### 1.4.2 Aflatoxicosis en cerdos.

Denominamos aflatoxicosis a los distintos síndromes clínicos producidos por *Aspergillus*, hay dos presentaciones según el curso, y éste depende del tiempo de exposición y cantidad de aflatoxinas que han tenido los animales:

##### a) **Agudo:**

Resulta de la ingestión de altas concentraciones de aflatoxina en poco tiempo. Se manifiesta por vomito, dolor abdominal, edema pulmonar, infiltración grasa y necrosis del hígado. El estado nutricional es importante en la expresión de esta toxicidad; una dieta baja en lípidos hace más vulnerable el hígado a las aflatoxinas lo mismo que las dietas deficientes en proteínas; al contrario, el hígado con gran cantidad de ácidos grasos insaturados no es afectado por estas toxinas (Casas, 1989).

La inmunidad celular también está afectada por el consumo de aflatoxinas; es así como se reduce la fagocitosis por macrófagos, los efectos retardados de la hipersensibilidad, la linfoblastogenesis (respuesta a mitógenos) y las células del sistema fagocítico. En cuanto a la respuesta inmunológica, las células T son aparentemente más susceptibles a las aflatoxinas que las células B. además, están reducidas las inmunoglobulinas G y A, la actividad del complemento y la actividad bactericida del suero; el tiempo que dura la



inmunosupresión es muy variable y una vez que se retira la Aflatoxina B1, la respuesta inmunológica vuelve a ser normal. (Casas, 1989)

También hay reducción en la actividad del complemento (Saif, 2003) debido a la escasa producción del mismo por parte del hígado (Jones, 1997); se menciona también un decremento en la capacidad fagocitaria de los heterófilos y macrófagos. También se habla de un decremento en la producción de citocinas por las células del sistema inmune, que juegan un papel clave al inicio de la respuesta inflamatoria cuando los órganos han sido dañados. (Hinton, 2003).

**b) Crónico:**

Forma más usual de la enfermedad, resultado de la exposición a dosis bajas de aflatoxinas en un periodo de tiempo largo. Los efectos se dan de días a meses y sus signos incluyen baja de peso, baja de producción, incluyendo la baja en ganancia de peso, así como la producción de leche y huevos. Los hallazgos más importantes son: lesiones hepáticas debido a que los hepatocitos son las células más afectadas por la acción tóxica de la Aflatoxina B1 (AFB1), lo que se relaciona con la gran cantidad que tienen estas células de citocromo P-450 dentro de ellas, comparándolas con las células de otros órganos y debido a que el organelo específico afectado por los metabolitos es el núcleo del hepatocito, al ser expuesto un individuo con la toxina de manera crónica se le relaciona con el carcinoma hepatocelular; (Stubblefield, 1986) también existe proliferación de ductos biliares en lóbulos hepáticos periféricos, cambios en hepatocitos que incluyen degeneración grasa, inflamación y necrosis. A medida que el proceso avanza, el tejido conectivo 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 (Groopman and Eaton, 1994, Jones, *et al.*, 1997), incluso llegando en el último estadio a producir neoplasias normalmente en el hígado. (Saif, 2003)

#### **1.4.2.1 Patogenia.**

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

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

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 (Morilla, 1986).

#### **1.4.2.2 Efecto inmunosupresor de las AFB1 y fallas vacunales.**

Se han hecho experimentos para demostrar un posible efecto inmunosupresor de las aflatoxinas en los cerdos. Donde el único efecto sobre el sistema inmune fue el retraso en la diferenciación de los linfocitos CD4+ y CD8+ (Cabassi *et. al*, 2002).

Cysewzky *et. al*, (1978) administró Aflatoxina B1 a cerdos, los inmunizó con una bacterina contra erisipela y los desafiaron para determinar si había ocurrido falla vacunal. Los resultados fueron que la bacterina en cerdos normales los protegió en 83% en relación con los signos clínicos, pero cuando estaban intoxicados, la bacterina sólo protegió 17%.

(Izeta *et. al*, 1990) Administró Aflatoxina B1 a cerdos, los vacunaron contra FPC y los desafiaron. Un grupo mostró inapetencia, retraso en su crecimiento, pelo irsuto, depresión y somnolencia, además no ganaron peso. Los demás grupos no mostraron diferencias con los cerdos del grupo que no recibió Aflatoxina ó testigo susceptibles. Ninguno de los cerdos presentó efectos clínicos cuando se vacunaron, incluyendo los cerdos que estaban intoxicados. Por lo tanto las bacterinas, pueden causar fallas vacunales pero no interfiere con la vacunación contra la FPC (Morilla, 2007).

### **1.4.2.3 Efecto de la AFB1.**

Las aflatoxinas tienen un efecto devastador en la capacidad productiva de los cerdos. En animales afectados los signos clínicos más notables son una baja en la velocidad de crecimiento y el desarrollo de una tonalidad amarilla, por daño hepático (Osweiler, 1992).

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

Edad: Los animales jóvenes suelen ser más vulnerables que los adultos (Morilla, 2007) (Groopman and Eaton, 1994) (Jones, 1997) (Jubb, Kennedy and Palmer, 1991).

Sexo: Los machos suelen ser más vulnerables que las hembras (Groopman and Eaton, 1994) (Guzmán, 2001) (Jones, Ronald and King, Norval W, 1997), mientras que las hembras tienden a acumular por más tiempo las aflatoxinas que los machos debido a la liposolubilidad de las micotoxinas (Saif, *et al*, 2003).

Tiempo de exposición y dosificación: Cuadro agudo por consumo de altas dosis en un corto tiempo y cuadro crónico por un consumo de bajas dosis pero en un largo periodo.

Composición de la dieta: Dietas ricas en proteínas, inhiben la toxicidad de las aflatoxinas, ya que una carencia de las mismas, interfiere con la habilidad del hígado para sintetizar enzimas importantes para el metabolismo y detoxificación de las aflatoxinas (Sisk and Carlton, 1972).

### **1.4.3 Genero *Fusarium***

Muchas de las especies toxigénicas de *Fusarium* son descritas como las mayores patógenas para plantas y cereales, causando por ejemplo “podredumbre de la mazorca de maíz” (Whitaker T.B. *et al*, 1981). De las más importantes desde el punto de vista de salud animal y productividad están los tricotecenos, zearalenonas, moniliformina y fumonisina (Brown, Rottinghaus, Williams, 1992) (Chulze S.N. *et al*, 1996) (Bailly *et al*, 2001). En recientes años la presencia de fumonisina en cereales ha cobrado especial importancia, por afectar la salud humana y animal (Moreno, 1996) (Davis *et al*, 1980). Las Fumonisinas son el grupo de micotoxinas más recientemente descubiertas (1988) y son producidas principalmente por *Fusarium verticilloides* tipo Sheldon, anteriormente *Fusarium moniliforme*. La fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) es la molécula predominante producida por el hongo. Ha sido asociada con ciertas enfermedades en animales como son: leucoencefalomalacia en equinos (LEME) y edema pulmonar porcino (EPP) (Gordon. *et*

*al*, 2000) (D'Mello and Macdonald, 1997). Se menciona que son los compuestos que principalmente están en los cultivos fúngicos del maíz, habiéndose demostrado que se dan naturalmente en niveles biológicamente importantes en él y en varios alimentos a base de éste para seres humanos en varios países de todo el mundo (Ledoux. *et al*, 1992). Los países africanos son los más afectados hasta un 90%, en estos países se han detectado niveles de fumonisina en maíz de 2000 ppb y en alimento para animales rangos de 4000 a 11000 µg/kg. Otros investigadores mencionan la presencia de fumonisina en Argentina, Costa Rica, Honduras, Venezuela y México pero en cantidades que van de 1 a 15 ppm, afectando principalmente al maíz amarillo y en el 83% de las muestras analizadas (Whitaker *et al*, 1981) (Gordon *et al*, 2000) (D'Mello and Macdonald, 1997) (Medina-Martínez, 2000). Existen evidencias de daño bioquímico, celular y morfológico en los animales que consumen alimento contaminado con Fumonisinas, dentro de las alteraciones que se observan en equinos, cerdos, rumiantes y pollos se encuentran daño hepático, del tracto gastrointestinal, cerebro, pulmón y mortalidad, así como, un efecto inmunodepresor al inhibir la replicación de células leucocitarias e inhibir la actividad fagocítica de los macrófagos, sin embargo la información es limitada respecto a los efectos de la fumonisina B1 sobre los cerdos (Whitaker *et al*, 1981) (Chulze *et al*, 1996) (Murphy, Rice, Ross, 1993).

#### **1.4.3.1 Clasificación taxonómica**

Reino:Fungí

Filo:*Ascomycota*

Clase: *Euascmycetes*

Orden:*Hypocreales*

Familia:*Hypocreaceae*

Genero: *Fusarium*

Especie: *F. verticilloides*

### 1.4.3.2 Características morfológicas generales.

La forma y tamaño de las esporas es la característica principal para el reconocimiento de los fusarios. Las esporas están dispersas en el micelio aéreo o en esporodoquios o masas limosas (pionotos). Los macroconidios son curvados, pluriseptados, con una célula apical más o menos puntiaguda y en muchas especies con una célula basal en forma de pie. Los microconidios son comúnmente unicelulares, elipsoidales, fusiformes, claviformes, piriformes o subglobosos, similares en ancho a los macroconidios, con una base redondeada o truncada, por lo general formando cabezuelas mucosas, pero en algunas especies en cadenas basípetas (Fig. 4) No siempre son producidos ambos tipos de esporas. Los conidióforos del micelio aéreo en algunos casos sólo constan de una célula conidiógena, en otros están ramificados, a veces en verticilos. Las monofiálides producen conidios desde una sola abertura y en las polifiálides surgen las esporas desde una abertura en la misma célula (Booth, 1971).

La presencia de una célula basal con forma de pie en los macroconidios se considera característica de *Fusarium* pero varios géneros de Coelomycetes también la tienen. A su vez unas pocas especies de *Fusarium* presentan conidios pluriseptados sin esa célula basal y se las llama mesoconidios (Seifert, 2001).

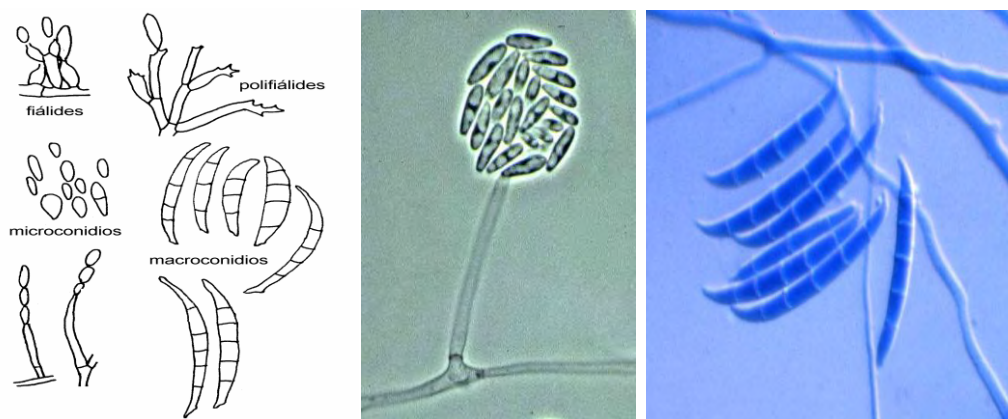


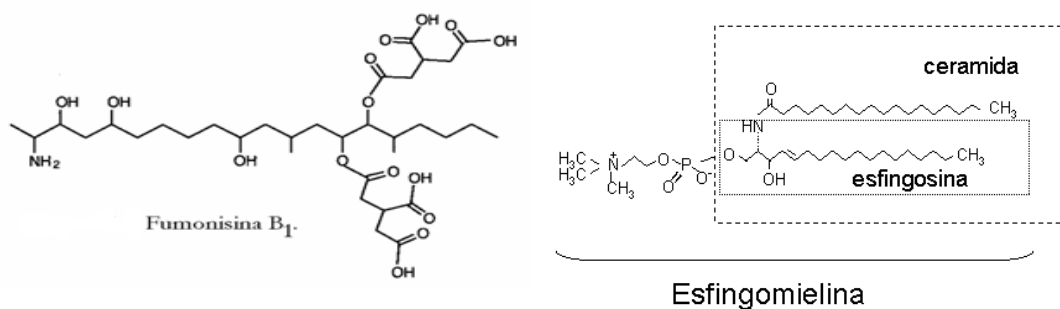
Fig.4 Estructura esquemática y microscópica de *Fusarium verticilloides*

Algunas especies presentan clamidosporas terminales, laterales o intercalares, a veces formando cadenas. Las células conidiales ocasionalmente se transforman en clamidosporas. Algunas especies forman esclerocios irregulares, de color beige, ocre, pardo o gris obscuro. Las colonias de los distintos fusarios que crecen moderada a profusamente, tienen diversos colores (blanco, rosado pálido, rojo, anaranjado, púrpura, celeste, verde aceituna o pardo), especialmente en el reverso de la colonia, excepto

pardo oscuro o negro. El micelio es ralo o denso, ya sea algodonoso, como un fieltro o con una zona central de funículos, pero en algunos casos es limoso. Hay fusarios con pionotos de color anaranjado. Los pigmentos que difunden en el agar suelen variar de color o tono con el pH. Algunas especies presentan zonas concéntricas de distinta morfología macroscópica debido a la secuencia luz - oscuridad (Seifert, 2001).

### Estructura Química de las Fumonisin

FB1: 1,2,3-propanetricarboxylic acid, 1,1-[(12-amino-4,9,11-trihydroxy-2-methyltridecyl)-2-(1-methylpentyl)-1,2-ethanediyl] ester,  $C_{34}H_{59}NO_{15}$ . MW: 721.838, CAS no.: 79748-81-5 (Fig. 5).



**Fig. 5** Estructura química de la FB1 y Esfingomielina.

#### 1.4.3.3 Toxicocinética

##### Modo de acción bioquímica

Las Fumonisin compiten inhibiendo la biosíntesis y metabolismo de los esfingolípidos. Ya que poseen una estructura similar a las bases esfingoides (Fig. 5) tales como la esfingosina, que es un componente de la molecula de esfingolipidos y son capaces de inhibir esfingosina-esfinganina-transferasa y ceramida sintetasa. (Gimeno, 2008).

**La inhibición de la biosíntesis de los esfingolípidos y los problemas hepáticos y cardiovasculares.**

El mecanismo de acción tóxica de las fumonisinas se atribuye a la interferencia con el metabolismo de la esfingosina y la esfinganina, lo que perturba el metabolismo de los esfingolípidos. Los esfingolípidos tienen una gran importancia en la regulación de las células y en el control de proteínas a nivel de membrana celular, son mediadores del crecimiento celular y de la diferenciación y muerte de las células. En los mamíferos, la concentración de esfingosina es, por lo general, de 3 a 5 veces más elevada que la de esfinganina. La esfinganina N-aciltransferasa y la esfingosina N-aciltransferasa (ceramida sintetasa) son enzimas fundamentales en el metabolismo de la biosíntesis de los esfingolípidos (Lino et al., 2004).

Las fumonisinas pueden alterar la concentración y la proporción entre la esfinganina y la esfingosina de forma que se disminuye la biosíntesis de la esfingosina y se acumula esfinganina. Estas micotoxinas pueden, en células eucarióticas, bloquear la biosíntesis de los esfingolípidos complejos, que son la base de formación de mensajeros secundarios que controlan los diferentes procesos entre células tales como la activación y desactivación de proteínas específicas y la expresión genética (Lino et al., 2004).

En los cerdos, la inhibición parcial o total de la esfingosina y de la enzima N-aciltransferasa son las responsables de los problemas de hepatotoxicosis, de forma que la relación esfinganina/esfingosina ya fue indicada como biomarcador de intoxicación por fumonisinas. Actualmente se sabe que otras micotoxinas también pueden alterar la relación entre esos dos esfingolípidos (Mallmann y Dilkin, 2007).

Los problemas anteriormente mencionados sobre el edema pulmonar provocado por concentraciones altas de FB1 desencadenan hidrotórax hepático e ictericia. Las concentraciones bajas de contaminación pero suministradas en periodos de tiempo más prolongados dan lugar a una necrosis del hígado y a degeneraciones progresivas que interfieren con la síntesis proteica, la ganancia de peso vivo y el índice de desarrollo de los animales afectados (Mallmann y Dilkin, 2007).

Cerdos alimentados con concentraciones de FB1 del orden de 100 a 193 ppm durante 93 días desarrollaron una hiperplasia nodular hepática, ulceraciones gástricas e hipertrofia cardiaca y de las arterias pulmonares. Con mayores concentraciones de FB1 (150 a 170 ppm) hubo variaciones cardiovasculares cuando fueron suministradas durante 217 días, aunque no se observaron alteraciones histopatológicas en el corazón. Cerdos alimentados con piensos contaminados con concentraciones de fumonisinas igual o superiores a 23 ppm, sufrieron alteraciones morfológicas en el hígado (Hascheck et al., 2001).

Sin embargo, Mallmann y Dilkin (2007) refieren que alteraciones hepáticas tales como necrosis hepatocelular aleatoria, pleomorfismo nuclear, incremento en la cantidad de mitosis, células deformadas, hepatomegalocitosis y necrosis focal de hepatocitos se observan con mayor frecuencia en animales que sufren una intoxicación crónica con concentraciones bajas de fumonisinas y que son insuficientes para ocasionar clínicamente un problema de edema pulmonar. Los cerdos intoxicados con fumonisinas suelen tener concentraciones elevadas de parámetros bioquímico-clínicos como las bilirrubinas y las enzimas aspartato aminotransferasa (AST), gama-glutamil transferasa, fosfatasa alcalina, deshidrogenasa láctica y arginasa, lo que refleja una hepatotoxicosis. Concentraciones de FB1 y FB2 bajas (12 ppm) dieron lugar a alteraciones bioquímico-clínicas hepáticas. También se observó hipercolesterolemia con concentraciones de FB1 igual o superiores a 1 ppm. Por otro lado, parámetros hematológicos en cerdos (leucograma, valores de hematocrito, concentración de hemoglobina y otros) no estuvieron significativamente afectados por la intoxicación con fumonisinas (Hascheck et al., 2001).

#### **1.4.4 Fumonisinas en cerdos**

Aunque muchas especies animales muestran ciertos niveles de nefrotoxicidad y hepatotoxicidad, el efecto más relevante en cerdos es la toxicidad cardiovascular (Laura Gumprecht, 2001) y el edema pulmonar porcino, que se caracteriza por disnea, debilidad, cianosis y finalmente la muerte.

El consumo diario de FB1 con dosis de 4.5- 6.3 mg/kg peso corporal induce Edema pulmonar porcino (Scientific committee on food, 2000).

##### **1.4.4.1 Patogenia**

La patogenia del edema pulmonar, puede ser explicada por el daño al endotelio pulmonar, daño al epitelio alveolar y por la falla cardíaca. (Laura Gumprecht, 2001)

##### **1.4.4.2 Efecto inmunosupresor**

Se han asociado concentraciones de contaminación con FB1 del orden de más 20 ppm con la aparición de la enfermedad del PRRS (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome) en cerdos (Mallmann y Dilkin, 2007).



La mayor susceptibilidad del cerdo a la infección por *Pseudomona aeruginosa* y la disminución de la concentración de macrófagos en el pulmón de lechones alimentados durante una semana con piensos que contenían 20 ppm de FB1, se asoció también a la inmunotoxicidad de esta micotoxina (Mallmann y Dilkin, 2007).

Las fumonisinas pueden provocar un aumento de la susceptibilidad a *Escherichia coli*, (Oswald et al., 2003).

Concentraciones de contaminación semejantes a las anteriores pero en periodos de suministro más prolongados (56 días) dieron lugar a una disminución del 11% en la ganancia de peso vivo diario (Rotter et al., 1996).

#### **1.4.4.3 Efecto de Fumonisin B1**

En otro interesante estudio, cerdos machos castrados y cerdas consumieron durante 8 semanas alimentos compuestos contaminados con 0; 0,1; 1 y 10 ppm de FB1. En general, la toxicidad de la FB1 fue más grave en los cerdos machos que en las cerdas. Los machos que consumieron las dietas con 1 y 10 ppm disminuyeron la ganancia de peso vivo en un 8 y 11%, respectivamente. La contaminación más baja de 0,1 ppm provocó en los machos un crecimiento anormal durante las primeras 5 semanas, el consumo de pienso fue un poco más alto que el control durante las 4 primeras semanas pero después disminuyó en un 6-7% cada semana. Las contaminaciones con 1 y 10 ppm provocaron en los machos un aumento del colesterol a las 2 semanas. En las hembras con 1 ppm de FB1 los niveles de colesterol fueron elevados al final de la prueba. En los machos hubo una alteración de peso del páncreas y glándulas suprarrenales. Hubo un incremento de la esfinganina y de la relación esfinganina/esfingosina y finalmente, problemas de edema pulmonar con las concentraciones más altas (Rotter et al., 1996).

Hay autores (Hascheck et al., 2001) que indican que las variaciones en la calidad de la canal del cerdo pueden incrementarse negativamente con consumos de alimento contaminado con 1 ppm de FB1.

### **1.4.5 Patología clínica**

En la exploración del hígado es fundamental la intervención del diagnóstico de laboratorio. Nos indica si el hígado está enfermo, que funciones están afectadas, aporta información sobre la gravedad de los síntomas y la evolución de la enfermedad así como, acerca de posteriores medidas diagnósticas necesarias.

Los métodos de exploración hepática se pueden agrupar de la siguiente forma:

- Enzimas: Hepatoespecíficos, en el caso de cerdos AST y GGT
- Pigmentos: Bilirrubina
- Proteínas: Albúmina (Wilfried, Ulrich, 2000)

#### **1.4.5.1 Hígado**

El hígado tiene el trabajo de mantener la homeostasis metabólica del organismo. Abarca el procesamiento de amino ácidos, carbohidratos, lípidos y vitaminas de la dieta; la fagocitosis de materiales fragmentados en la circulación esplácnica; la biotransformación de metabolitos circulantes y la detoxificación y excreción hacia la bilis de productos de desecho, endógenos y contaminantes xenobioticos.

#### **1.4.5.2 Transaminasa aspartatoaminotransferasa (AST)**

Antes TGO (glutamato oxalacetato transaminasa). La aspartato amino transferasa puede presentar diferentes actividades en numerosos tejidos y órganos. No se trata en absoluto de un enzima específico de daño hepático. Presenta una elevada actividad en el músculo cardíaco y esquelético y en segundo lugar en el hígado. En las especies animales en las que la ALT (TGP) no se puede utilizar como indicadora de enfermedades hepáticas son: Caprino, bovino, ovino y porcino, la AST constituye un sustituto fiable de la ALT. La AST se encuentra tanto en el citoplasma como en las mitocondrias. Por lo que el aumento de sus niveles en el suero sanguíneo delata especialmente necrosis celular y en menor grado daños en la membrana (Wilfried, Ulrich, 2000).

#### **1.4.5.3 Gama glutaril transferasa ( $\gamma$ -GT)**

La  $\gamma$ -GT pertenece un largo grupo de enzimas conocidas como peptidasas. Aunque los tejidos renales tienen los mayores niveles de  $\gamma$ -GT, la mayor fuente de la enzima en suero es de origen hepático. Su actividad en la sangre aumenta en enfermedades del

hígado y de los conductos biliares, por lo cual es considerada hepatoespecífica. Esta se localiza en estructuras de la membrana (Wilfried, Ulrich, 2000).

#### **1.4.5.4 Proteínas séricas**

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo y son esenciales para la vida. Actúan como elementos estructurales y de transporte. Con excepción de las inmunoglobulinas, casi la totalidad de las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado, al igual que casi todos los factores de coagulación (con excepción del factor III y IV). La determinación de la proteína total (y/o sus fracciones) está indicada en deshidratación, diarrea, vómito, pérdida de peso, nefropatías y hepatopatías. En hepatopatías graves se altera esta función de síntesis, produciéndose una disminución de las proteínas (Wilfried, Ulrich, 2000).

#### **1.4.5.5 Albúmina**

Es la proteína más abundante en el plasma, una de sus funciones más importantes es la de permitir el transporte de ácidos grasos, hormonas esteroideas, bilirrubina, catecolaminas, que en forma libre son insolubles en medio acuoso.

La concentración de albúmina en plasma influye notablemente en el mantenimiento de la presión coloidosmótica, lo que estaría relacionado con su relativamente bajo peso molecular y su gran carga neta (Wilfried, Ulrich, 2000).

#### **1.4.5.6 Bilirrubina**

Una importante función excretora del hígado, que está relacionada con la secreción de bilis, es la eliminación de bilirrubina de la sangre. Este pigmento tóxico y de coloración verdosa se origina de la degradación de la hemoglobina contenida en los eritrocitos envejecidos que son eliminados de la circulación por las células de Kupffer hepáticas y por otras células con capacidad fagocitaria del bazo. La bilirrubina, es un producto terminal e importante de la degradación de la hemoglobina; constituye una importante herramienta muy valiosa para el diagnóstico tanto de las enfermedades hemolíticas como de algunas enfermedades del hígado. Una vez que el eritrocito ha alcanzado la plenitud de su vida, la membrana celular se rompe y la hemoglobina liberada la fagocitan los macrófagos tisulares del organismo (sistema reticuloendotelial). La hemoglobina se escinde primero en globina y hemo y el anillo hemo se abre para dar: 1) hierro libre que la transferrina transporta en la sangre, y 2) una cadena recta de cuatro

anillos pirrólicos, que constituye el sustrato final de la bilirrubina. La primera sustancia que se forma es la *biliverdina*, aunque en seguida se reduce hacia *bilirrubina libre* o *bilirrubina indirecta*, que va liberándose poco a poco de los macrófagos hacia el plasma. La bilirrubina libre se une de manera inmediata a la albúmina del plasma, que la transporta por la sangre y los líquidos intersticiales. Esta bilirrubina, aún ligada a la albúmina, sigue denominándose bilirrubina libre. En muy pocas horas, la bilirrubina libre se absorbe por la membrana del hepatocito. Al entrar dentro del hepatocito, se desliga de la albúmina y muy pronto se conjuga, en un 80%, con el ácido glucorónico para dar el glucorónido de bilirrubina, en un 10% con el ácido sulfúrico para formar sulfato de bilirrubina y en un 10% final con multitud de otras sustancias. De esta manera la bilirrubina sale del hepatocito a través de un mecanismo de transporte activo y se excreta a los canalículos biliares y, desde aquí, hacia el intestino. De manera que en una afección hepática, la tasa de síntesis de bilirrubina es normal, pero la bilirrubina formada no puede pasar de la sangre al intestino. La bilirrubina libre suele entrar al hepatocito y se conjuga de manera habitual. Esta bilirrubina conjugada regresa luego a la sangre, quizá por la rotura de los canalículos biliares congestionados o por modificación del mecanismo de excreción del hepatocito y por el vertido directo de la bilis a la linfa que drena el hígado. Por consiguiente, casi toda la bilirrubina del plasma, presente en una afección hepática es *directa o conjugada*, en lugar de *libre o indirecta*. (Guyton and Hall, 2001)

## 2. Legislación de Micotoxinas.

En base a los riesgos que las micotoxinas tienen sobre la salud humana, diferentes organismos internacionales como la OMS, The Food and Drug Administration (FDA) y la Food and Agriculture Organisation (FAO) han establecido los límites permitidos de micotoxinas en los piensos y los alimentos. (Denli y Pérez, 2006)

En México se estableció la norma **NOM-188-SSA1-2002** Productos y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Que establece el máximo permisible de aflatoxinas en los cereales destinados para consumo humano y animal.

La cual establece que para el consumo de cerdos

- De engorda entre 25 y 45 Kg. El límite máximo es de 100 µg/Kg.
- Mayores de 45 Kg. El límite máximo es de 200 µg/Kg.
- Maduros destinados a la reproducción El límite máximo es de 100 µg/Kg.

Ley de observancia obligatoria en el Territorio Nacional (Sagarpa, 2002).

Aún no hay normas establecidas para las Fumonisin

## **Justificación**

Los granos utilizados para la elaboración de alimento balanceado generalmente presentan contaminación con Aflatoxinas y Fumonisinias, que ocasionan retraso del crecimiento, menor conversión alimenticia, incremento de la mortalidad, daño renal, hepático y edema pulmonar entre otras manifestaciones, lo que disminuye el potencial productivo, reproductivo y la ganancia económica en la industria porcícola. El diagnóstico de enfermedad por micotoxicosis es difícil de realizar ya que puede enmascarse ó simplemente pasar inadvertido y dado que en la necropsia los cambios morfológicos en la mayoría de las veces no son aparentes, por lo que es importante utilizar herramientas de laboratorio, como lo es la valoración bioquímica para detectar alteraciones funcionales que sean sugestivas de micotoxicosis (Aflatoxina y Fumonisina). Por este motivo es importante generar datos a nivel experimental (condiciones controladas) y de laboratorio que sirvan de referencia a los médicos veterinarios ó profesionales involucrados con la industria porcícola.

#### **4. Hipótesis.**

La ingesta de Aflatoxinas y Fumonisinias provocarán incremento en las concentraciones séricas de transaminasas y bilirrubinas. Así como un decremento de la concentración de proteínas séricas.

##### **4.1 Objetivos generales.**

Evaluar los efectos ocasionados por Aflatoxinas y Fumonisinias a través de las variables bioquímicas en cerdos jóvenes.

##### **4.2 Objetivos particulares.**

- Evaluar el efecto sobre el peso corporal en cerdos con una ingesta de Aflatoxina B1 (AFB1) y Fumonisina B1 (FB1)
- Evaluar las alteraciones hepáticas mediante la concentración sérica de transaminasas (AST y GGT), proteínas y bilirrubinas en cerdos híbridos con ingesta de AFB1 y FB1.
- Evaluar las alteraciones bioquímicas de los cerdos que tuvieron una ingesta de AFB1 y FB1.

## **5. Materiales**

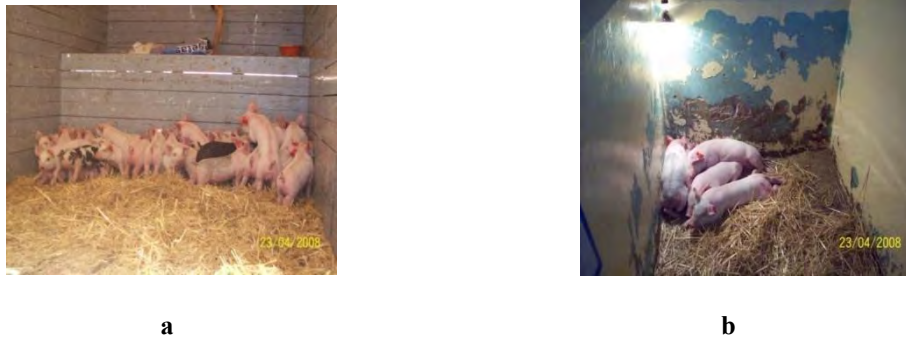
- a) Biológicos: 16 cerdos hembras y machos de 21 a 36 días de edad.
- b) Químicos: estándar de Fumonisina B1 y Aflatoxina B1 marca Sigma con pureza de 98%.
- c) Reactivos: Kit's comerciales (Licon) para determinar las concentraciones séricas de transaminasas (AST y GGT), proteínas, albúmina y bilirrubinas.
- d) Equipo: báscula, centrífuga, espectrofotómetro, micro pipetas, vortex, cronómetro, tubos de ensayo y gradillas.



## 6. Método

### 6.1 Diseño experimental.

La fase experimental se llevo a cabo en las unidades de cuarentena ubicada en Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal (CENASA) Tecamac, Estado de México. Posteriormente las muestras se procesaron en el Laboratorio de Virología edificio de Posgrado de la FES-Cuautitlán Campo 1, Unidad de Investigación en Granos y Semillas de la misma facultad, ubicado en el Centro de Asimilación Tecnológica, en Cuautitlán Izcalli, Estado de México y en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria FES- Cuautitlán Campo 4, laboratorio 14.



**Fig. 6** Cerdos empleados en el experimento (a), Capacidad de cada grupo experimental (b).

Se utilizaron 16 cerdos de 21 a 36 días de edad de ambos sexos, con un peso promedio de 7 Kg. los cuales fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos de 4 cerdos cada uno (fig. 6), con la siguiente distribución:

- Grupo A: Control negativo 0 ppb de AFB1+ 0 ppm de FB1
- Grupo B: Fumonisina B1 (FB1)12 ppm
- Grupo C: Aflatoxina B1 (AFB1) 8 ppb
- Grupo D: Aflatoxina B1 + Fumonisina B1 (AFB1+ FB1) 8 ppb y 12 ppm respectivamente.

Descripción de instalaciones:

La nave usada presenta las siguientes dimensiones: 50 X 25 metros, con altura de piso a techo de 10 metros, donde en la parte central se encuentran cubículos de concreto de 1.20 metros de ancho por 2 metros de largo, cada uno con chupón automático.

#### Alimento:

Los cerdos se sometieron a una alimentación restringida (solo una vez al día), con una cantidad de 250 gr/cerdo de alimento, con la siguiente composición: Proteína 16%, grasa 5.50%, fibra 3.0%, Humedad 12%, cenizas 4.0% y E.L.N 64%.

Agua a libre acceso.

#### Inoculación:

Después de 5 días de adaptación los lechones fueron administrados con FB1, a dosis de 12 ppm (mg/kg p.v.) y AFB1 a dosis de 8 ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.v.) por vía oral/día hasta el día 21 del experimento por medio de una sonda.

#### Evaluación de la ganancia de peso:

A todos los cerdos de los grupos A, B, C y D se les registró el peso, cada semana durante el experimento.

#### Evaluación bioquímica:

Se realizó un muestreo sanguíneo semanal, tomando por cada cerdo 5 ml de la vena cava craneal, en tubos vacutainer sin anticoagulante, los cuales se mantuvieron a temperatura ambiente por espacio de 2 hrs, posteriormente se centrifugaron las muestras y se retiró el suero, el cual se almaceno en tubos de plástico con cierre hermético a temperatura de  $-20^{\circ}$  C para posteriormente evaluar las variables bioquímicas, según lo describe el Kit Comercial Licon.

#### Sacrificio:

Los animales fueron tratados humanitariamente al momento del sacrificio según se indica en la norma NOM-033-ZOO-1995. Fueron sometidos a electroinsensibilización colocando un electrodo detrás de la oreja y otro en el pliegue anal, aplicando una descarga de 127 volts. El sacrificio se efectuó por medio del desangrado de la vena cava craneal, introduciendo el cuchillo debajo del brazuelo izquierdo. Esto se realizó dentro de los primeros 20 segundos después de la insensibilización. Para llevar a cabo la necropsia, una vez terminada, los cuerpos se incineraron.

## **6.2 Análisis estadístico.**

Para el análisis estadístico se utilizó un ANOVA de una vía, en las variables de peso, AST,  $\gamma$ -GT, Bilirrubinas y Proteínas séricas.

Las medias fueron comparadas utilizando la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05 así como la determinación del coeficiente de variación.

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico Statgraphics Plus 5.0

## **7. Resultados.**

### **7.1 Peso**

Al primer día de llegada al área experimental (día 0), los lechones registraron los siguientes promedios de peso: Grupo control de 6.3 Kg, Grupo FB1 6.25 Kg, Grupo AFB1 5.75 Kg y Grupo AFB1+FB1 10.2 Kg. (cuadro 1).

Al día 7 (inicio del experimento), el grupo control presentó un peso de 6.93 Kg. El grupo FB1 7.5 Kg. El grupo AFB1 7.1 Kg. Y el grupo AFB1+FB1 9.7 Kg.

El día 14, después de la primer dosificación, los cerdos presentaron los siguientes pesos: grupo control 8 Kg., grupo FB1 7.25 Kg., grupo AFB1 7.95 Kg. Y Finalmente el grupo AFB1+FB1 9.78 Kg.

En la última semana de experimento (día 21) los pesos fueron los siguientes: grupo control 11 Kg., El grupo FB1 7.17 Kg., El grupo AFB1 7.3 Kg. y el grupo AFB1+FB1 10.24 (fig. 7).

Así en el día 21 observamos que los lechones del grupo control presentaron un peso mayor 11 Kg con respecto al grupo AFB1+FB1 que registró 10.24 Kg

Lo cual nos muestra una ganancia diaria total de: 0.22 Kg. Para el grupo control, .044 Kg para FB1, .074 Kg Para AFB1 y finalmente .002 Kg para AFB1+FB1 (cuadro 4).

### **7.2 AST**

En la literatura se observa que la elevada concentración de dicha enzima se ha relacionado con daño hepatocelular en los cerdos. Una de las causas frecuentes para el aumento de su actividad, es la enfermedad hepática por aflatoxicosis.

En el experimento obtuvimos los siguientes datos:

Para el 1er muestreo, el grupo control y FB1 mostraron datos de 60.819 U/L y 119.383 U/L respectivamente. AFB1 33.3922 U/L y AFB1+FB1 41.031 U/L.

En el 2º Muestreo: El grupo control y FB1 se comportaron de una forma similar con datos de 96.612 U/L y 92.538 U/L, respectivamente, AFB1 36.2295 U/L y finalmente AFB1 y FB1 61.4592 U/L.

3er Muestreo: 34.629 U/L para el grupo control, 103.451 U/L FB1, 67.4393 AFB1 y 53.6022 U/L AFB1+FB1 (cuadro 5)

### **7.3 $\gamma$ - Glutamil transferasa.**

Se ha reportado que aunque los tejidos renales tienen los mayores niveles de  $\gamma$ -GT, la mayor fuente de la enzima en suero es de origen hepático. Su actividad en la sangre aumenta en enfermedades del hígado y de los conductos biliares, por lo cual es considerada hepatoespecífica.

En el experimento obtuvimos los siguientes datos (**cuadro 6**):

1er Muestreo: 24.704 U/L Control, 45.0172 U/L FB1, 9.40875 U/L AFB1 y 5.9058 U/L AFB1+FB1.

2º Muestreo: 41.688 U/L Control, 21.1335 U/L FB1, 22.1468 U/L AFB1 y 11.9274 U/L AFB1+FB1.

3er. Muestreo: 32.424 U/L Control, 30.3975 U/L FB1, 28.5948 U/L AFB1 y 9.7272 U/L AFB1+FB1

### **7.4 Proteínas**

En hepatopatías graves se altera esta función de síntesis, produciéndose una disminución de las proteínas.

En el experimento obtuvimos los siguientes datos (**cuadro 7**):

1er Muestreo: 5.19996 g/dl Control, 5.32315 g/dl FB1, 3.14311 g/dl AFB1 y 2.99887 g/dl AFB1+FB1.

2º Muestreo: 6.69537 g/dl Control, 5.0384 g/dl FB1, 3.94892 g/dl AFB1 y 4.74761 g/dl AFB1+FB1.

3er. Muestreo: 4.90258 g/dl Control, 4.47225 g/dl FB1, 4.29618 g/dl AFB1 y 4.70487 g/dl AFB1+FB1

### **7.5 Albumina**

Se reporta en la literatura que la albúmina es la más abundante de las proteínas plasmáticas, sintetizada por el hígado y liberada al torrente sanguíneo de forma más o menos continua, por lo que un descenso en las concentraciones séricas son sugestivas de daño por sustancias tóxicas, entre ellas las aflatoxinas.

En el experimento obtuvimos los siguientes datos (**cuadro 8**):

1er Muestreo: 9.60533 g/dl Control, 10.3175 g/dl FB1, 4.40189 g/dl AFB1 y 9.49686 g/dl AFB1+FB1.

2º Muestreo: 10.2777 g/dl Control, 8.89879 g/dl FB1, 11.3664 g/dl AFB1 y 11.8161 g/dl AFB1+FB1.

3er. Muestreo: 9.50928 g/dl Control, 6.06664 g/dl FB<sub>1</sub>, 8.83181 g/dl AFB<sub>1</sub> y 9.60901 g/dl AFB<sub>1</sub>+FB

## **7.6 Bilirrubina**

En los dos muestreos realizados en este experimento, la concentración sérica de las bilirrubinas fue mayor en los cerdos del grupo FB<sub>1</sub> a diferencia de los demás grupos en donde el aumento fue significativo; sin embargo, la B.D. mostro aumentos después de 14 días de iniciado el trabajo, a diferencia de la B.T. que incremento sus valores a los 7 días de iniciado el experimento.

En el segundo muestreo, los cerdos infectados con FB<sub>1</sub> mostraron una concentración sérica de B.T. de 0.28 mg/l y de B.D. de 0.017 mg/l, mientras que los cerdos del grupo AFB<sub>1</sub> presentaron una concentración sérica B.T. de 0.1 mg/l y de B.D. de 0.06 mg/l y finalmente el grupo AFB<sub>1</sub>+FB<sub>1</sub> registró 0.08 mg/l de B.T y 0.02 mg/l de B.D.

Estas diferencias, tanto estadísticamente significativas como las no significativas se pueden observar de manera más clara en el cuadro 9 y 10, así como en la figura 12,13 y 14.

## 8. Discusión.

### 8.1 Peso

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

Con base en los cálculos estadísticos obtenidos para analizar el peso de los cerdos observamos una diferencia significativa entre el grupo tratado con AFB1+FB1 y el grupo Control, este último presentó una ganancia de peso diaria de 0,22 kg mayor en relación al anterior 0,002 kg (**cuadro 1**)

Los resultados obtenidos difieren con los trabajos de investigación de (Zomborszky et al., 2000) donde cita que la ganancia de peso, no fue estadísticamente significativa al final del experimento (**cuadro 2**).

Datos en la literatura, muestran que los cerdos reducen la ingesta de alimento y la ganancia de peso a muy bajas concentraciones AFB1 y FB1 (Vesonder and Ellis, 1981; Friend and Thompson, 1992; Rafai et al., 1995).

En otro interesante estudio, cerdos machos castrados y cerdas consumieron durante 8 semanas alimentos compuestos contaminados con 0; 0.1; 1 y 10 ppm de FB1. En general, la toxicidad de la FB1 fue más grave en los cerdos machos que en las cerdas. Los machos que consumieron las dietas con 1 y 10 ppm disminuyeron la ganancia de peso vivo en un 8 y 11%, respectivamente. La contaminación más baja de 0.1 ppm provocó en los machos un crecimiento anormal durante las primeras 5 semanas, el consumo de pienso fue un poco más alto que el control durante las 4 primeras semanas pero después disminuyó en un 6-7% cada semana (Rotter et al., 1996).

(Zomborszky-Kovács, M. *et al* 2002) Observó que ninguna de las concentraciones de toxina usadas en su experimento, mostró efectos significativos en el consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia.

Este hecho tiene sus bases en la interferencia que las aflatoxinas causan sobre los procesos de digestión, metabolismo y transporte de los nutrientes, lo cual es una consecuencia directa de la acción adversa de estas toxinas sobre la síntesis proteica a nivel celular, especialmente a nivel hepático, interfiriendo con el metabolismo de las grasas, así como de minerales (zinc) y vitaminas (B6, B12) (Saif *et al* 2003). Los signos más frecuentes de aflatoxicosis crónica son la nula ganancia de peso y por consiguiente un pobre desarrollo. (Jindal, Mahipal, Mahajan, 1994, Kubena, 1993), aunque esto también depende del sexo y la edad. Siendo más susceptibles los animales jóvenes y

viejos, así como los machos lo son, sobre las hembras, ya que consumen una mayor cantidad de alimento (mayor dosis), mientras que las hembras tienden a acumular por más tiempo las aflatoxinas que los machos debido a la liposolubilidad de las micotoxinas, específicamente de las aflatoxinas.

## 8.2 AST

Se ha descrito que la aspartato aminotransferasa (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 una de las enzimas de mayor actividad en estos tejidos. Sin embargo, la mayor concentración de AST en el cerdo se da en el músculo cardíaco, seguido del hígado y el músculo esquelético.

En la presente investigación se analizaron los datos por grupo, y se observó que el grupo A, el grupo B y el grupo D presentaron un comportamiento variable (cuadro 5). Por el contrario el grupo C presentó una tendencia lineal.

Las causas de esta variabilidad podrían deberse a múltiples factores como son:

Estrés producido por el muestreo, la edad: Cerdos jóvenes presentan mayores niveles de enzimas. Incorrecta toma de la muestra (excesiva manipulación de los vasos sanguíneos, ruptura de eritrocitos, hemolisis, etc.), mal manejo de las muestras (falla en la cadena fría). Por una baja dosificación. Por una corta duración del experimento. Porque las AFB1 impactan en mayor grado al tejido hepatocelular a diferencia de las FB1 que afectan al tejido pulmonar.

Estudios realizados por Peter, Peter, (2007) muestran que los márgenes de referencia normales de AST son: 32-84 U/L.

Schell *et al*, (1993) Obtuvo resultados de 66.1U/L en el grupo control y 81.6 U/L en el grupo contaminado con 922 ppb de Aflatoxina B1.

Zomborszky-Kovács *et al*, (2002) observó la actividad de AST en cerdos infectados con FB1: el grupo control registró < 60 U/L, del grupo suministrado con 1 ppm, un cerdo presentó 109 U/L, el grupo con dosis de 5 ppm tres cerdos, registraron la siguiente actividad 84, 101 y 105 U/L respectivamente y dos de los animales suministrados con 10 ppm tuvieron un incremento de 86 y 90 U/L.

Finalmente Dilkin *et al*, (2003) observó que el nivel de AST en cerdos tratados con 30 mg/kg de FB1 + 50 µg/kg de AFB1 fueron estadísticamente significativos.

Estos datos resultan ser útiles en el diagnóstico de micotoxicosis porcina ya que es un recurso poco utilizado por los médicos dedicados a esta especie animal indicando un



daño funcional, ya que en muchas ocasiones no se aprecia cambio morfológico macroscópico ni microscópico en hígados de cerdos que consumen alimento con micotoxinas.

### **8.3 $\gamma$ - Glutamyl transferasa.**

Respecto a la concentración de GGT el grupo A, B y D presentaron un comportamiento variable, con respecto al grupo C que mostró un comportamiento en aumento de forma lineal.

Dado que la mayor fuente de la enzima en suero es de origen hepático podemos decir que la AFB1 afecta en mayor grado en comparación de la FB1.

Peter, (2007) reporta 10-60 U/L como parámetros normales. Datos que varían con los datos encontrados por Wilfried, Ulrich, (2000) quienes reportan hasta 26 U/L como parámetros normales.

En investigaciones hechas con AFB1 Schell *et al*, (1993) Registró 46.7 U/L en el tratamiento sin contaminar y 67 U/L en el grupo contaminado con 922 ppb de Aflatoxina B1.

El hígado es el principal lugar de producción y desecho de la mayoría de las proteínas plasmáticas, excepto de las  $\gamma$ -globulinas las cuales se forman en el retículo endoplásmico.

En hepatopatías crónicas se presenta un notable incremento de la  $\gamma$ -globulinas, puesto que los antígenos procedentes del intestino a través de la circulación portal no son captados por el hígado sino que son transferidos a la circulación mayor. Desde ahí llegan al Sistema retículo endoplásmico rugoso (SER), donde se estimula la síntesis. Al cabo de unos días ó semanas de aparecer, las infecciones agudas inducen un aumento de la fracción  $\gamma$ -globulinas debida a la formación de anticuerpos (Wilfried, Ulrich, 2000).

### **8.4 Proteínas**

Las proteínas séricas son componentes que se afectan por un mal funcionamiento hepático o alteración en la síntesis proteica celular. En el presente estudio se observó un decremento constante en el grupo B. en los demás grupos después del 2º muestreo presentaron un comportamiento descendente.

Wilfried, Ulrich, (2000) reportan que los márgenes de referencia de hasta 8,6 g/dl son considerados normales.

En cerdos inoculados con AFB<sub>1</sub> por Schell *et al* (1993) se observó una disminución de los niveles de proteínas totales, el grupo control registró 6.1 g/dl y el grupo suministrado con 922 ppb de Aflatoxina B<sub>1</sub> 5.6 g/dl.

En otros estudios realizados con FB<sub>1</sub> los datos de proteína total varían entre 53 y 72 g/l, independientemente de la dosis de toxina y teniendo una mejor apreciación de comportamiento pasado 40 días de exposición a la toxina (Zombroszky-Kovács, M. *et al*, 2002).

### **8.5 Albumina**

El grupo B en comparación con los demás, mostró un descenso lineal a lo largo de la duración de la investigación, en contraste a esto, los grupos C y D comenzaron a disminuir drásticamente sus niveles de albumina a partir del 2º muestreo.

Wilfried, Ulrich, (2000) refieren los siguientes datos de 1.8-3.1 g/dl como normales.

#### **AFB<sub>1</sub>**

(Schell *et al* 1993) Reporta datos de 3.5 g/dl para el grupo control y 3.0 g/dl para el grupo contaminado con 922 ppb de Aflatoxina B<sub>1</sub>.

#### **FB<sub>1</sub>**

La concentración de albúmina varía entre 28 y 40 g/l respectivamente, independientemente de la dosis y el tiempo de muestreo (Zombroszky-Kovács, M. *et al*, 2002).

La albúmina plasmática es la proteína más importante y predominante de la sangre. Se utiliza de rutina para evaluar la función de la síntesis hepática. Tiene una vida media plasmática de 21 días, por lo que su valor para la medición del deterioro de la función del hígado no es alto sino hasta pasadas tres semanas a partir de que se desencadena la falla hepática (Cardinali, Dvorkin, 2005).

La albúmina no resulta adecuada para el diagnóstico de una patología hepática, ya que una hipoalbuminemia en la gran mayoría de los casos son debidas a otras causas (enfermedades intestinales, insuficiencia renal) (Wilfried, Ulrich, 2000).

### **8.6 Bilirrubina**

Para la bilirrubina libre en el segundo muestreo, encontramos que los datos se elevaron para los grupos FB<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub> y AFB<sub>1</sub>+FB<sub>1</sub> con respecto al grupo control.

Pero el dato más significativo es el obtenido en FB<sub>1</sub> que muestra para el primer muestreo un valor de 0.02 mg/l y para el segundo muestreo se incrementa a 0.263 mg/l

continuando así hasta el tercer muestreo (0.24 mg/l). Estos datos demuestran que las Fumonisina B<sub>1</sub> atacan de forma inmediata y agresiva al hígado, el cual a su vez desarrolla insuficiencia cardiaca derecha y que a su vez deriva en el desarrollo de edema.

Aunado a esto la bilirrubina directa aumenta después de 14 días para el mismo caso, y disminuye la Bilirrubina libre.

**Márgenes de referencia:** hasta 0.25 mg/dl (Wilfried, Ulrich, 2000).

## 9. Conclusiones

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

- **Peso:** Los cerdos que consumieron las toxinas de forma individual AFB1 y FB1 presentaron una ganancia de peso menor, en comparación con el grupo control. Sin embargo el grupo suministrado con las dos toxinas, (AFB1+FB1) fue el más afectado de todos en esta relación.

Es importante destacar que la cantidad de proteína suministrada en el alimento fue baja, lo que nos puede enmascarar la nula ganancia de peso.

- **AST:** Dado que el grupo suministrado con AFB1 observó aumento en la concentración sérica de la enzima hepática, podemos afirmar que estas impactan en mayor proporción al hígado.

Para los cerdos suministrados con AFB1 dicha enzima fue estadísticamente diferente en cada muestreo, dato que hace notar que ésta enzima es indicador temprano y muy sensible a cualquier lesión hepática.

- **GGT:** A partir del segundo muestreo se observa el aumento de dicha enzima para todos los grupos, conociendo que esta se ve afectada en nefropatías y hepatopatías, podemos inferir que existió daño específico, dependiendo de la micotoxina ingerida.
- **Proteínas totales y Albumina:** Los valores del grupo B inoculado con FB1 disminuyeron de forma lineal a lo largo de la investigación, esto está relacionado a que la concentración de albúmina en plasma influye notablemente en el mantenimiento de la presión coloidosmótica. Estos datos justificarían el edema pulmonar en cerdos producido por las FB1.

No obstante los grupos restantes C y D comenzaron a disminuir sus niveles a partir del 2º muestreo.

- **Bilirrubinas**

Dado que los incrementos fueron casi imperceptibles, son útiles en conjunto para diagnosticar patologías hepáticas con precisión.

Ya que encontramos datos valiosos que son relacionados a la Fumonisina B<sub>1</sub>, los cuales explican porque las Fumonisininas causan edema pulmonar.

## **10 Recomendaciones.**

- Realizar el experimento aumentando la dosis suministrada así como su tiempo de exposición.
- Utilizar diferentes concentraciones de micotoxinas.
- Utilizar cerdos de la misma edad y el peso corporal.
- Separar los cerdos por sexo.
- Incluir en el protocolo de exploración pruebas de bilirrubina urinaria y citocinas para diferenciar de un aumento de AST.
- Utilizar cánulas permanentes para evitar datos bioquímicos elevados por estrés.
- Hacer estudios coproparasitoscópicos para controlar la presencia de parásitos.
- Utilizar alimento correspondiente a la etapa productiva.

## 11. Referencias citadas.

1. Arango M. Micotoxinas y salud humana. Departamento de ciencias básicas de la salud, Facultad de ciencias para la salud universidad de Caldas Manizares Colombia.
2. Árpád. B. and Radomir, L., (1999). Detoxification of mycotoxin-contaminate food and feed by microorganisms. *Food Science and Technology*. 10: 223-228.
3. Asao, T., Buche G., Abbel-Kader, M. M., Chang, S. B., Wick, E. L. and Wogan, G. N. 1963. "Aflatoxins B and G". *J. Am. Chem. Soc.* 87: 1076-1077.
4. Bailly JD, Benard G, Jouglar JY, Duran S, Guerre P. Toxicity of *Fusarium moniliforme* culture material containing known levels of fumonisin B1 in ducks. *Toxicology*: 2001; 163: 11-22.
5. Booth C. (1971). The Genus *Fusarium*. CMI. Kew, Surrey. pp. 19-31.
6. Brown TP, Rottinghaus GE, Williams ME. Fumonisin Mycotoxicosis in broilers: performance and pathology. *Avian Disease*: (1992): 36: 450: 454.
7. Buchi, G. and Rae, I. D. (1969). "The structure and chemistry of the aflatoxin. In: *Aflatoxins*". Goldblatt, L. A., Ed., Academic press, New York, p. 55.
8. Bullerman, L. B. 1987. "Methods of detecting micotoxins in foods and beverages. In: *Food and Beverage Micology*". 2<sup>nd</sup> ed., Beuchat, L. R., Ed., AVI. New York. p.571.
9. Burke A.J. Chemical contaminants in foods: Some analytical considerations. *J. Assoc. Off. Anal. Chem* (1985); 68: 1069-1073.
10. Cabassi, E.; De Angelis, E.; Miduri, F.; Losio, N.; Borgetti, P.; y Corradi, A. (2002), Aflatoxin effects on T-Lymphocyte subsets in new-born piglets, *IPVS* 17(2): 371.
11. Cardinali, P. D, Dvorkin. A.M. Best & Taylor Bases Fisiológicas de la práctica médica, 13<sup>a</sup> Ed. Medica panamericana Buenos Aires 2005 pp. 533-552.
12. Casas R. (1989). *Micología general*. Universidad central de Venezuela, Caracas.
13. Christensen, C.M; and D.B. Sauer, (1982). *Micoflora in Storage of Cereal Grains and their Products*. Ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul MN. Pp 219-240.
14. Christensen C.M, Kaufmann H (1996). The role of storage fungi in the loss of quality. In: *Grain Storage*. University of Minnesota Press, Minneapolis, Minn.: 153.

15. Chulze SN, Ramirez ML, Farnochi MC, Pascale M, Visconti G (1996). *Fusarium* and fumonisin occurrence in Argentinian corn at different ear maturity stage. *J. Agric. Food Chemical*: 44: 2797-2801.
16. Clifford, J. I. and Rees, K. R. (1966). "Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell". *Nature*, 209, pp. 312 – 315.
17. Colvin, B. M., Cooley, A.J., and Beaver, R.W., 1993, Fumonisin toxicosis in swine: clinical and pathologic findings. *J. Vet. Diagn Invest* 5:232-241.
18. Cysewsky, J.; Word, R.L.; Pier, A. C., y Baetz, A.L. (1978), Effects of aflatoxin on the development of acquired immunity to swine erysipelas, *Am J. Vet. Res.*, 39:445.
19. Davis WD, Dickens JW, Freil RL, Hamilton PB, Shotwell OL, Wyllie TD, *et al.* Protocols for surveys, sampling post-collection, handling and analysis of grain samples involved in mycotoxins problems. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*: 1980: 63: 95-102.
20. Deborha C. Micotoxicosis. *Plan Agropecuario*: 2000: Enero – Febrero: 46-50.
21. Denli, M y Pérez J.F. (2006) Contaminación por micotoxinas en los piensos: efectos, tratamiento y prevención. *Memorias XXII Curso de Especialización FEDNA, Barcelona* 9:1-17.
22. Dilkin, P., Zorzete, P. Mallmann, C.A., Gomes, J.D.F., Utiyama, C.E., Oetting, L.L., Correa, B., 2003 Toxic effects of chronic low doses of aflatoxin B1 and fumonisin B1-containing *fusarium moniliforme* culture material in weaned piglets *Food and chemical toxicology* 41: 1345-1353.
23. D'Mello. J.P.F and Macdonald A.M.C. 1997. Mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*. 69: 155-166
24. D'Mello JPF, Placinta CM, Macdonald AMC (1999). *Fusarium* mycotoxins: a review of global implication for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and technology*: 80: 183-205.
25. Ellis, W.O., Smith, J. P., Simpson, B.K. & Oldham, J.H. (1991). Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 30, 403-439.
26. Esqueda, V.M. y Villegas, O.R.M. 1991. "Efecto de la producción de Aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en maíz, sus métodos de degradación y su posible control con lectinas". *Rev. Vinculación*. 3(20): 44-47

27. FAO/OMS/PMA. 1999. Tercera Conferencia Internacional FAO/OMS/PMA sobre Micotoxinas. Túnez 3-6 de marzo.
28. Friend, D.W., and B.K. Thompson, 1992: Toxicity of T-2 toxin and its interaction with dioxynivalenol when fed to young pigs. *Can. J. Anim.Sci.* 72, 703-711
29. Gimeno A. 1991. VII Curso de especialización en Nutrición y Patología. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. E.T.S. Ingenieros Agronomos,. Madrid 30 y 31 de mayo. p.p. 1-33.
30. Gimeno A. 2008. Las fumonicinas y sus efectos indeseables en la producción porcina Engormix. Pp.1-6.
31. Gordon SS, Marasas WFO, Leggott NL, Yazdanpanah H, Rahimian H, Safari N. Natural occurrence of fumonisin in corn from Iran. *J. Agric. Food Chemical:* 2000: 48: 1860-1864.
32. Groopman, J. D. and Eaton, D. L. 1994. "Aflatoxins" 1st. Edition Editorial Elviesier, E.U.A. p.p. 250-267.
33. Guyton, A.C. and Hall, J.E. 2001. "Tratado de Fisiología Médica" 10ª Edición, Editorial Interamericana \* McGraw-Hill, México, p.p. 964-966.
34. Guzmán D, 2001, "Mitos y Realidades de las Micotoxinas". *Revista Avance y Perspectiva*, Volumen 20, Nov. – Dic., p.p. 415 – 420
35. Guzmán D, Peña JJ (2005). Regulatory considerations of aflatoxin contamination of food in México. *Revista latinoamericana de Microbiología* Vol. 47 Julio-Diciembre.
36. Hascheck, W.M.; Gumprecht, L.A.; Smith, G.; Tumbleson, M.E.; Constable, P.D. (2001). "Fumonisin Toxicosis in Swine: An Overview of Porcine Pulmonary Edema and Current Perspectives". In: *Environmental Health Perspectives*. Vol. 109. Supplement 2, pp. 251-257.
37. Hinton, Dennis M., Myers, Michael, J., Raybourne, Richard A., Francke-Carroll, Sabine, Sotomayor, Rene E., Shaddock, Joseph, Warbritton, Alan and Chou, Ming W. 2003. "Inmunotoxicology" *Toxicology Sciences*, Vol. 73, p.p. 362 – 377.
38. Iheukwumere *et al.*, 2003. "Physiological Responses of Broiler Chickens to Quantitative Water Restrictions: Haematology and Serum Biochemistry". *International Journal of Poultry Science*. Vol.2 pp. 117-119.



39. Izeta, J.; Martínez, A.; Rosiles, R.; Arriaga, C.; Torres, J., y Morilla, A. (1990), efectividad de la vacunación contra el cólera porcino en cerdos tratados con Aflatoxina B1, *Téc. Pec. Méx.*, 28: 173-177
40. Jindal, N., Mahipal, S.K., Mahajan, N.K. 1994. "Toxicity of aflatoxin B1 in broiler chickens and its reduction by activated charcoal". *Res. Vet. Science* 56, 37-40.
41. Jones, Thomás Canyle, Duncan , Ronald and king, Norval W. 1997 *Veterinary pathology* 6 Edition, Ed. Lippincott, Williams & Wilkins, E.U.A. p.p. 539-541
42. Jordan, E.T.W. and Pattison, M. 2002. "Poultry Diseases". 5th Edition, W.B. Saunders, E.U.A. p.p. 394, 395.
43. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N. 1991. "Patología de los Animales Domésticos". 3ª Edición, Tomo 2 Editorial Hemisferio Sur Mundi-Prensa AEDOS México, p.p. 339,340.
44. Kubena, L.F., Harvey, R.B., Huff, W.E., Elissalde, M.H., Yersin, A.G., Phillips, T.D., Rottinghaus, G.E. 1993. "Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol". *J. Poult. Sci.* 72, 51-59.
45. Laura A. Gumprecht a,1, Geoffrey W. Smith a,b, Peter C. Constable b,Wanda M. Haschek a (2001), Species and organ specificity of fumonisin-induced endothelial alterations: Potential role in porcine pulmonary edema *Toxicology* 160 71-79
46. Ledoux DR, Bermudez AJ, Fritsche KL, Rottinghaus GE. Effects of fumonisin B1 on selected immune responses in broiler Chicks. *Poul. Science*: 1992: 78: 1275-1282.
47. Lillehoj, E.B.1983. "Effect of environmental and cultural factors on aflatoxin contamination of developing corn kernels. In *Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn*" Southern Cooperative Series Bulletin 279 for Southern Regional Project S-132; Diener, U. L., Aspquith, R. L., Dickens, J.W., Eds, Auburn University: Opelika AL
48. Lino, C.M.; Silva, L.J.G.; Pena, A.S. (2004). "Fumonisin: presença em alimentos, implicações na saúde e aspectos legislativos" *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 99:181-192.
49. López L.A, Esquivel E, Manriquez A, Iruegas LF. Situación actual y perspectivas de los granos en México. *Fideicomisos Instituidos en Relación con*

- la Agricultura (FIRA) Boletín Informativo, Num. 322 Vol. XXXVII Año 2008. p.p. 46- 51
50. Mallmann, C.A.; Dilkin, P. (2007). "Fumonisin" en Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos. Sociedade Vicente Pallotti- Editora, Santa Maria, Brasil. pp.105-127.
  51. Mc. Donald, Mc Gavin, Carlton, William W. and Zachari, James F. 2001. "Thomson's Special Pathology". 3<sup>rd</sup> Edition Editorial Mosby, E. U A. p.p. 110, 111, 149.
  52. Medina-Martínez MS, Martínez AJ. 2000 Mold occurrence and aflatoxina B1 and fumonisin B1 determination in corn samples in Venezuela. J. Agric. Chemical:: 48: 2833-2836.
  53. Moreno M.E. y M.G. Gutiérrez, 1991. La biología de *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas. Primera edición. UNAM, México D.F., pp 1-15.
  54. Moreno M.E. 1996. El maíz y las aflatoxinas en la industria de la masa y la tortilla: desarrollo y tecnología. Torres F., Chong I, Quintanilla J. PUAL-UNAM:: 139-145.
  55. Morilla, G. A. 1986. "Efecto de las Micotoxinas sobre los mecanismos de inmunidad de los animales". AVIRAMA 2, pp 19-27
  56. Morilla, A. (2007) La aflatoxicosis en cerdos, Téc. Pec. Méx., 23-25
  57. Murphy PA, Rice LG, Ross PF. Fumonisin B1, B2 and B3 content of Iowa. Wisconsin and Illinois corn and corn screenings. J Agric Food Chemical: 1993: 41:263-266.
  58. Oswald, I.P.; Desautels, C.; Laffitte, J.; Fournout, S.; Peres, S.Y.; Odin, M.; Le Bars, P.; Le Bars, J.; Fairbrother, J.M. (2003). Mycotoxin Fumonisin B1 Increases Intestinal Colonization by Pathogenic *Escherichia coli* in Pigs". Applied and Environmental Microbiology, 69: 5870-5874.
  59. Osweiler G.D. Diseases of Swine. 7<sup>a</sup>. Edition Iowa State Univ. Press, Ames Iowa. 1992.
  60. Peter J., Peter D.C., 2007, Handbook of pig medicine Saunders Elsevier 1ed. New York pp. 257-261.
  61. Rafai, P., S. Tuboly, A. Bata, A. Vanyi, Z. Papp, E. Brydl, L. Jakab, and E. Tury, 1995: A takarmany különböz T-2 koncentraciojanak hatasa a növendek sertesekre. Humoralis es cellularis immunvalasz.Effect of T-2 toxin in different

- concentrations in growing pigs. Humoral and cellular immune response. Magy. Ao Lapja (Hung. Vet. J.) 10, 682-684.
62. Roebuck, B. D. and Maxuitenko, Y. Y. 1994. "Biochemical mechanisms and biological implication of the toxicity of aflatoxins and related to aflatoxin carcinogenesis. Chap 2, in: The toxicology of aflatoxins". D. L. eaton and j. D. Groopman (eds.). Academic Press, San Diego. p. 27 – 43.
  63. Rotter, B.A.; Thompson, B.K.; Prelusky, D.B.; Trenholm, H.L.; Stewart, B.; Miller, J.D.; Savard, M.E. 1996. "Response of growing swine to dietary exposure to pure fumonisin B1 during an eight-week period: growth and clinical parameters". Natural Toxins, 4: 42-50.
  64. Saif, YM; Barnes, H.J.; Glisson, J.R., Fadly, A.M.; Mc Dougald, L.R.; Swayne, D.E. 2003. "Calnek's Diseases of Poultry" 11<sup>th</sup> Edition Iowa State Press, E.U.A. p.p. 1109-1113.
  65. Schell, T.C., Lindemann, M.D., Kornegay, E.T., and Blodgett, D.J. 1993. Effects of feeding aflatoxin-contaminated diets with and without clay to weanling and growing pigs on performance, liver function and mineral metabolism. J. Anim. Sci. 71: 1209-1218.
  66. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural. (SAGARPA) 1995, **NOM-033-ZOO-1995** Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. México.
  67. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural. (SAGARPA) 2002, **NOM-188-SSA1-2002** Productos y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. México.
  68. Seifert K. 2001. *Fusarium* and anamorph generic concepts. pp. 15 - 28 en: *Fusarium*. Summerell BA et al., eds. APS Press. St. Paul, Minnesota.
  69. Scientific committee on food (2000) Opinion on fusarium toxins Part 3<sup>1</sup>: Fumonisin B1 (FB1) Brussel- Belgium.
  70. Sisk D.B. and Carlton W.W. 1972. Effect of dietary protein concentration on response of miniature swine to aflatoxinas. Am. J. Vet. Res. 33:107.
  71. Stubblefield, R.D., Lyon, R.L., Richard, J.L., Peden. W.M., Thurston, J.R. and Rimler, R.B. 1986. "Distribution and clearance of aflatoxins B1 and M1 in turkeys fed diets containing 50 or 150 ppb aflatoxin from naturally contaminated diet". Avian. Dis. 30, 788-793.

72. Vesonder, R. F., and J.J. Ellis, 1981: Swine refusal factors elaborated by Fusarium strains and identified as trichotecenes. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 323.
73. Villamar L, Barrera M.A., 2006 Situación actual y perspectiva de la producción de carne de porcino en México 2006. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural. SAGARPA, México Centro de Estadística Agropecuaria; 1-50.
74. Wilfried K., Ulrich M.D., 2000 Diagnostico clínico de Laboratorio en veterinaria 4ª. Edición Editores Médicos, S.A. Madrid España, 112-133, 148-155.
75. Whitaker TB, Dickens JW, Wiser EH, Monroe RJ 1981. Sampling Techniques in: Food Analysis: Principles and Techniques. EE.UU: D. W. Gruenwedel y J.R Whitaker (Eds), Marcel Dekker, New York.
77. Zombroszky-Kovács, M., F. Vetési, I. Repa, F. Kovács, Á. Bata, P. Horn, Á. Tóth, and R. Romvári, 2000: Experiment to determine limits of tolerance for Fumonisin B1 in weaned piglets. *J. Vet. Med. B* 47, 277-286.
78. Zombroszky-Kovács, M., Vetési F., Horn P., Repa I., and Kovács F., 2002, Effects of prolonged exposure to low-dose Fumonisin B1 in pigs. *J. Vet. Med. B* 49, 197-201.
79. Zombroszky-Kovács, M., Kovács F., Horn P., Vetési F., Repa I., Tornóyos G., Tóth a., 2002, Investigations into the time- and dose-dependent effects of fumonisina B1 in order to determine tolerable limit values in pig. *J. Vet. Med* 76, 251-256.

## 12 Anexo

**Cuadro 1** Peso inicial y ganancia diaria de cerdos administrados con micotoxinas FB1 y AFB1 de la presente investigación.

Parámetro	(ppm)			
	Control	FB1	AFB1	FB1+AFB1
	0	12	8	12+8
<b>Peso inicial (Kg)</b>	6.3	6.25	5.75	10.2
<b>Ganancia diaria (Kg)</b>	0.22	0.044	.074	.002

**Cuadro 2** Comparativo de peso inicial y ganancia diaria de cerdos alimentados con dietas que contienen FB1 (Zombroszky-Kovács, M., *et al* 2000).

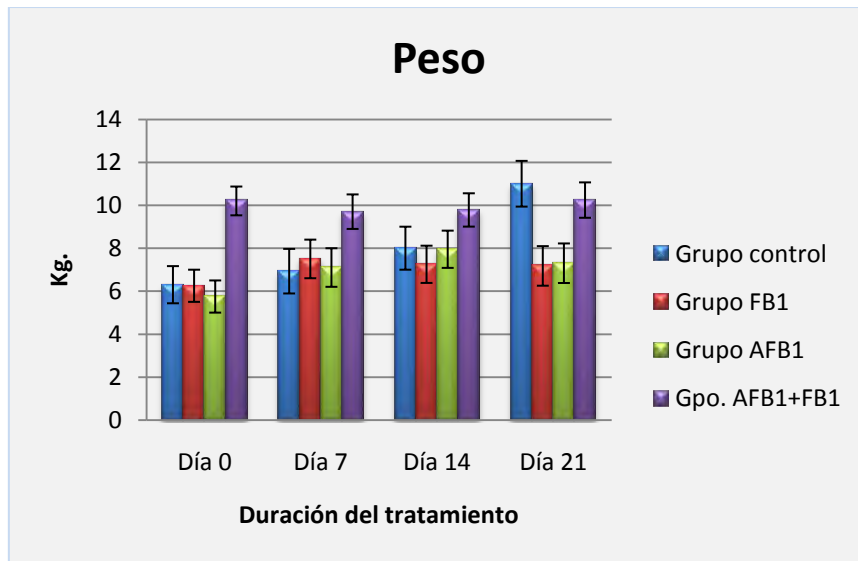
Parámetro	Control	FB1	FB1	FB1
	0	10	20	40
<b>Peso inicial (Kg)</b>	9.25	9.75	10.00	9.80
<b>Ganancia diaria (Kg)</b>	0.18	0.20	0.19	0.18

**Cuadro 3** Comparativo de pesos corporales de experimentos con cerdos alimentados con dietas contaminadas con 200 ppm de Fumonisina B1/Kg de alimento (Colvin, B. M., Cooley, A.J., and Beaver, R.W., 1993).

Tratamiento	Peso corporal (Kg)					
	Día 1	Día 14	Día 21	Día 28	Día 32	Día 43
<b>1</b>	13.6	15.4	15.0			
<b>2</b>	11.8	13.6	13.0			
<b>3</b>	16.8	18.2	18.0*	18.7	22.7	
<b>4</b>	15.9	17.2	17.6*	18.2	23.6	<b>28.6</b>
<b>5 (control)</b>	11.8	15.0	18.5	22.3	28.5	<b>33.4</b>

\*Material de cultivo removido de la dieta el día 21.

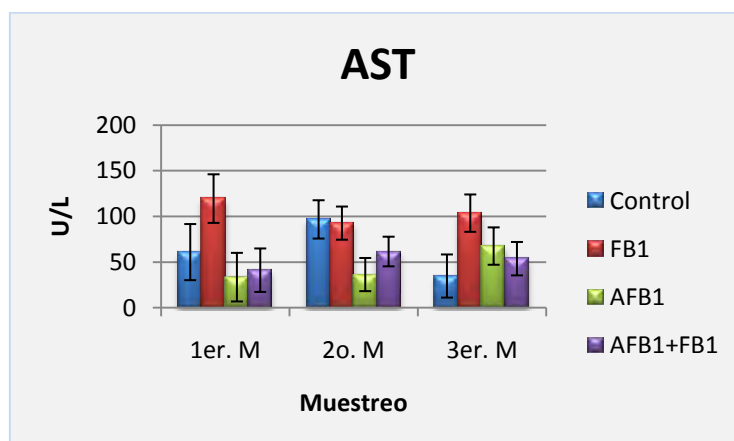
Fig. 7 Cinética de pesos corporales de los cerdos utilizados.



Cuadro 4 Valores estadísticos, referentes a peso corporal.

Tratamiento	1er. Mto	$\sigma$	C.V.	Error estándar	2 o. Mto	$\sigma$	C.V.	Error estándar	3er. Mto	$\sigma$	C.V.	4º. Mto	$\sigma$	C.V.	Error estándar
Grupo control	6.33	0.57	9.12	0.33	6.93	0.60	8.69	0.34	8	1	12.50	11	1	9.09	0.57
Grupo FB1	6.25	2.06	32.98	1.03	7.5	2.38	31.74	1.19	7.25	2.39	33.07	7.17	2.71	37.78	1.35
Grupo AFB1	5.75	0.95	16.65	0.47	7.1	1.33	18.76	0.66	7.95	1.49	18.84	7.3	1.84	25.21	0.92
Gpo. AFB1+FB1	10.2	1.64	16.11	0.73	9.7	2.01	20.81	0.90	9.78	1.45	14.86	10.24	1.27	12.50	0.57

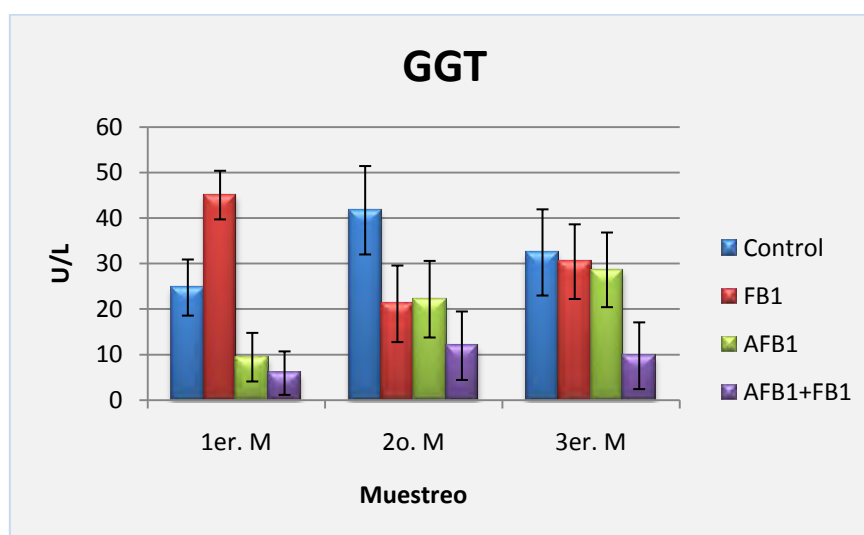
Fig. 8 Cinética de AST en los tres muestreos.



**Cuadro 5** Valores estadísticos de AST

Tratamiento	1er. Mto. X	$\sigma$	C.V.	Error estándar	2 o. Mto. X	$\sigma$	C.V.	Error estándar	3er. Mto.	$\sigma$	C.V.	Error estándar
<b>Grupo control</b>	60.81	57.09	93.88	30.71	96.61	58.38	60.43	20.95	34.62	31.22	90.16	23.62
<b>Grupo FB1</b>	119.38	129.47	108.46	26.60	92.53	63.97	69.13	18.15	103.45	75.65	73.13	20.45
<b>Grupo AFB1</b>	33.39	30.81	92.29	26.60	36.22	36.75	101.44	18.15	67.43	60.54	89.78	20.45
<b>Gpo. AFB1 +FB1</b>	41.03	45.01	109.71	23.79	61.45	45.52	74.07	16.23	53.60	50.69	94.58	<b>18.29</b>

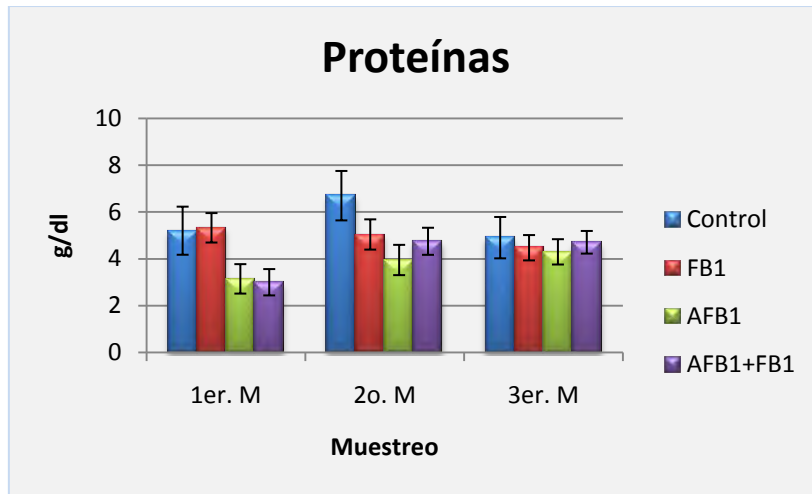
**Fig. 9** Cinética de GGT en los tres muestreos



**Cuadro 6** Valores estadísticos de GGT

Tratamiento	1er. Mto X	$\sigma$	C.V.	Error estándar	2 o. Mto	$\sigma$	C.V.	Error estándar	3er. Mto	$\sigma$	C.V.	Error estándar
<b>Grupo control</b>	24.70	12.80	51.83	6.16	41.69	37.98	91.12	9.71	32.42	15.13	46.68	9.47
<b>Grupo FB1</b>	45.01	25.17	55.91	5.34	21.13	30.65	145.05	8.41	30.40	31.89	104.92	8.19
<b>Grupo AFB1</b>	9.41	11.32	120.31	5.34	22.15	14.31	64.61	8.41	28.59	30.41	106.35	8.19
<b>Grupo AFB1 +FB1</b>	5.91	5.10	86.44	4.77	11.93	8.35	70.02	7.52	9.73	5.96	61.27	<b>7.33</b>

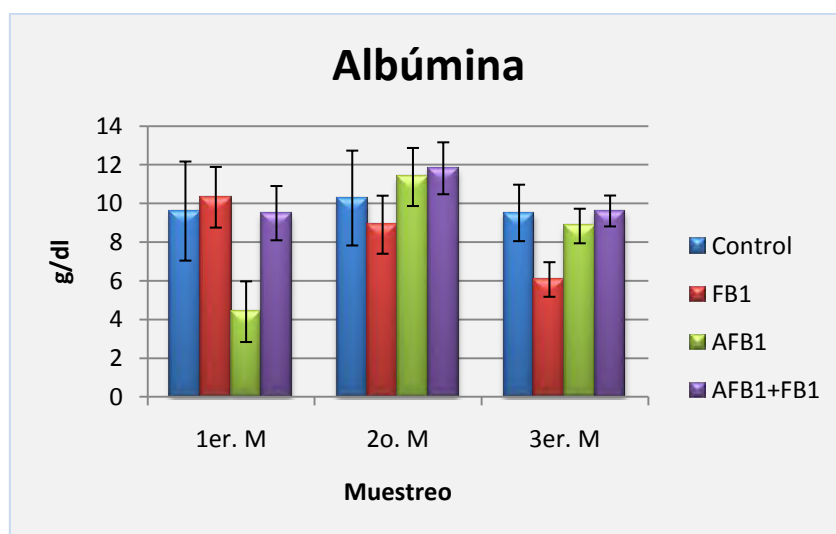
**Fig. 10** Cinética de las proteínas en los tres muestreos.



**Cuadro 7** Valores estadísticos de las proteínas.

Tratamiento	1er. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar	2o. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar	3er. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar
<b>Grupo control</b>	5.19	0.52	10.01	1.02	6.69	1.52	22.81	1.05	4.90	0.32	6.69	0.88
<b>Grupo FB1</b>	5.32	1.17	22.16	0.62	5.03	3.25	64.60	0.64	4.47	2.79	62.52	0.54
<b>Grupo AFB1</b>	3.14	2.49	79.28	0.62	3.94	0.63	15.97	0.64	4.29	0.35	8.23	0.54
<b>Gpo. AFB1 +FB1</b>	2.99	1.67	55.96	0.56	4.74	0.46	9.77	0.57	4.70	0.54	11.57	<b>0.48</b>

**Fig. 11** Cinética de la albumina en los tres muestreos.

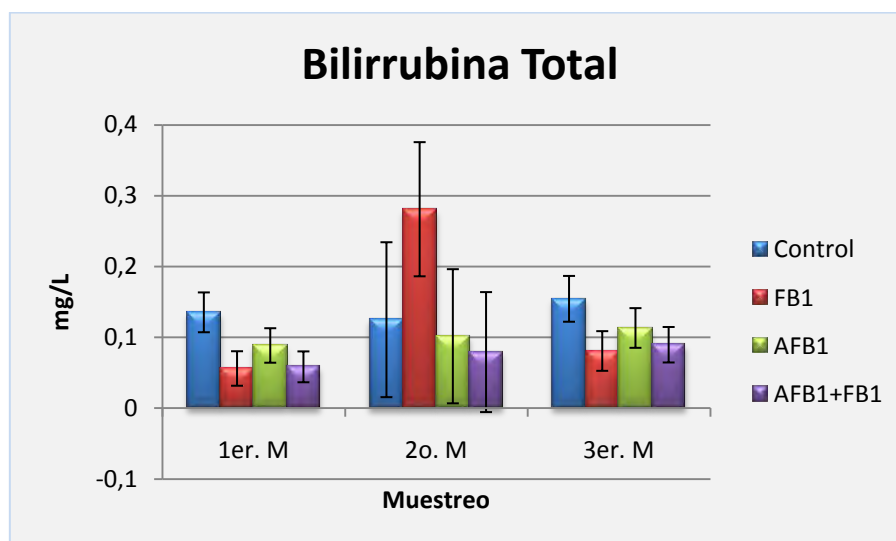




**Cuadro 8** Valores estadísticos de albumina.

Tratamiento	1er. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar	2 o. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar	3er. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar
<b>Grupo control</b>	9.60	0.90	9.41	2.56	10.28	1.86	18.13	2.45	9.51	0.60	6.33	<b>1.46</b>
<b>Grupo FB1</b>	10.31	2.68	26.00	1.57	8.90	6.65	74.75	1.50	6.07	3.79	62.53	<b>0.89</b>
<b>Grupo AFB1</b>	4.40	4.74	107.69	1.57	11.37	2.46	21.64	1.50	8.83	1.46	16.50	<b>0.89</b>
<b>Gpo. AFB1 +FB1</b>	9.49	5.60	59.05	1.40	11.87	3.20	27.06	1.34	9.61	2.2	22.90	<b>0.80</b>

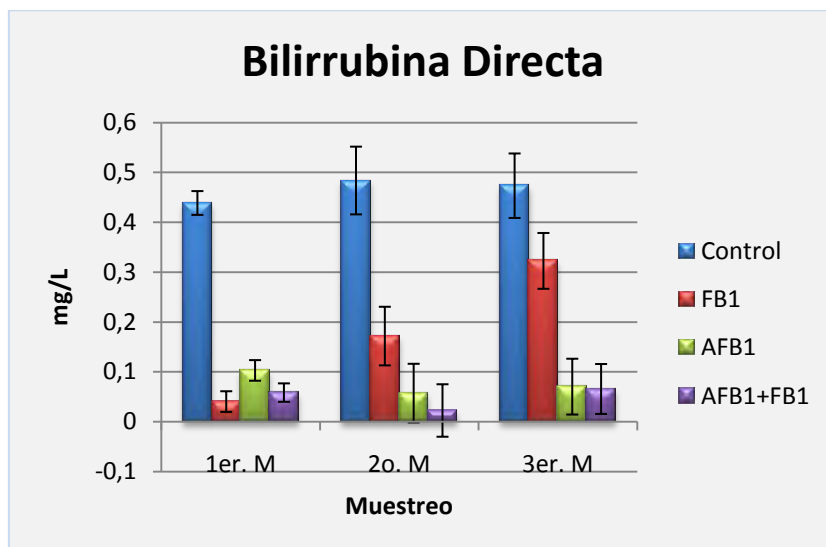
**Fig. 12** Cinética de la bilirrubina total en los tres muestreos.



**Cuadro 9** Valores estadísticos de bilirrubina total.

Tratamiento	1er. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar	2 o. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar	3er. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar
<b>Grupo control</b>	0.14	0.01	3.85	0.00	0.12	0.02	18.16	0.01	0.15	0.03	22.44	<b>0.02</b>
<b>Grupo FB1</b>	0.06	0.04	79.43	0.02	0.28	0.37	131.06	0.18	0.08	0.06	81.86	<b>0.03</b>
<b>Grupo AFB1</b>	0.09	0.07	76.70	0.03	0.10	0.03	32.57	0.02	0.11	0.06	56.48	<b>0.03</b>
<b>Gpo. AFB1 +FB1</b>	0.06	0.05	80.21	0.02	0.08	0.07	89.89	0.03	0.09	0.05	55.83	<b>0.02</b>

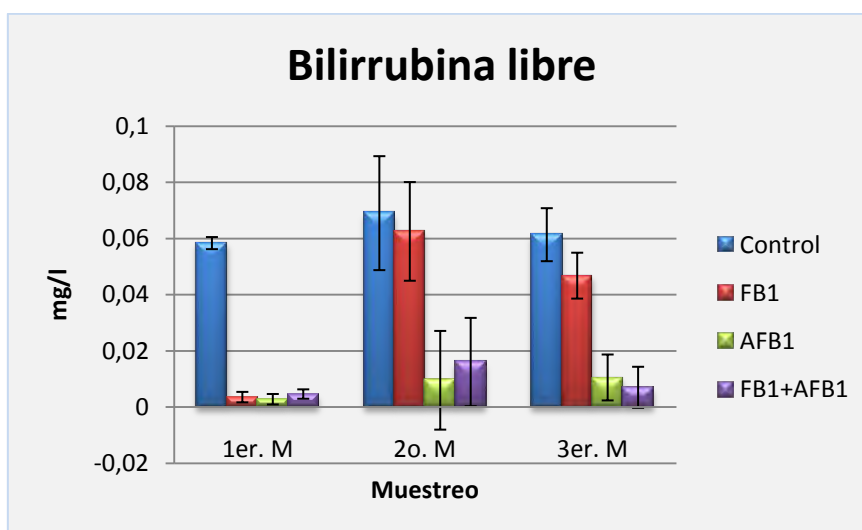
Fig. 13 Cinética de la bilirrubina directa en los tres muestreos.

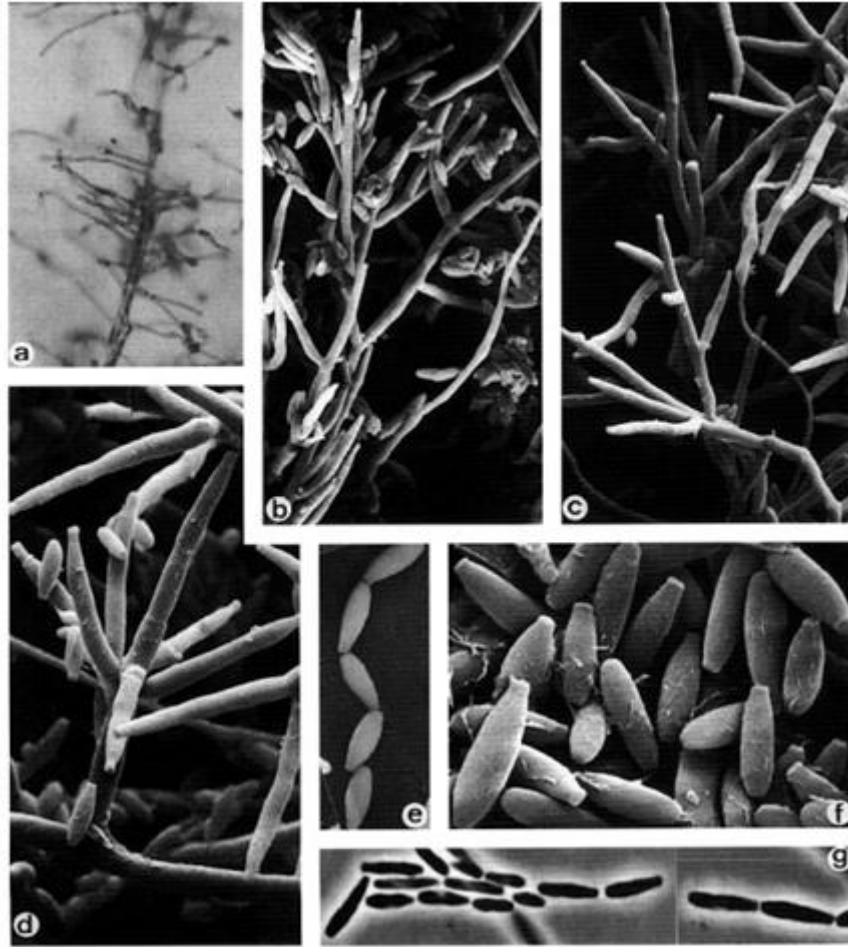


Cuadro 10 Valores estadísticos de bilirrubina directa.

Tratamiento	1er. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar	2o. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar	3er. Muestreo	$\sigma$	C.V.	Error estándar
Grupo control	0.43	0.02	3.62	0.01	0.48	0.02	4.69	0.01	0.47	0.02	4.40	0.01
Grupo FB1	0.04	0.04	88.38	0.02	0.17	0.23	131.81	0.11	0.32	0.22	67.15	0.10
Grupo AFB1	0.10	0.06	58.08	0.03	0.05	0.05	92.11	0.03	0.07	0.05	67.48	0.02
Gpo. AFB1 +FB1	0.05	0.04	63.89	0.02	0.02	0.03	127.80	0.01	0.06	0.02	36.20	0.01

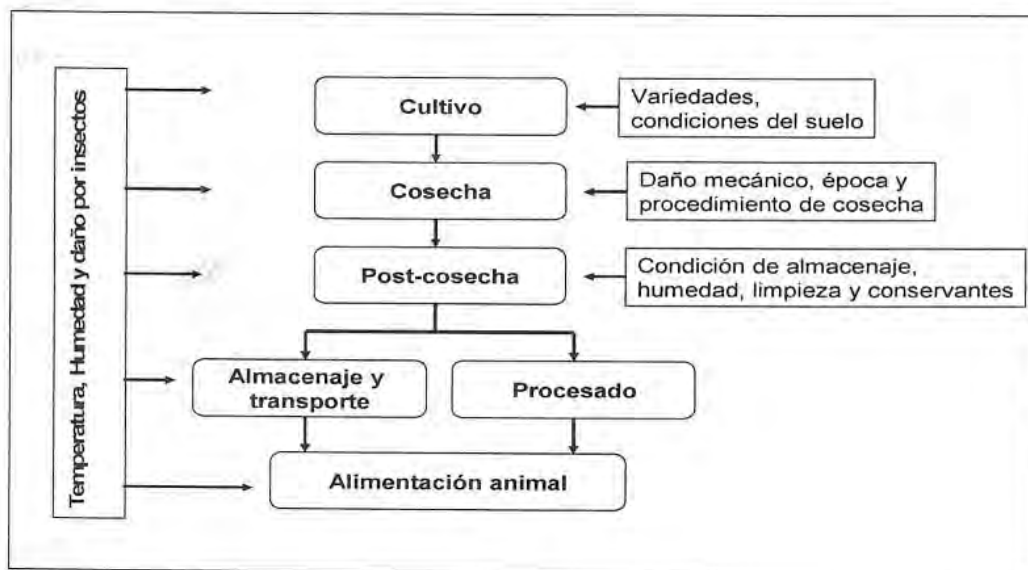
Fig. 14 Cinética de la bilirrubina libre en los tres muestreos.





*Fusarium verticilloides* CBS 624,87 a monophialides with conidial chains; b-d conidiophores y microconidia; c-g microconidia a x256; b x920, c x1050, d x1800, e x 2100, f x39000, g x1600.

Factores que afectan el crecimiento fúngico y la producción de micotoxinas



## Principales propiedades físico-químicas de las aflatoxinas.

Características	A F L A T O X I N A S					Aflatoxicol
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>	
Fórmula Química	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	G <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>
Peso Molecular	312	314	328	330	330	314
Punto de Fusión (°C)	268-269(D)	287-289(D)	244-249(D)	230	290(D)	230-234
Absorción Ultravioleta						
nm (E)	223(25,600)	220(20,500)	243(11,500)	217(28,000)	226(23,100)	
En Etanol	285(23,400) 362 362(21,800)	265(12,700) 363(24,000)	257( 9,900) 264(10,000)	245(12,900) 365(19,300)	265(11,600)	
Fluorescencia	425 nm	425 nm	450 nm	425 nm	425 nm	425 nm

Fuente: Cole y Cox, 1981.

(D) = Desaparición.

