

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

EFECTO DE DETOXIFICANTES DE MICOTOXINAS
SOBRE EL CRECIMIENTO DEL POLLO Y LA
INTEGRIDAD HEPÁTICA Y RENAL

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA
EDUARDO VELÁZQUEZ PACHECO

ASESORES
Dr. ARTURO CORTES CUEVAS
MSc. ERNESTO ÁVILA GONZALEZ

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2019



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.

CONTENIDO

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	IV
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO	13
HIPÓTESIS	13
MATERIAL Y MÉTODOS	13
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	22
REFERENCIAS.....	23
CUADROS	29
ANEXO 2: Fotografías	39

DEDICATORIA

A mi padre, Armando Velázquez, quien es el mayor ejemplo de dedicación a mi familia, por enseñarme que el trabajo es para disfrutar su recompensa y darme la mayor lección de la vida: no hay que preocuparse de los problemas, si no ocuparse de ellos.

A mi madre, Gabriela Pacheco, por ser un gran apoyo emocional durante mis estudios, por educarme, enseñarme el valor de la humildad y forjar mi carácter, para sobreponerme a las decepciones y celebrar los triunfos.

A mi hermano, Mauricio, Quien ha sido el mayor ejemplo que hoy tengo para demostrar que se puede lograr un objetivo, aunque los demás crean que no lograrías nada en tu vida.

A mis amigos, Arturo, José Luis, Enrique, Maximiliano y Jesús; por estar física y emocionalmente dispuestos a apoyarme, por estar en los buenos, en los malos y en los peores momentos.

A todos aquellos que estuvieron en mi vida universitaria y mi servicio social, a quienes me brindaron su amistad, tiempo y conocimiento.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme educación valiosa y de calidad, que me ha ayudado a desarrollar mis habilidades como médico veterinario zootecnista y me ha abierto las puertas al mundo laboral.

A mis asesores de Tesis, al Dr Arturo Cortés y al Dr Ernesto Ávila, quienes me brindaron la oportunidad de desarrollar el presente trabajo, me aportaron su conocimiento y estuvieron al pendiente de mis avances. La culminación de este trabajo fue posible con su conocimiento y experiencia.

A los médicos presentes en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola: Dr Jorge Miguel, Dra Elizabeth, Dr Ezequiel, Dra Alma, Dra Pilar, Dra Montse, Dr David y Dr Oscar; quienes me brindaron apoyo y conocimiento durante mi servicio; donde aprendí acerca de la medicina y zootecnia de las aves, y que me dieron un panorama más amplio de la industria a desarrollarme.

A quienes me dirigieron y a mis compañeros en el servicio social; Osiris, Karina, Francisco, Lizbeth, Betzabe, Metmeyali, Maya, Ximena, Paola, David, Jesús, Aldo, Gerardo y Alfredo.

A la Dra Mireya Juárez por su apoyo en el análisis de las muestras y compartir su experiencia y conocimiento para el presente trabajo.

Al Dr Lorenzo Tlacomulco de la empresa V y Q de México por el donativo del FreeTox y el donativo de para financiar parte de este estudio.

Por último, quiero agradecerle a Diana Montes, por ser mi mejor amiga y compañera, quien me ha brindado su apoyo, amor y cariño, que me alentó a mejorar y me impulsó académica y emocionalmente. Sin ella este proceso no hubiera sido el mismo.

RESUMEN

VELÁZQUEZ PACHECO EDUARDO. Efecto de detoxificantes sobre el crecimiento del pollo y la integridad hepática y renal. (Bajo la dirección de: Dr. Arturo Cortés Cuevas y MSc Ernesto Ávila González).

Con la finalidad de estudiar la inclusión de dos detoxificantes de micotoxinas en dietas contaminadas de maíz-soya, se realizó el presente experimento. Se utilizaron 160 pollos machos de estirpe Ross 308 de 1 a 21 días edad. Se empleó un diseño completamente al azar con 4 tratamientos con 5 repeticiones de 8 aves cada una. Los tratamientos fueron: T1.- Dieta testigo contaminada con micotoxinas (aflatoxinas 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$; fumonisinas 22 $\mu\text{g}/\text{kg}$; Toxina T2 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$; y zearalenona 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$) sin detoxificante; Toxina T2.- Como 1 + 1 kg/ton Klin-sil®; T3.- Como 1 + 1 kg/ton. Free-Tox® y T4.- Como 1 + 2 kg/ton. Free-Tox®. Los resultados indicaron diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos con menor ganancia de peso en el tratamiento sin detoxificante y un mayor peso en los pollos del tratamiento 4. Los datos de peso del intestino, hígado, timo y bolsa de Fabricio fueron similares ($P > 0.05$) entre tratamiento; sin embargo, en el peso de los intestinos hubo diferencia ($P < 0.05$) entre tratamientos con menor peso en los tratamientos con detoxificantes respecto al tratamiento 1. En la evaluación histopatológica de hígados y riñones, las lesiones fueron menos severas en los tratamientos que recibieron los detoxificantes en comparación con la dieta testigo. Para consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad y pigmentación de la piel no existió diferencia estadística ($P > 0.05$) entre tratamientos. De los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir que la adición de los detoxificantes Free-Tox® y Klin-sil® mejoraron la ganancia de peso y disminuyeron severidad de las lesiones en hígados y riñones de los pollos en crecimiento alimentados con dietas maíz-soya con dosis bajas de micotoxinas, siendo mejor el empleo de Free-Tox® a una dosis 2 kg/ton.

INTRODUCCIÓN

SITUACIÓN ACTUAL DE LA AVICULTURA

La avicultura en México representa un sector económicamente importante debido a que en el año 2017, según la FAO, se produjo alrededor 3,383,287 toneladas de carne de pollo con un valor de 92, 053 millones de pesos, siendo el 34.7% del total de productos de origen animal siendo México el sexto país con mayor producción de pollo, donde Veracruz (12%), Aguascalientes (11%) y Querétaro (10%) son los estados más sobresalientes. Según datos de la Unión Nacional de Avicultores (UNA, 2018), el consumo per cápita de la carne de pollo en el 2017 fue de alrededor de 32.24 kg, lo cual se prevé un aumento a 34.8 kg en 2018. En el 2017 se produjeron casi 3.5 millones de toneladas de carne de pollo, siendo el cárnico con mayor producción en México, además de haber importaciones de 15 mil toneladas más que en 2016, para un total de 517 mil toneladas. La comercialización de pollo en México se lleva cabo de la siguiente manera: vivo 37%, rosticero 35%, mercado público 11%, supermercado 5%, piezas 9% y productos de valor agregado 3 por ciento.

En el 2017, la industria avícola consumió alrededor de 9.99 millones de toneladas de granos forrajeros, 3.17 millones de toneladas de pastas de oleaginosas y 2.70 millones de toneladas de otros ingredientes, usados comúnmente para la preparación de alimentos balanceados.

En el plano internacional, nuestro país es actualmente el sexto lugar en producción de pollo, detrás de países como: Estados Unidos (18.6 millones de toneladas, Brasil (13.2 millones de toneladas), China (11.6 millones de toneladas), India (4.4 millones de toneladas) y Rusia (3.9 millones de toneladas).

MICOTOXINAS

El término “Micotoxina” proviene de “myke” que significa hongo y de “toxicon”, que significa veneno. Las micotoxinas son metabolitos de bajo peso molecular producidas por hongos (generalmente mohos) que pueden estar presentes en el alimento (principalmente en los cereales), y producen daños a la salud humana y animal, así como pérdidas económicas para el sector productivo.

Hay aproximadamente más de 400 toxinas producidas por 350 especies de hongos que se han aislado (Brase, *et al* 2009). Una especie de hongo puede producir varios tipos de micotoxinas, así como un tipo de micotoxina puede ser producida por varios tipos de hongos. De las micotoxinas más importantes para el sector avícola se encuentran las aflatoxinas, ocratoxinas, fumonisinas y tricotecenos.

El consumo de toxinas, así como el desperdicio de alimentos cuestan millones de dólares anualmente en pérdidas a nivel mundial en salud humana, animal y productos agrícolas (Vasanthi y Bhat, 1998).

Los hongos productores de micotoxinas son organismos en su mayoría mesófilos aerobios estrictos que son capaces de sobrevivir en ambientes con poca agua disponible ($a_w < 0.65$), con una temperatura que va desde los 10 a 40°C, donde la óptima va en el rango de 25 a 35 °C; en un rango de pH que va desde 4.5 a 8.0 y su óptimo es de 5.5 a 7.5 (SAGARPA, 2016). Los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, a diferencia de los hongos de campo, son considerados hongos de almacén, y su principal característica es que tienen la habilidad para invadir los granos con contenidos de humedad relativamente bajas, en cereales con contenidos de humedad mínimas del 13.0% y en oleaginosas de 8 a 9%. Estos hongos pueden crecer en un amplio rango de temperaturas. Especies de *Penicillium* crecen de 5 a 40 °C, y las de *Aspergillus* de 0 a 55 °C. Los hongos del género *Fusarium*, por su parte, sobreviven en a_w desde 0.92 en donde su crecimiento es mínimo y en un óptimo de 0.994 a 0.98; así como en una temperatura óptima de 20 °C a 35 °C, y un pH óptimo de 5.5 (Marin *et al*, 1995). Su crecimiento en el alimento se puede deber a distintas circunstancias que afectan al alimento, como son el lugar donde se cultivó, secado del grano, fecha de cosecha (Murugestan, *et al*, 2015), así como en condiciones deficientes de almacenamiento con temperatura, humedad y ventilación inadecuados (Shimada, 2009). Una buena ventilación, adición de conservadores (como ácidos orgánicos), son útiles para evitar el crecimiento de hongos durante el almacenamiento y la presencia de micotoxinas.

En el 2013, se encontró que aproximadamente el 85% de alrededor de 3,000 muestras de granos estuvo contaminada con al menos una micotoxina, mientras que del año 2004 al 2013 se encontró un promedio de 76% de las muestras contaminadas, siendo mayor su

detección que en años anteriores, debido posiblemente al avance en los métodos de detección de micotoxinas y su sensibilidad (Murugesan, 2015).

La únicas micotoxinas que se encuentran limitadas en el marco legal en México son las aflatoxinas, marcada en la Norma Oficial Mexicana referente a los Productos y Servicios, Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal (NOM-188-SSA1-2002), menciona que los límites de uso de cereales sólo son limitados por el contenido de aflatoxinas, donde el límite permisivo para consumo humano no debe exceder los 20 µg/kg, mientras que para el uso animal van de los 21 µg/kg a 300 µg/kg (21 a 300 ppb). Sin embargo la Unión Europea posee regulaciones para los granos se encuentran contaminados por otras micotoxinas, como son las Fumonisin, cuyo límite debe ser en maíz no procesado no mayor a 4 ppm y para alimentos destinados para consumo humano de 1 ppm; para las ocratoxinas un máximo de 5 µg/kg (trigo, cebada y centeno); para Deoxinivalenol de 1.25 ppm para cereales no procesados; y para Zearalenona 100 µg/kg, todas estas para cereales no procesados. Para consumo humano en alimentos procesados y para niños y bebés, la concentración de micotoxinas debe ser menor (Comisión Europea de Regulación, 2006).

La contaminación de micotoxinas en los alimentos, es un factor tóxico que ha sido subestimado. Las micotoxinas son conocidas por retrasar el crecimiento, afectar la eficiencia alimenticia, incrementar la mortalidad y comprometer el sistema inmune de los pollos (Awad et al., 2006; Yegani et al., 2006; Smith et al., 2012).

AFLATOXINAS

Son producidas por el hongo *Aspergillus* spp., principalmente *A. flavus* y *A. parasiticus*. Las principales formas de las aflatoxinas son la aflatoxina B₁ y B₂, G₁ y G₂; siendo la aflatoxina B₁ el componente más común y biológicamente activa (Busby y Wogan, 1981). Las aflatoxinas causan deficiente ganancia de peso, baja eficiencia alimenticia, descenso en la producción, aumento de grasa en hígado, cambio en peso de órganos, reducción de proteínas séricas, mala pigmentación, daño en el hígado, disminución en la actividad de varias enzimas que actúan sobre el almidón, las proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, e inmunosupresión. (Edds y Bortell, 1983; Leeson et al., 1995; Devgowda y Murthy, 2005).

Las aflatoxinas se metabolizan, biotransforman, y se almacenan en las aves principalmente en el hígado (Gregory y Manley, 1982), molleja y pechuga (Trucksess et al., 1983; Wolzak et al., 1985; Oliveira et al., 2000); y pueden almacenarse en los productos de origen animal como el huevo y la carne, además de tener un efecto negativo en la salud humana (Trucksess et al., 1983).

OCRATOXINAS

Son producidas por el grupo de hongos de *Aspergillus* y *Penicillium*, siendo la ocratoxina A de mayor prevalencia en el grupo. En altas concentraciones dietarias, pueden provocar signos clínicos en aves que incluyen debilidad, anemia, disminución en el consumo de alimento, retraso en el crecimiento y producción de huevo, mal emplume, y excesiva mortalidad (Hamilton et al., 1982; Gibson et al., 1989; Huff et al., 1988).

Los cambios pato-fisiológicos que provocan incluyen disminución de la concentración urinaria y tasa de filtración glomerular, disfunción tubular proximal, así como degeneración y alteración ultraestructural en la integridad renal (Huff y Hamilton, 1975; Glahn et al., 1988, 1989., Murugesan et al., 2015). La ocratoxina también incrementa los pesos relativos del hígado, bazo, páncreas, proventrículo, ventrículo, y también han sido reportados los testículos (Gibson et al., 1989; Huff et al., 1988, Murugesan et al., 2015).

FUMONISINAS

Son un grupo de micotoxinas provenientes de *Fusarium verticillioides*. Se han identificado 6 diferentes (A₁, A₂, B₁, B₂, B₃, B₄), (Plattner et al., 1992). La fumonisina B₁ se ha reportado como predominante de *Fusarium verticillioides*. También se ha encontrado que otras especies de *Fusarium* y *Alternaria* son capaces de producir Fumonisina B₁ (Chen, et al., 1992; Murugesan et al., 2015). Entre las especies susceptibles a las fumonisinas, los pollos y pavos son relativamente resistentes a los efectos de la fumonisina B₁. Se ha reportado efecto tóxico en raciones con 75 a 400 mg/kg de Fumonisina B₁ por 21 días (Bermudez et al., 1995; Brown et al., 1992; Weibking et al., 1993). Los cambios reportados en los pollos fueron necrosis hepática e hiperplasia de conductos biliares (Ledoux et al., 1992; Weibking et al., 1993). El rendimiento del pollo de 7 semanas de edad no se ha visto afectado por el consumo de fumonisina B₁ en dosis de 50 mg/kg (Broomhead et al.,

2002). El mecanismo por el cual las fumonisinas causan toxicidad, aparenta ser por trastorno en el metabolismo de los esfingolípidos (Wang et al., 1991).

TRICOTECENOS

Son micotoxinas con la misma estructura en común e incluyen a la toxina T-2, diacetoxyscirpenol, monoacetotoxyscirpenol, neosolaniol, 8-acetoxineosolaniol, 4-diacetilneosolaniol, nivalenol. 4- acetoxynivalenol (Fusarenona X), deoxinivalenol (Vomitoxina), y 3-acetildeoxynivalenol (Leeson et al., 1995). Los efectos tóxicos de los tricotecenos incluyen reducción del consumo de alimento y deficiente ganancia de peso (Wyatt et al., 1978; Chi et al, 1977; Huff et al., 1988) lesiones orales, retraso en el crecimiento, emplume anormal, producción de huevo disminuida y mala calidad de cascaron, atrofia de la bolsa de Fabricio, cambios peroxidativos en hígado, coagulación sanguínea anormal, leucopenia y hipoproteinemia, e inmunodepresión (Leeson et al., 1995; Danicke, 2002). El rendimiento en pollo de engorda se ve afectado en concentraciones dietarias de 3-4 mg/kg de la toxina T-2 (Danicke, 2002). Se ha encontrado que la toxina T-2 puede ser una sustancia inmunoestimulante (en casos de dosis bajas y de manera crónica) o inmunosupresora (en casos de dosis altas y de manera aguda) (Shinozuka et al., 1997; Pestka et al., 2004).

ZEARALENONA

Es producida principalmente por los hongos del género *Fusarium* spp. Principalmente por *Fusarium roseum* generando la toxina en condiciones de temperatura y humedad altas, seguido de temperaturas bajas. En estudios experimentales, se ha encontrado una insensibilidad relativa a los efectos de esta micotoxina. Sin embargo se han encontrado efectos negativos en gallinas y pollos con lesiones como ascitis y quistes dentro y fuera del oviducto; oviducto inflamado y obstruido con tejido fibrinoso; y en algunos oviductos sufren ruptura (Shivaprasad, 2013).

DETOXICACIÓN DEL ALIMENTO CONTAMINADO CON MICOTOXINAS

Para aminorar el efecto tóxico de las micotoxinas se utilizan distintas estrategias con el uso de productos que forman compuestos estables con las micotoxinas o transforman las micotoxinas en metabolitos no tóxicos (Huwig et L., 2001; Boundergue et al., 2009.,

Pappas et al., 2014). Así mismo, la biodetoxicación o biotransformación es el uso de enzimas y probióticos para catabolizar la micotoxina o transformarla a compuestos no tóxicos (Murugesan *et al.* 2015).

Se han buscado diversas maneras para realizar la detoxificación del alimento contaminado de manera física, química y biológica. Los métodos físicos van desde la separación de material fluorescente al ser expuesto a luz UV, o aplicación de radiación gamma con aplicación de ^{60}Co . Los métodos químicos incluyen la aplicación de sustancias ácidas o alcalinas, agentes oxidantes o reductores, y el uso de agentes fijadores (secuestrantes o quelantes) de las micotoxinas. Dentro de los métodos biológicos se han usado microorganismos como *Pseudomonas maltophilia*, *Rhizopus oryzae*, *tetrahymena piriformis*, *Flavobacterium aurantiacum* o glucomananos de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* (Moerck et al., 1980; Doyle et al., 1982 Roob, 1993; Márquez y Tejada, 1995; Singh, 1995; Basappa y Shanta, 1996; Grant y Ohillips, 1998; Afzali y Devgowda, 1999; Galvano et al., 2001; Aravind et al., 2003; Devgowda y Murthy, 2005).

QUELANTES DE MICOTOXINAS

Un detoxificante es una sustancia que es capaz de evitar o disminuir el daño que puede producir una toxina. Se mezclan en la dieta, tienen capacidad de formar complejos con las micotoxinas, evitando que el tracto gastrointestinal del animal las absorba. Se encuentran principalmente el carbón activado y los aluminosilicatos (Sumano et al., 2015). El carbón activado presenta varios sitios de unión activo en donde se puede realizar la adsorción. Es uno de los más importantes para la zearalenona, deoxinivalenol, nivalenol, etc. El carbón activado dependiendo de la variedad puede presentar una superficie específica de adsorción de $1000 \text{ m}^2/\text{g}$, los cuales se debe a la porosidad que presentan, donde los microporos son los que mayor contribución tienen. Hay que tener en cuenta el tamaño y estructura del adsorbato o molécula a secuestrar, ya que puede haber superficie de adsorción pero por las características del adsorbato, no haya una interacción. Igualmente se debe tomar en cuenta la geometría del adsorbato y la del poro, siendo que las sustancias pueden entrar en poros con cierta geometría y no hacerlo en otras.

Varias arcillas como son las zeolitas, bentonitas, y la clinoptilolita se han usado como adsorbentes naturales y se ha evaluado su habilidad de adsorber las aflatoxinas (Miazzo et

al., 2000, 2005; Oguz et al., 2000; Rosa et al., 2001; Dáković et al., 2008). Sin embargo se ha encontrado que la bentonita de sodio actúa mediante una adsorción no selectiva hacia otras sustancias y reduciendo su biodisponibilidad, en ese caso a la monensina (Magnoli, et al., 2011).

ALUMINOSILICATOS

Los aluminosilicatos son sustancias rocosas formadas principalmente por aluminio, silicio y oxígeno. Poseen cierta porosidad por su estructura cristalina con ventanas, jaulas y superjaulas. Los aluminosilicatos naturales tienen poros de tamaño limitado y son de naturaleza hidrofílica, mientras que los aluminosilicatos sintéticos pueden tener propiedades hidrófobas, y pueden absorber y pueden adsorber compuestos orgánicos de tamaño más pequeño que el de sus poros. Los aluminosilicatos hidrofóbicos deben de ser sintetizados, ya que no se encuentran en la naturaleza. Su estructura básica es un tetraedro formado por cuatro átomos de oxígeno enlazados por un átomo de silicio por medio de sus cuatro electrones de valencia formando cristales. Sus propiedades principales son: la capacidad de intercambio selectivo de iones; adsorción de moléculas en poros siempre uniformes; catalizador de ácido sólido, puede funcionar como ácido fuerte cuando un hidrógeno es sustituido, por un electrón de valencia adicional, o un intercambio isoelectrónico con el aluminio; función de tamiz o formación molecular de mallas; son metaestables mientras se mantengan estables las condiciones de temperatura y pH no se ven afectados por oscilaciones grandes de presión o radiación. Por estas funciones logran una acción secuestrante principalmente para aflatoxinas, T-2, Zearalenona, vomitoxina (DON), y ocratoxina. En los jugos digestivos se mezclan los aluminosilicatos con los líquidos y se genera su activación; se produce una acción electrostática entre los hidrogeniones de los aluminosilicatos con el grupo oxidrilos de las micotoxinas (polares). Cuando se realiza esta unión, se produce un complejo estable que no tiene la capacidad de atravesar las paredes intestinales, por lo que se elimina en las excretas (Sumano et al., 2015).

Ledoux et al. (1998) encontraron que el aluminosilicato de sodio-calcio hidratado reduce dramáticamente la frecuencia y severidad de los daños hepáticos asociados a la aflatoxicosis. Además se menciona que los aluminosilicatos hidratados de sodio-calcio mejoran la ganancia de peso y parcialmente aminoran los daños de la aflatoxicosis en dietas

contaminadas con Aflatoxina B₁ en comparación con dieta control (Chen et al, 2014). Sin embargo, los aluminosilicatos hidratados de sodio-calcio reducen la biodisponibilidad de la aflatoxina B₁ pero no completamente para prevenir los daños histopatológicos en hígado (Neeff et al., 2013).

Algunos estudios como el de Ledoux et al. (1999) indican que el aluminosilicato hidratado de sodio y calcio a nivel *in vitro* fue benéfico al unirse a la Aflatoxina B₁ (AFB₁) en un 100%, además encontraron *in vivo* que fue efectivo a una dosis del 1% para prevenir los efectos tóxicos de la aflatoxina B₁ a 4mg/kg que se pueden presentar en las dietas de pollo de engorda donde el aluminosilicato evitó una disminución del rendimiento productivo del pollo, siendo que en el grupo con aflatoxinas llegó a una disminución de hasta el 25% y consumo de alimento hasta en un 22%, peso de los órganos, química del suero, y disminuyó cambios histopatológicos (como hiperplasia y proliferación de conductos biliares, infiltrado heterofílico periportal, y adelgazamiento del mesangio).

Kubena et al. (1993) encontraron que el aluminosilicato hidratado de sodio y calcio a una dosis de 0.5% puede contrarrestar los efectos negativos en dietas contaminadas con 3.5 mg/kg de la aflatoxina (AF), sin embargo con 5.0 mg/kg de diacetoxiscirpenol (DAS), no tuvo el mismo efecto.

En otro estudio realizado por Kubena et al. (1998) emplearon el aluminosilicato hidratado de sodio y calcio a una dosis de 0.8% y encontraron una disminución en los efectos tóxicos de aflatoxinas a una dosis de 5 mg por kg de alimento, pero no mostró efecto cuando la dieta contenía 8 mg/kg de T₂.

Zhao et al. (2010) compararon un aluminosilicato hidratado de sodio y calcio contra un producto basado en arcillas y paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*, estos autores observaron que el aluminosilicato hidratado de sodio y calcio disminuyó el efecto negativo de la aflatoxina B₁ en el crecimiento de los pollos y daño hepático. Ambos compuestos lograron reducir el daño provocado por la aflatoxina. Sin embargo, las paredes celulares tuvieron un efecto menor estadísticamente que el aluminosilicato.

En otro estudio llevado a cabo por Neef et al. (2013), donde encontraron en pollos de engorda de 21 días que en dietas de maíz-soya contaminadas con Aflatoxina B₁ a una dosis

de 2.5 mg/kg, el aluminosilicato hidratado de sodio y calcio al 0.5% en la dieta disminuye las concentraciones de residuos de aflatoxinas (Aflatoxina B1, aflatoxicol, B2 y G1), sin embargo la evaluación histopatológica demostró que el aluminosilicato hidratado de sodio y calcio no evita las lesiones asociadas a la aflatoxicosis; es decir, el aluminosilicato hidratado de sodio y calcio reduce la biodisponibilidad de las aflatoxinas pero no lo suficiente para prevenir los efectos tóxicos.

Por otro lado, Chen et al. (2014) encontraron que el aluminosilicato hidratado de sodio y calcio al 0.5% disminuyó significativamente los daños provocados por aflatoxina (a una dosis de 0.5, 1, y 2 mg/kg) en parámetros serológicos (albúmina, proteína total, globulinas, fósforo, glucosa, fosfatasa alcalina, creatina fosfoquinasa), evitó un aumento de peso hepático, e incrementó la expresión de catalasa y superóxido dismutasa; además observaron una tendencia a una mayor ganancia de peso aunque esta no fue significativa.

CLINOPTILIOLITA

Las Zeolitas son cristales microporosos, naturales o sintéticos, con estructuras bien definidas que contienen tetraedros de AlO_4 y SiO_4 unidos a través de átomos de oxígeno en común. (Pavelić et al., 2001). La Clinoptilolita es una de las variedades de las zeolitas naturales y tiene un volumen de poros del 35% con propiedades adsorbentes fuertes y capacidad de cambio de iones (Leung et al., 2007). Se ha encontrado la clinoptilolita como adsorbente contra la aflatoxicosis (Oğuz et al, 2000; Ortatatli y Oğuz, 2002; Rizzi et al, 2003; Ortatatli et al, 2004) y además no ha afectado significativamente la ganancia de peso en dietas libres de micotoxinas (Ortatatli y Oğuz, 2002).

Ortatatli y Oğuz (2001) encontraron que al adicionar clinoptilolita a una dosis de 1.5 y 2.5 %, a dietas contaminadas con 2.5 mg de aflatoxina para pollos de 21 días de edad reducía los daños provocados por la aflatoxina en hígado (palidez, friabilidad, degeneración grasa e hídrica, hiperplasia de conductos biliares y fibrosis periportal), en riñones (hipertrofia glomerular, aumento de células mesangiales, y degeneración hídrica y grasa), y en bolsa de Fabricio (atrofia y agotamiento de células linfoides). En otro estudio realizado también por Ortatatli et al. (2004) encontraron al evaluar clinoptilolita en la dieta para pollo de engorda a una dosis 15g/ton con una dosis de aflatoxina de 100 ppb, disminuyó el número

de pollos afectados y la severidad de las lesiones en los hígados, aunque no hubo diferencia estadística en cuanto al peso de órganos (hígado, riñón, bazo, timo y bolsa de Fabricio).

Wu et al. (2013) evaluaron clinoptilolita natural y modificada sobre el rendimiento del pollo, morfología y su relación con estado funcional del intestino, pero no encontraron un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre los parámetros productivos del día 1 al 42. Sin embargo, se asoció con una mayor longitud de las vellosidades de la mucosa del yeyuno e íleon en comparación a los controles ($P < 0.05$) con cualquier clinoptilolita. Sin embargo, no hay influencia en la cripta intestinal.

PAREDES CELULARES DE *Saccharomyces cerevisiae*

Se han usado las paredes celulares como aditivos en la alimentación de pollo de engorda y se han observado que hay mejoras en la productividad, asociadas a efectos benéficos en la en la mucosa intestinal como menores lesiones (Santin et al., 2001; Zhang et al., 2005; Baurhoo et al., 2007), y sobre el sistema inmune de la mucosa intestinal (Ferket et al., 2002). Las paredes celulares de levaduras se componen de 30 a 60% de polisacáridos (15 a 30% de éstos de β -1, 3/1, 6 glucanos y 15 a 30% de polímeros de azúcar de mananos), 15 a 30% de proteínas, 5 a 20% de lípidos, y menos de 5% de quitina (Aguilar-Uscanga y François, 2003). La mayor parte de la proteína se encuentra unida a los mannanoligosacáridos. Se ha encontrado que esta fracción de las paredes celulares de la levadura puede actuar como ligandos altamente afines a bacterias patógenas (Spring et al., 2000) y las paredes celulares pueden neutralizar parcialmente los efectos detrimentales de dietas naturalmente contaminadas con micotoxinas (Li et al., 2012) formando complejos estables en el tracto gastro-intestinal (Çelýc et al. 2003; Santin et al., 2003).

Así mismo, se ha encontrado que la adición de levaduras de *S. cerevisiae* es un método alternativo para reducir los efectos adversos de la aflatoxicosis y otras micotoxicosis (Li et al., 2012) formando complejos estables en el tracto gastro-intestinal (Çelýc et al. 2003; Santin et al., 2003).

En algunos estudios como el de Li et al. (2012) estudiaron la inclusión de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* a una dosis de 2 kg/ton en dietas contaminadas naturalmente con aflatoxinas, zearalenona, fumonisina y deoxinivalenol. Estos autores observaron que las paredes celulares evitaban degeneración grasa del hígado y lesiones bazo al realizar la

medición al día 21, en títulos de anticuerpos vacunales contra la Enfermedad de Newcastle, y el peso relativo de la bolsa de Fabricio y timo, así como la expresión de RNAm de interferon γ , interleucina 6 e interleucina 1 β al día 42, por lo que se puede concluir que la adición de paredes celulares neutralizó parcialmente el efecto detrimental provocado por dichas micotoxinas.

Liu et al. (2017) evaluaron la adición de paredes celulares de levaduras en las dietas sobre el rendimiento productivo, lesiones viscerales, integridad intestinal, enterotoxicidad y aislamiento de *Lactobacillus* y bifidobacterias en pollos de engorda desafiados con aflatoxina B1 y enteritis necrótica. Los pollos tratados solo con aflatoxina B1 presentaron disminución significativa en consumo diario de alimento, ganancia diaria de peso, perfiles de RNAm a receptores de inmunoglobulinas polimórficas, Claudina y ocludina; así como un incremento en la severidad de las lesiones hepáticas, endotoxinas séricas, y diamina oxidasa.

ÁCIDOS ORGÁNICOS

Los ácidos orgánicos o sus sales como son el propionato de calcio, propionato de sodio y ácido propiónico (entre otros), son compuestos utilizados en la industria como conservadores, inhibidores de hongos y para mejorar característica del alimento como la digestibilidad.

Higgins y Brinkhaus (1999) indicaron que el uso de varios ácidos orgánicos, en los que destaca el ácido valérico (no utilizado en la industria debido a su fuerte aroma y costo), ácido propiónico y ácido butírico inhibieron los hongos del género *Aspergillus* y *Fusarium* a una dosis de 0.1 y 0.2%; y de este modo utilizarse en la industria para la inhibición del crecimiento y proliferación de los hongos en el alimento, siendo más susceptibles los del género *Fusarium* spp., seguidos por *Aspergillus* spp. y por último al *Penicillium* spp.

En una investigación realizada por Bintivihok y Kositcharoenkul (2006) encontraron en pollos de engorda Arbor Acres de seis semanas que la adición de propionato de calcio reduce la toxicidad en dietas que contienen aflatoxina B1. También encontraron que las dietas que contenían el propionato de calcio tuvieron menores niveles de aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa y γ -ggt respecto a los grupos contaminados con aflatoxina B1 así como un mayor peso, consumo de alimento y conversión alimenticia.

Por otra parte, en un experimento realizado por Moreno et al. (2000) demostraron que el propionato, de calcio, sodio o de amonio inhibió de 0 al 11 % el crecimiento de *Aspergillus* spp., mientras que en el grupo control presentó un crecimiento de hasta el 100% en las muestras tomadas, en condiciones ambientales favorables para el hongo.

Con estos antecedentes, el presente estudio tuvo como finalidad evaluar el efecto de la inclusión de un detoxificante Free-Tox® en dosis preventiva (1 kg/ton de alimento) y a dosis alta (2 kg/ton de alimento), en dietas con maíz amarillo contaminado con concentraciones bajas de micotoxinas en pollos de engorda en crecimiento, de 1-21 días de edad, en comparación a un detoxificante Klinsil® (compuesto por filosilicatos, sílicas, carbón activado, aminoácidos, polímeros y vitaminas).

OBJETIVO

Evaluar la adición de dos detoxificantes en dietas maíz-soya para pollos de engorda de 1 a 21 días de edad, utilizando maíz amarillo contaminado naturalmente con micotoxinas y su efecto en la ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad y pigmentación amarilla de la piel.

Medir el peso de intestino delgado, hígado, bazo, timo y bolsa de Fabricio de los pollos en cada uno de los tratamientos.

Determinar las lesiones macro y microscópicas en muestras de hígado y riñón, en pollos de 21 días de edad tratados con detoxificantes.

HIPÓTESIS

El rendimiento productivo es mayor con la inclusión de detoxificantes, en dietas para pollo de engorda contaminadas naturalmente con micotoxinas respecto al grupo control.

El peso de intestino delgado, hígado, bazo, timo y bolsa de Fabricio serán menores en los pollos tratados con detoxificantes.

Las lesiones histológicas de hígado y riñón son menos severas, en pollos alimentados con dietas adicionadas con detoxificantes, particularmente el aditivo Free-tox.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Ubicado en la calle Manuel M. López s/n colonia Zapotitlán, delegación Tláhuac, Ciudad de México, a una altitud de 2240 msnm.

Se recibieron pollitos Ross 308 machos de un día de edad con un peso promedio de 38.8 g, posteriormente se separaron aleatoriamente para ser alojados y criados en una batería con calefacción eléctrica automatizada de la marca PeterSime, Las aves fueron distribuidas conforme a un diseño completamente al azar, en 4 tratamientos de 5 réplicas con 8 aves

cada una. El agua y el alimento se proporcionaron a libre acceso durante todo el experimento, que tuvo una duración de 21 días.

Las aves fueron vacunadas al día 10 de edad, contra enfermedad de Newcastle cepa La Sota, la cual se aplicó vía ocular además de una vacuna emulsionada vía subcutánea de enfermedad de Newcastle cepa La Sota e Influenza aviar H5N2.

Los tratamientos del estudio quedaron conformados de la siguiente forma:

- 1.-Dieta contaminada con micotoxinas sin secuestrante;
- 2.-Como 1 + 1 kg/ton. de secuestrante Klin-sil®
- 3.-Como 1 + 1 kg/ton. de Free-Tox®
- 4.-Como 1 + 2 kg/ton. de Free-Tox®

El detoxificante de micotoxinas Free-Tox ® contiene los siguientes compuestos;

Aluminosilicato hidratado de sodio y calcio, paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*, clinoptilolita y propionato de calcio las cantidades de los componentes se pueden ver en el Cuadro 1.

El detoxificante Klinsil® contiene los siguientes compuestos:

Filosilicatos y sílicas.

Previo al inicio del estudio, las dietas maíz-soya empleadas fueron analizadas con cromatografía líquida de alta eficacia en el laboratorio para determinar el contenido y el tipo de micotoxinas que se puede apreciar en el Cuadro 3.

La dieta se formuló con base en las recomendaciones nutricionales según el manual de la estirpe (Ross 308), en el Cuadro 4 se puede observar la composición de la dieta.

Se anotaron registros semanales de peso corporal, consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad.

Al día 21 de edad de los pollos, se realizó la medición de la pigmentación amarilla cutánea en vivo en la región del apterilo lateral debajo del ala con un Colorímetro de Reflectancia Minolta CR-400. La lectura se tomó en la zona aptérica lateral izquierda (región de la vena de la grasa de la pechuga) de 20 pollos por tratamiento. También se sacrificaron de forma

humanitaria 5 aves por tratamiento (uno por cada réplica), para extraer el hígado y riñón para realizar estudios de histopatología.

Los procedimientos de manejo realizados en las aves del presente experimento fueron aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUA-FMVZ-UNAM).

EVALUACIÓN PATOLÓGICA DE LAS MUESTRAS

Macroscópicamente se evaluó en hígado la presencia de palidez y aumento de tamaño; así como, a nivel histológico se evaluó lesiones como congestión de sinusoides, degeneración hidrónica y/ grasa, proliferación de conductos biliares, necrosis, e infiltrado nodular, periportal o perivascular de tipo linfocítico o heterofílico. En los riñones se evaluó a nivel macroscópico coloración, presencia de hemorragias y tamaño; mientras que histológicamente se evaluó la presencia de necrosis tubular, degeneración tubular, nódulos linfoides, infiltración intersticial linfocítica o heterofílica.

Además se realizó el pesaje de distintos órganos (intestino, hígado, bazo timo y bolsa de Fabricio).

Las variables ganancia de peso, consumo, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad y pigmentación en vivo, se les realizó un análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar empleando el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \epsilon_{ij}$$

Donde: Y_{ij} = variable a evaluar

μ = media general

t_i = efecto de i -ésimo tratamiento

ϵ_{ij} = efecto de error experimental

En el caso de encontrar diferencia significativa ($P < 0.05$) en las variables evaluadas, se realizó la comparación de medias mediante la prueba de Tukey y se estableció un nivel de significancia de ($P < 0.05$). Los resultados de las variables obtenidas fueron analizados para verificar el cumplimiento de los supuestos de normalidad mediante la prueba de W de

Shapiro Wilk y la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene, fijando un nivel de significancia del 5% para ambas pruebas.

La elaboración de la base de datos se realizó con el programa Excel® 2013 de Microsoft® y se utilizó el programa JMPTM Desing of Experiments, versión 11.0.0 (2013) para el análisis estadístico de los mismos.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en 21 días de experimentación para ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y pigmentación amarilla en vivo se pueden observar en el Cuadro 5. Los datos indicaron que hubo diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos, con una mayor ganancia de peso en los tratamientos 2, 3 y 4, contaminado respecto a los tratamiento 1 o testigo. En estos tratamientos se redujo el impacto de las micotoxinas, por los detoxificantes que presentaron en promedio de 7 a 9% más de peso respecto al tratamiento sin detoxificante de micotoxinas. El tratamiento 4 con la mayor dosis del detoxificante (2 kg/ton) fue estadísticamente superior. Para consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad no existió diferencia ($P > 0.05$) entre tratamientos. Los datos obtenidos de pigmentación de la piel en vivo tampoco reflejaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos, solo se observó una tendencia numérica a ser mejor la pigmentación de la piel en los pollos tratados con secuestrantes de micotoxinas.

En el Cuadro 7, se muestran los porcentajes del peso de intestino, hígado, bazo, timo y bolsa de Fabricio. Se puede apreciar que el peso de los intestinos fue diferente ($P < 0.05$) entre tratamientos, siendo más bajo en los tratamientos 2, 3 y 4, respecto al tratamiento 1. Sin embargo, el peso de hígado, bazo, timo y bolsa de Fabricio fue similar entre tratamientos ($P > 0.05$).

En el Cuadro 7, se puede observar un resumen de la evaluación histopatológica de los hígados. Se observó degeneración vacuolar, infiltrado linfocitario periportal, infiltrado heterofilico periportal y cúmulos linfoides en menor porcentaje en los pollos que recibieron tratamiento con los detoxificantes. En el Anexo 2 se presentan las imágenes de los hígados y las fotomicrografías de las lesiones histológicas.

En el Cuadro 9, se muestran los datos promedio de la evaluación histopatológica renal. Se observó degeneración tubular y necrosis tubular de los riñones. Se puede apreciar nuevamente que los tratamientos con detoxificantes, tuvieron menor grado de lesión en los pollos que recibieron detoxificante respecto al tratamiento sin detoxificante. En el Anexo 2 se presentan las imágenes de los riñones y las fotomicrografías de las lesiones histológicas.

A nivel histológico el tratamiento que presentó un menor grado de lesión fue el tratamiento 3, no así en los demás tratamientos donde existió mayor grado de lesión en riñon.

DISCUSIÓN

En los resultados obtenidos en ganancia de peso se observó un efecto benéfico significativo al adicionar los detoxificantes de micotoxinas a 1 kg por tonelada. Sin embargo, se mejoró aún más, cuando uno de ellos se incluyó en la dieta a 2kg por tonelada. Estos datos concuerdan en parte con los resultados obtenidos por Chen et al. (2014), quienes incluyeron un detoxificante con un ingrediente también empleado en este estudio a base de aluminosilicato hidratado de calcio y sodio a una dosis de 0.5kg en dietas para pollos de engorda y observaron una mayor ganancia de peso respecto a la dieta control negativo. Mgbeahurike et al. (2018) demostraron que la adsorción de las micotoxinas influye positivamente en los parámetros productivos, donde evaluaron la inclusión de bentonita, carbón activado y tierra de Fuller en dietas contaminadas con aflatoxina a una dosis de 120 ppb y encontraron que mejoró en 63, 65 y 100% respectivamente la ganancia de peso. Sin embargo, en el presente estudio la diferencia en ganancia no fue tan alta (9% en el tratamiento 4, con dosis de 2 kg/ton de detoxificante). Además, no existió diferencia estadística a la inclusión del detoxificante para consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad y pigmentación in vivo. En otro estudio realizado por Neeff et al (2013) quienes también emplearon un producto a base de aluminosilicato al igual que los anteriores autores a una dosis de 0.5kg/ton en una dieta maíz-soya contaminada con 2.5 ppm por tonelada de aflatoxina donde evaluaron lesiones y el efecto residual de aflatoxinas en hígado y riñón. Estos investigadores encontraron que la inclusión del detoxificante solo disminuyó el efecto residual en hígado y riñón, sin embargo, no evitó la presencia de lesiones en estos órganos causados por las aflatoxinas presentes en el alimento. Estos datos coinciden parcialmente con los estudios realizados por los autores mencionados, ya que el uso de detoxificantes no evitó la presencia de lesiones (leve, moderada y severa) en hígado y riñón.

Al igual que el estudio realizado por Li *et al.* (2018) donde utilizaron 2 kg/ton de alimento de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* y encontraron un mayor rendimiento productivo en los pollos. No obstante, en el presente estudio no se encontró efecto significativo en consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad en contraste con el estudio presentado por Li *et al.* Por otro lado, Bovo *et al* (2015) incluyeron

en dietas para pollos en crecimiento fermento de cerveza con paredes celulares al 1% con 2 mg/kg de aflatoxina y el fermento y la aflatoxina por separado. Estos autores encontraron que la adición del fermento mejoró el consumo de alimento y la ganancia de peso, pero no logró reducir el peso de hígado y riñón. Sin embargo, no pudo prevenir las lesiones en hígado y riñón pero si redujo el grado de lesión en estos órganos. Estos resultados coinciden parcialmente con el presente estudio, en donde se encontró una mayor ganancia de peso y una reducción de la severidad de las lesiones y en el peso en hígado y riñón.

En cuanto a las lesiones histológicas, se encontró menor daño con los detoxificantes, lo que concuerda parcialmente con el estudio realizado por Ortatlati *et al.* (2004) quienes usaron 50 y 100 ppb de aflatoxina con clinoptilolita en la dieta, reduciendo la incidencia de lesiones en los grupos tratados con el detoxificante comparados con el grupo que únicamente tenía aflatoxina. En lo encontrado por Ortatlati *et al.* (2004) no hubo diferencia estadística sobre el peso de hígado, riñón, bazo, timo y bolsa de Fabricio, lo que concuerda parcialmente con el presente estudio, aunque tuvieron lesiones menores el grupo con los pollos tratados con 100 ppb de aflatoxina y clinoptilolita. En el presente estudio se encontró un efecto protector por parte de los grupos tratados con los detoxificantes a prueba. En el estudio realizado por Ledoux *et al.* (1998) quienes usaron un producto a base de aluminosilicato al 1% con un desafío de 4 mg/kg de aflatoxina, encontraron que el producto reduce la incidencia y severidad de los daños histopatológicos, al igual que en el presente estudio. En el presente estudio no hubo una diferencia estadística en el peso de los órganos, a diferencia de los estudios llevados a cabo por Ortatlati y Oğuz (2001) donde utilizaron combinaciones de 1.5 y 2.5% de clinoptilolita, y 2.5 ppm de micotoxinas, se observó una reducción significativa en el peso de hígado y riñón en los grupos tratados con clinoptilolita, ya sea por ser una dosis diferente y una mayor variedad de micotoxinas.

Cabe señalar que el uso de propionato de calcio es principalmente utilizado como inhibidor de crecimiento de hongos como demostró Moreno *et al.* (2000) al probar que propionato el evita una mayor proliferación de los hongos en el alimento, y de ese modo logra una menor dosis de micotoxinas; al igual que como realizaron Higgins y Brinkhaus (1999) al probarlo en comparación a otros ácidos orgánicos, al evaluar in vitro el crecimiento de los hongos, no como detoxificante de micotoxinas. Sin embargo, Bintivihok *et al.* (2006) demostró que

la adición de propionato de calcio en una dosis de 250 ppm a dietas adicionadas con hasta 100 ppb de aflatoxina B1, logró reducir la concentración de aflatoxinas y metabolitos en músculos e hígado.

Se debe destacar que en el presente estudio, el producto empleado fue una combinación de distintos detoxificantes a base de aluminosilicato hidratado de calcio y sodio, clinoptilolita, paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*, y propionato de calcio. Sin embargo, la literatura reporta resultados por separado de cada uno de los ingredientes antes mencionados. Por lo que este estudio, se realizó para evaluar la eficiencia de los detoxificantes en dietas maíz-soya contaminadas en cantidades bajas de micotoxinas y medir su efecto en el rendimiento productivo, peso de diferentes órganos y lesiones macro y microscópicas de hígado y riñón.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en pollos en crecimiento, se puede inferir que existió efecto benéfico de los detoxificantes para reducir el impacto de las micotoxinas en concentraciones bajas (aflatoxinas 15 µg/kg; fumonisinas 22 µg/kg; Toxina T2 100 µg/kg ; y zearalenona 500 µg/kg) en la dieta de los pollos sobre la ganancia de peso en pollos de engorda de 1 a 21 días de edad.

En base a los resultados histopatológicos obtenidos, se puede concluir que la adición de los detoxificantes disminuyó las lesiones macro y microscópicas en hígado y riñón de los pollos.

Finalmente, se observó mayor crecimiento en los pollos cuando recibieron 2kg/ton del detoxificante Free-Tox®.

REFERENCIAS

1. Gentles *et al.*, “Toxicological evaluations of cyclopiazonic acid and ochratoxin A in broilers,” *Poult. Sci.*, vol. 78, no. 10, pp. 1380–1384, 1999.
2. R. Morales-López, E. Auclair, F. García, E. Esteve-García, and J. Brufau, “Use of yeast cell walls; β -1, 3/1, 6-glucans; and mannoproteins in broiler chicken diets,” *Poult. Sci.*, vol. 88, no. 3, pp. 601–607, 2009.
3. A. P. Magnoli *et al.*, “Sodium bentonite and monensin under chronic aflatoxicosis in broiler chickens,” *Poult. Sci.*, vol. 90, no. 2, pp. 352–357, 2011.
4. G. R. Murugesan *et al.*, “Prevalence and effects of mycotoxins on poultry health and performance, and recent development in mycotoxin counteracting strategies,” *Poult. Sci.*, vol. 94, no. 6, pp. 1298–1315, 2015.
5. R. S. Mendoza, S. P. F. Pavía, and J. C. M. Castro, “Micotoxinas : ¿ Qué son y cómo afectan a la salud pública ?,” vol. 18, pp. 0–11, 2017.
6. I. Andretta, M. Kipper, C. R. Lehnen, L. Hauschild, M. M. Vale, and P. A. Lovatto, “Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in growing pigs,” *Animal*, vol. 6, no. 9, pp. 1476–1482, 2012.
7. E. V. Siloto *et al.*, “Lipid metabolism of commercial layers fed diets containing aflatoxin, fumonisin, and a binder,” *Poult. Sci.*, vol. 92, no. 8, pp. 2077–2083, 2013.
8. P. Castillo-Urueta and C. Durán de Bazúa, “Las micotoxinas: metabolitos secundarios de los hongos filamentosos,” *Educ. Química*, vol. 17, no. 2, pp. 122–128, 2006.
9. D. Hoehler and R. R. Marquardt, “Influence of Vitamins e and C on the Toxic Effects of Ochratoxin a and T-2 Toxin in Chicks,” *Poult. Sci.*, vol. 75, no. 12, pp. 1508–1515, 1996.
10. L. F. Kubena *et al.*, “Individual and combined effects of fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks,” *Poult. Sci.*, vol. 76, no. 9, pp. 1239–47, 1997.
11. D. V. Neeff, D. R. Ledoux, G. E. Rottinghaus, A. J. Bermudez, A. Dakovic, R. A. Murarolli, C. A. F. Oliveira; In vitro and in vivo efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to bind and reduce aflatoxin residues in tissues of

- broiler chicks fed aflatoxin B1, *Poultry Science*, Volume 92, Issue 1, 1 January 2013, Pages 131–137, <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02510>
12. liC. Y. Xue, G. H. Wang, F. Chen, X. B. Zhang, Y. Z. Bi, and Y. C. Cao, “Immunopathological effects of ochratoxin A and T-2 toxin combination on broilers,” *Poult. Sci.*, vol. 89, no. 6, pp. 1162–1166, 2010.
 13. C. J. Van Rensburg, C. E. J. Van Rensburg, J. B. J. Van Ryssen, N. H. Casey, and G. E. Rottinghaus, “IMMUNOLOGY , HEALTH , AND DISEASE In Vitro and In Vivo Assessment of Humic Acid as an Aflatoxin Binder in Broiler Chickens,” *Agriculture*, no. April, pp. 1576–1583, 2001.
 14. G. Cortés *et al.*, “Identification and quantification of aflatoxins and aflatoxicol from poultry feed and their recovery in poultry litter,” *Poult. Sci.*, vol. 89, no. 5, pp. 993–1001, 2010.
 15. Ficha técnica. “Free-Tox No escape.” Nutrex.
 16. R. P. Pizzolitto, M. R. Armando, M. A. Salvano, A. M. Dalcero, and C. A. Rosa, “Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* as an antiaflatoxicogenic agent in broiler feedstuffs,” *Poult. Sci.*, vol. 92, no. 6, pp. 1655–1663, 2013.
 17. X. Chen, N. Horn, and T. J. Applegate, “Efficiency of hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of graded levels of aflatoxin B1 in broiler chicks,” *Poult. Sci.*, vol. 93, no. 8, pp. 2037–2047, 2014.
 18. N. K. S. Gowda, D. R. Ledoux, G. E. Rottinghaus, A. J. Bermudez, and Y. C. Chen, “Efficacy of turmeric (*Curcuma longa*), containing a known level of curcumin, and a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of aflatoxin in broiler chicks,” *Poult. Sci.*, vol. 87, no. 6, pp. 1125–1130, 2008.
 19. K. L. Aravind, V. S. Patil, G. Devegowda, B. Umakantha, and S. P. Ganpule, “Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers,” *Poult. Sci.*, vol. 82, no. 4, pp. 571–576, 2003.
 20. A. W. Yunus, A. Blajet-Kosicka, R. Kosicki, M. Z. Khan, H. Rehman, and J. Böhm, “Deoxynivalenol as a contaminant of broiler feed: Intestinal development,

- absorptive functionality, and metabolism of the mycotoxin,” *Poult. Sci.*, vol. 91, no. 4, pp. 852–861, 2012.
21. A. P. Magnoli *et al.*, “Effect of low levels of aflatoxin b1 on performance, biochemical parameters, and aflatoxin b1 in broiler liver tissues in the presence of monensin and sodium bentonite,” *Poult. Sci.*, vol. 90, no. 1, pp. 48–58, 2011.
 22. G. H. Wang *et al.*, “Effects of combinations of ochratoxin A and T-2 toxin on immune function of yellow-feathered broiler chickens,” *Poult. Sci.*, vol. 88, no. 3, pp. 504–510, 2009.
 23. S. Z. Jiang *et al.*, “Effects of Fusarium mycotoxins with yeast cell wall absorbent on hematology, serum biochemistry, and oxidative stress in broiler chickens,” *J. Appl. Poult. Res.*, vol. 23, no. 2, pp. 165–173, 2014.
 24. M. R. Dwyer *et al.*, “Effects of Inorganic Adsorbents and Cyclopiazonic Acidin Broiler Chickens,” *Poult. Sci.*, no. April, pp. 1141–1149, 1997.
 25. M. Denli, J. C. Blandon, M. E. Guynot, S. Salado, and J. F. Perez, “Efficacy of a new ochratoxin-binding agent (Ocratox) to counteract the deleterious effects of ochratoxin A in laying hens,” *Poult. Sci.*, vol. 87, no. 11, pp. 2266–2272, 2008.
 26. Sumano, Héctor; Ocampo, Luis; Gutiérrez, Lilia. *Farmacología veterinaria*. McGraw Hill. Cuarta edición. 2015.
 27. S. Lee *et al.*, “Effects on fumonisin B₁ and mycotoxin binders on growth performance, tibia characteristics, gut physiology, and stress indicators in broiler chickens raised in different stocking densities” *Poult. Sci.*, vol. 97, pp. 845–854, 2018.
 28. Z. I. Tejada-Castañeda *et al.*, “Biodegradation of Aflatoxin Contaminated Chicken Feed” *Poult. Sci.*, vol. 87, pp. 1569–1576, 2008.
 29. Oğuz, H.; Hadimli, H. H.; Kurtoglu V.; Erganis O. Evaluation of humoral immunity of broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. *Rev. Méd. Vet.* 154:483–486. 2003.
 30. Oğuz H.; Keçeci T.; Birdane Y. O.; Onder F.; Kurtoglu V. Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Res. Vet. Sci.* 69:89–93. 2000.

31. M. Ortatatli; H. Oğuz. Ameliorative effects of dietary clinoptilolite on pathological changes in broiler chickens during aflatoxicosis Research in Veterinary Science. Volume 71, Issue 1, August 2001, Pages 59-66.
32. Montes-Luna A. de J., Fuentes-López N. C., Perera-Mercado Y. A, Pérez-Camacho O., Castruita-de León G., García-Rodríguez S. P., García-Zamora M. Caracterización de clinoptilolita natural y modificada con Ca²⁺ por distintos métodos físico-químicos para su posible aplicación en procesos de separación de gases. *Superficies y Vacío* 28(1) 5-11, marzo de 2015. Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales.
33. bins C. and Blunkhaus F. Efficacy of several organic acids against molds. *Journal of Applied Poultry. Res* 8: 480-487. 1999.
34. J. J. Dibner, P. Buttin. Use of Organic Acids as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism *The Journal of Applied Poultry Research*, Volume 11, Issue 4, 1 December 2002, Pages 453–463. 2002.
35. Dyce, K. M., Sack W. O., Wensing, C. O. G. Anatomía Veterinaria. Segunda edición. 1999. Pp: 905-934.
36. DR Ledoux, GE Rottinghaus, AJ Bermudez, M Alonso-Debolt; Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks, *Poultry Science*, Volume 78, Issue 2, 1 February 1999, Pages 204–210, <https://doi.org/10.1093/ps/78.2.204>
37. L. F. Kubena, R. B. Harvey, R. H. Bailey, S. A. Buckley, G. E. Rottinghaus; Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens, *Poultry Science*, Volume 77, Issue 10, 1 October 1998, Pages 1502–1509, <https://doi.org/10.1093/ps/77.10.1502>
38. L. F. KUBENA, R. B. HARVEY, W. E. HUFF, M. H. ELISSALDE, A. G. YERSIN, T. D. PHILLIPS, G. E. ROTTINGHAUS; Efficacy of a Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate to Reduce the Toxicity of Aflatoxin and Diacetoxyscirpenol, *Poultry Science*, Volume 72, Issue 1, 1 January 1993, Pages 51–59, <https://doi.org/10.3382/ps.0720051>
39. Z. Li, Z. B. Yang, W. R. Yang, S. J. Wang, S. Z. Jiang, Y. B. Wu; Effects of feed-borne *Fusarium* mycotoxins with or without yeast cell wall adsorbent on organ

weight, serum biochemistry, and immunological parameters of broiler chickens, *Poultry Science*, Volume 91, Issue 10, 1 October 2012, Pages 2487–2495, <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02437>

40. N Liu, J Q Wang, S C Jia, Y K Chen, J P Wang; Effect of yeast cell wall on the growth performance and gut health of broilers challenged with aflatoxin B1 and necrotic enteritis, *Poultry Science*, Volume 97, Issue 2, 1 February 2018, Pages 477–484, <https://doi.org/10.3382/ps/pex342>
41. Moreno-Martinez E., Vázquez-Badillo M., Facio-Parra F. Uso de sales de ácido propiónico para inhibir la producción de aflatoxinas en granos almacenados de maíz. *Agrociencia* vol. 34, núm 4, Julio-Agosto, 2000, pp 477- 484.
42. Bintivihok A., Kositcharoenkul S. Effect of dietary calcium propionate on performance, hepatic enzyme activities and aflatoxin residues in broilers fed a diet containing low levels of aflatoxin B1. *Toxicon* Vol 47, Issue 1, January 2006. Pp 41-46.
43. European Commission Regulation. 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*. 49: 5-24.
44. SAGARPA, ASERCA, CIMA. Hongos en granos y semillas. *Claridades agropecuarias*, Publicación Periódica ISSN 0188-9974, Número 271, pp 11-14, Año 2016.
45. SAGARPA, ASERCA, CIMA. Micotoxinas en cereales. *Claridades agropecuarias*, Publicación Periódica ISSN 0188-9974, Número 271, pp 15-20, Año 2016.
46. Marín, Sonia; Sanchis Vicente, Magan Naresh. Water activity, temperatura, and pH effects of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates on maize. *Canadian Journal of Microbiology* 41:1063-1070. 1995.
47. Carrie Higgins, Friedhelm Brinkhaus; Efficacy of Several Organic Acids Against Molds, *The Journal of Applied Poultry Research*, Volume 8, Issue 4, 1 December 1999, Pages 480–487, <https://doi.org/10.1093/japr/8.4.480>
48. M. Ortatlati, H, Oguz, M. Karaman and F. Hatipog, “Evaluation of pathological changes in broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure,” vol. 78, pp. 61–68, 2005.

CUADROS

Cuadro 1. Composición de los ingredientes activos de los detoxificantes

Free-Tox	
Composición	Proporción
Aluinosilicato hidratado de sodio y calcio y Clinoptilolita	850 g/kg
Paredes celulares de levadura	100 g/kg
Propionato de calcio	50 g/kg

Klin sil	
Composición	Proporción
Dióxido de silicio	640.00 g/ kg
Óxido de Aluminio	65.00 g/kg
Óxido de hierro	13.00 g/kg
Óxido de potasio	13.00 g/kg
Óxido de calcio	11.00 g/kg
Óxido de sodio	10.50 g/kg
Óxido de magnesio	6.00 g/kg

Cuadro 2. Porcentajes de absorción aproximado de diferentes micotoxinas en pruebas in vitro de los detoxificantes.

Micotoxinas (%)	Free-Tox	Klin-sil
Aflatoxina B1	99.9	95
Ocratoxina A	48.3	75
Zearalenona	76.6	95
Deoxinivalenol (DON)	61.7	55

*Ficha técnica de “Free-Tox No escape.” Nutrex.

**Ficha técnica de “Klin-Sil”, Helm.

Cuadro 3. Concentración de micotoxinas en muestras de maíz y dietas experimentales en el presente estudio

Concentración $\mu\text{g}/\text{kg}$		
Micotoxina	Maíz	Dietas
Toxina T2	190	100
Zearalenona	950	500
Aflatoxinas	28	15
Fumonisin	42	22

Cuadro 4. Composición de la dieta basal experimental suministrada en el presente estudio a pollos en crecimiento.

Ingrediente	Porcentaje
Maíz amarillo	56.796
Pasta de soya	38.120
Aceite de soya	4.136
Ortofosfato	1.855
Carbonato de calcio	1.624
Sal	0.434
DL-Metionina	0.369
L-Lisina HCl	0.255
L-Treonina	0.122
Cloruro de Colina	0.080
Premezcla vitaminas y minerales*	0.300
Bacitracina Zinc 10%	0.030
Antioxidante	0.015

Cuadro 5. Datos promedio de parámetros productivos y pigmentación de la piel en vivo obtenidos en 21 días de experimentación.

Tratamiento	Ganancia* de peso (g)	Consumo acumulado de alimento (g)	Conversión (g/g)	Mortalidad (%)	Pigmentación piel en vivo *b
1	714b	998	1.25	1.6	6.64
2	766a	923	1.23	0.0	6.66
3	764ab	904	1.19	0.0	6.77
4	779a	882	1.18	0.0	6.82
EEM	12.72	16.10	0.034	0.01	0.37

*Peso inicial al día de edad 39g

a,b= Valores con diferente letra son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$)

EEM= Error estándar de la media

Cuadro 6. Datos promedio del peso de diferentes órganos (g/Pv g).

Tratamientos	Intestinos	Hígado	Bazo	Timo	Bolsa de Fabricio
1	8.8a	2.7	0.090b	0.77	0.96
2	7.4b	2.7	0.078b	0.74	0.79
3	7.4b	2.6	0.118a	0.73	0.86
4	6.4b	2.7	0.082b	0.73	0.77
EEM	0.23	0.059	0.005	0.027	0.029

a,b= Valores con diferente letra son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$)

Cuadro 7. Relación de muestras de hígado que presentaron las diferentes lesiones histopatológicas.

Tratamiento	1	2	3	4
Degeneración vacuolar				
Leve	7/10	8/10	9/10	4/10
Moderada	3/10	2/10	1/10	5/10
Severa	-	-	-	-
Infiltrado linfocitario periportal				
Leve	7/10	9/10	7/10	7/10
Moderado	1/10	4/10	3/10	-
Severo	-	-	-	1/10
Infiltrado heterofilico periportal				
Leve	4/10	10/10	-	7/10
Moderado	-	-	1/10	-
Severo	-	-	-	1/10
Cúmulos linfoides en cantidad				
Escasa	7/10	10/10	-	7/10
Moderada	1/10	-	2/10	-
Abundante	-	-	-	1/10

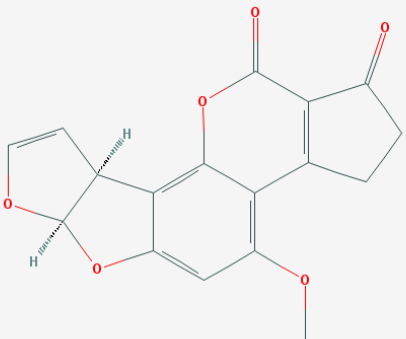
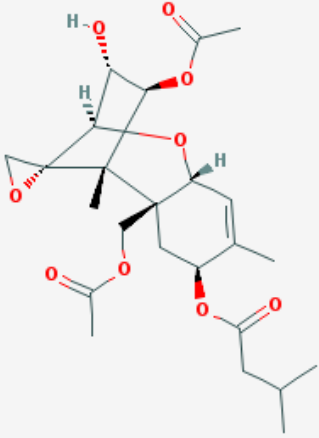
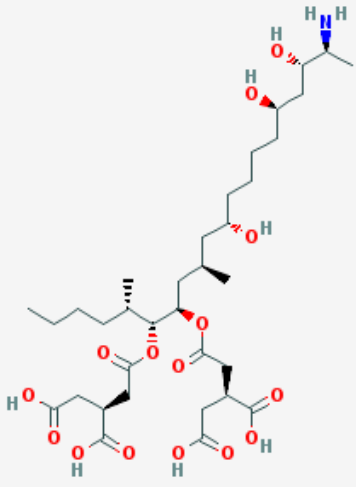
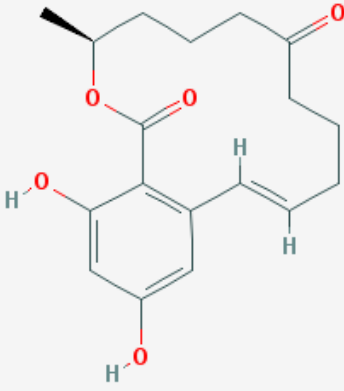
Cuadro 8. Relación de aves que presentaron las diferentes lesiones histopatológicas del riñón.

Tratamiento	1	2	3	4
Degeneración tubular				
Leve	-	3/5	4/5	2/5
Moderada	4/5	2/5	1/5	3/5
Severa	1/5	-	-	-
Necrosis tubular				
Escasa	-	3/5	4/5	2/5
Moderado	4/5	2/5	1/5	3/5
Abundante	1/5	-	-	-
Infiltrado linfocitario intersticial				
Leve	1/5	2/5	4/5	2/5
Moderado	-	-	1/5	3/5
Severo	-	-	-	-
Cúmulos linfoides en cantidad				
Escasa	1/5	-	-	5/5
Moderada	-	-	-	-
Abundante	-	-	-	-

Cuadro 9. Diagnóstico morfológico

Tratamientos	Hígado	Riñón
1	Degeneración vacuolar de leve a moderada generalizada. Hepatitis linfocitaria y heterofílica periportal leve.	Degeneración y necrosis tubular moderada multifocal.
2	Degeneración vacuolar de leve a moderada generalizada. Hepatitis linfocitaria y heterofílica periportal leve a moderada.	Degeneración y necrosis tubular moderada multifocal. Nefritis intersticial linfocitaria leve multifocal.
3	Degeneración vacuolar de leve generalizada. Hepatitis linfocitaria, heterofílica periportal leve.	Degeneración y necrosis tubular leve multifocal. Nefritis intersticial linfocitaria leve.
4	Degeneración vacuolar de leve a moderada generalizada. Hepatitis linfocitaria, heterofílica periportal leve.	Degeneración y necrosis tubular leve a moderada multifocal. Nefritis intersticial linfocitaria y heterofílica leve a moderada.

ANEXO 1: Figuras

Estructura química: aflatoxina B1	Estructura química: toxina T2
 <p>The image shows the chemical structure of aflatoxin B1, a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered furan ring and a six-membered dihydroisocoumarin ring. The structure includes several oxygen atoms, a double bond in the furan ring, and a methoxy group (-OCH3) attached to the dihydroisocoumarin ring.</p>	 <p>The image shows the chemical structure of toxin T2, a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered furan ring and a six-membered dihydroisocoumarin ring. The structure includes several oxygen atoms, a double bond in the furan ring, and a methoxy group (-OCH3) attached to the dihydroisocoumarin ring.</p>
Estructura química: Fumonisin B1	Estructura química: Zearalenona
 <p>The image shows the chemical structure of fumonisin B1, a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered furan ring and a six-membered dihydroisocoumarin ring. The structure includes several oxygen atoms, a double bond in the furan ring, and a methoxy group (-OCH3) attached to the dihydroisocoumarin ring.</p>	 <p>The image shows the chemical structure of zearalenone, a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered furan ring and a six-membered dihydroisocoumarin ring. The structure includes several oxygen atoms, a double bond in the furan ring, and a methoxy group (-OCH3) attached to the dihydroisocoumarin ring.</p>
<p>Fuente: pubChem: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</p>	

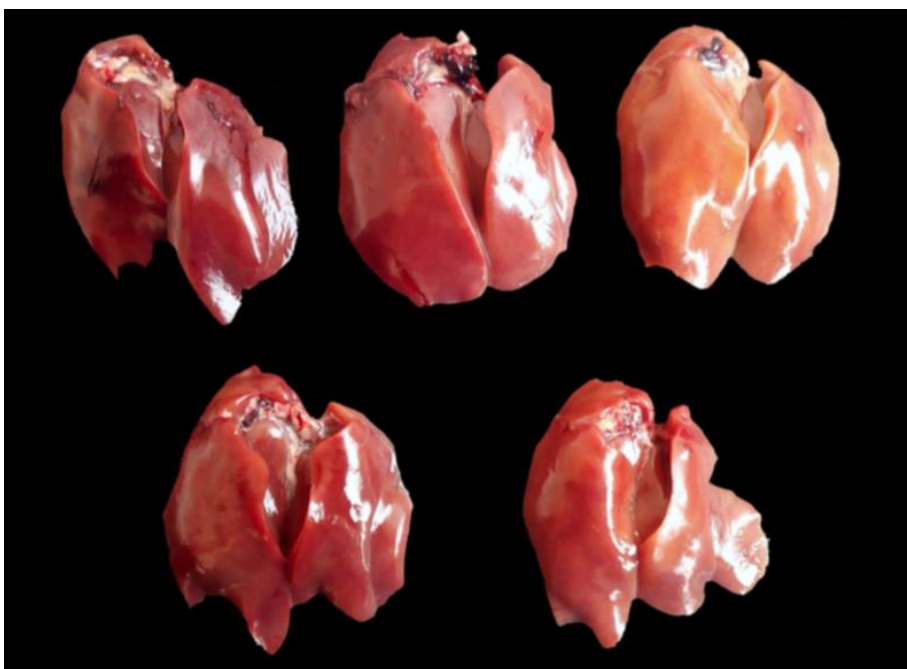
ANEXO 2: Fotografías

Evaluación macroscópica de hígados en los diferentes tratamientos.

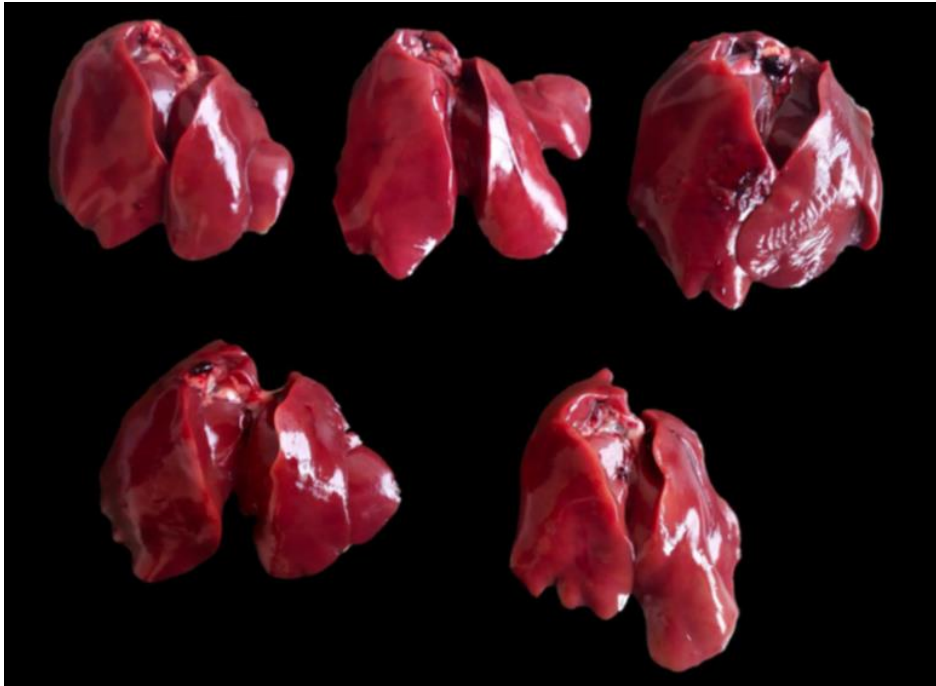
Fotos de Hígados del tratamiento 1



Fotos de Hígados del tratamiento 2



Fotos de Hígados del tratamiento 3

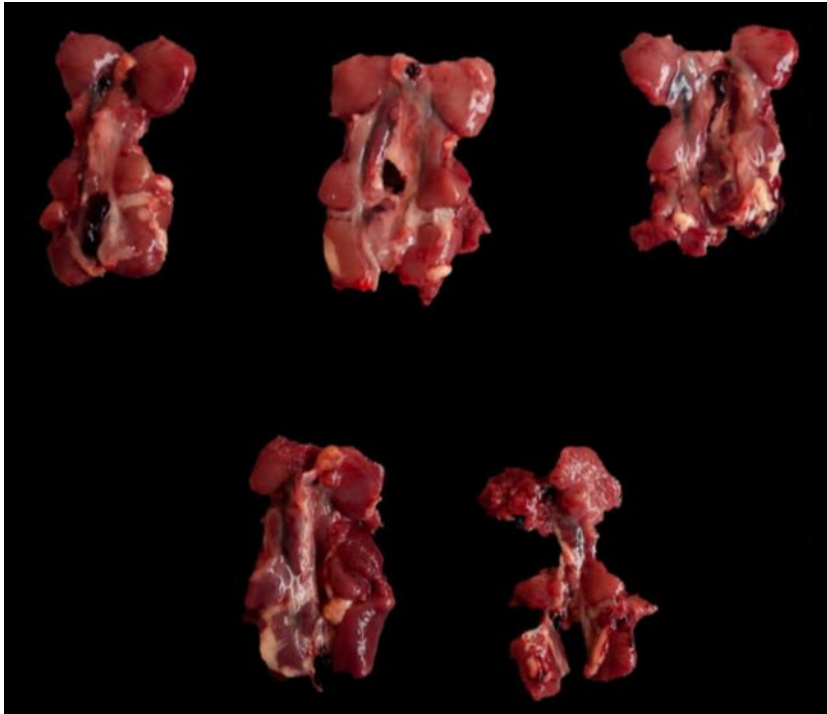


Fotos de Hígados del tratamiento 4

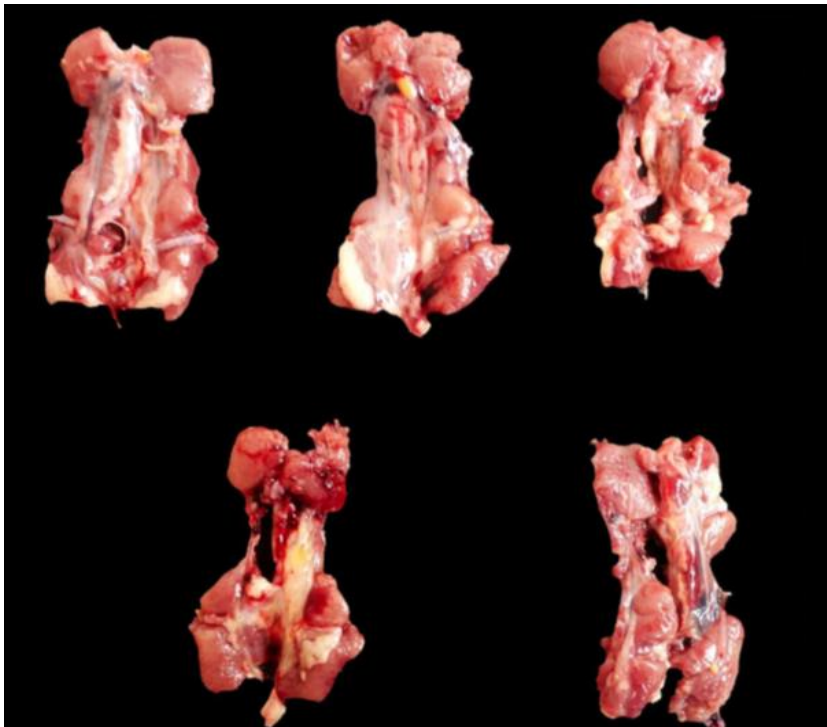


Evaluación macroscópica de los riñones en los diferentes tratamientos.

Fotos de Riñones del tratamiento 1



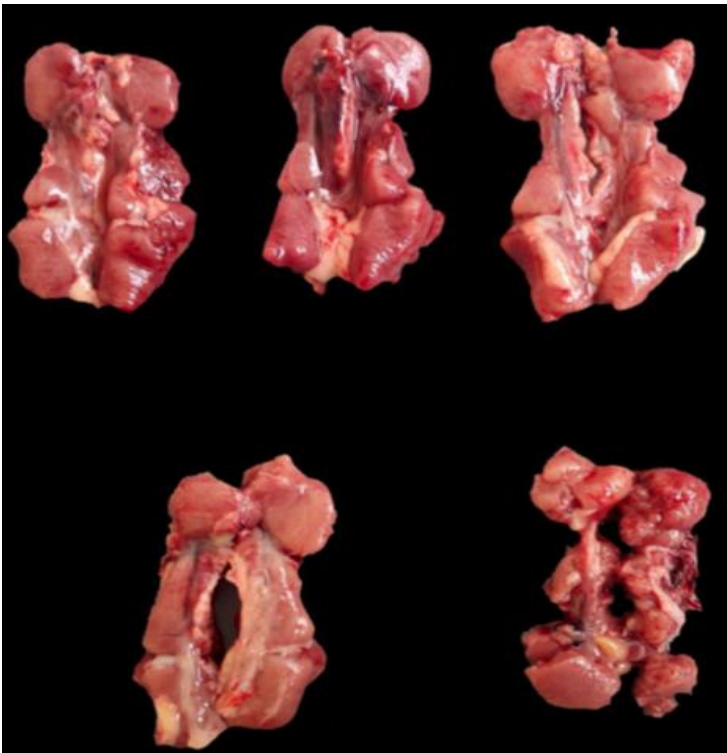
Fotos de Riñones del tratamiento 2



Fotos de Riñones del tratamiento 3



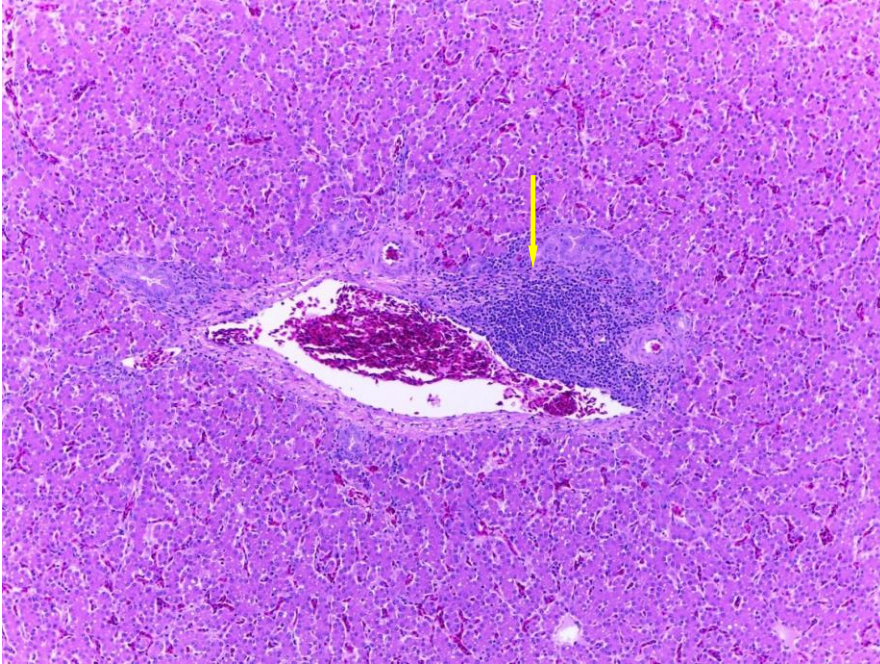
Fotos de Riñones del tratamiento 4



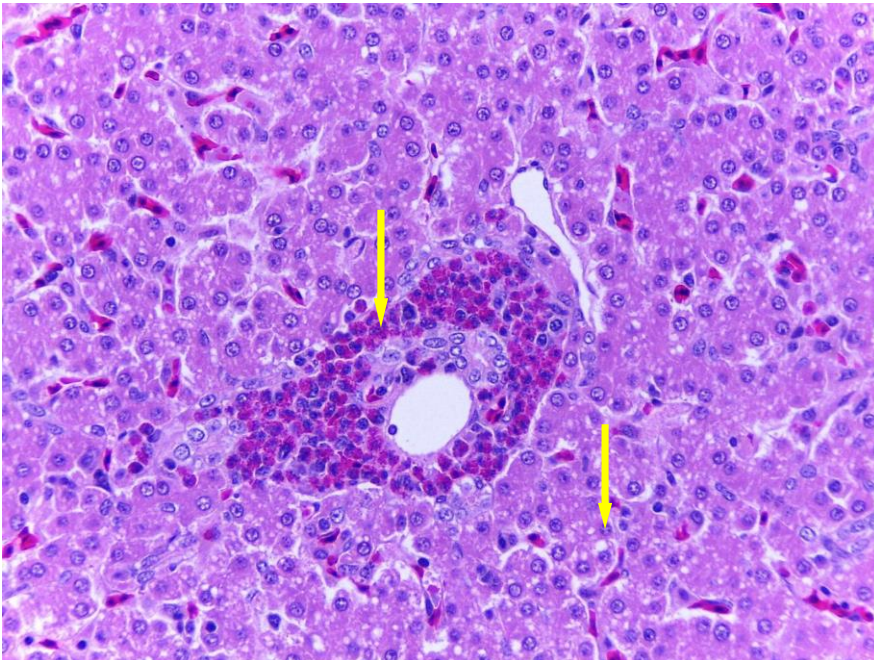
FOTOMICROGRAFIAS

Lesiones hepáticas

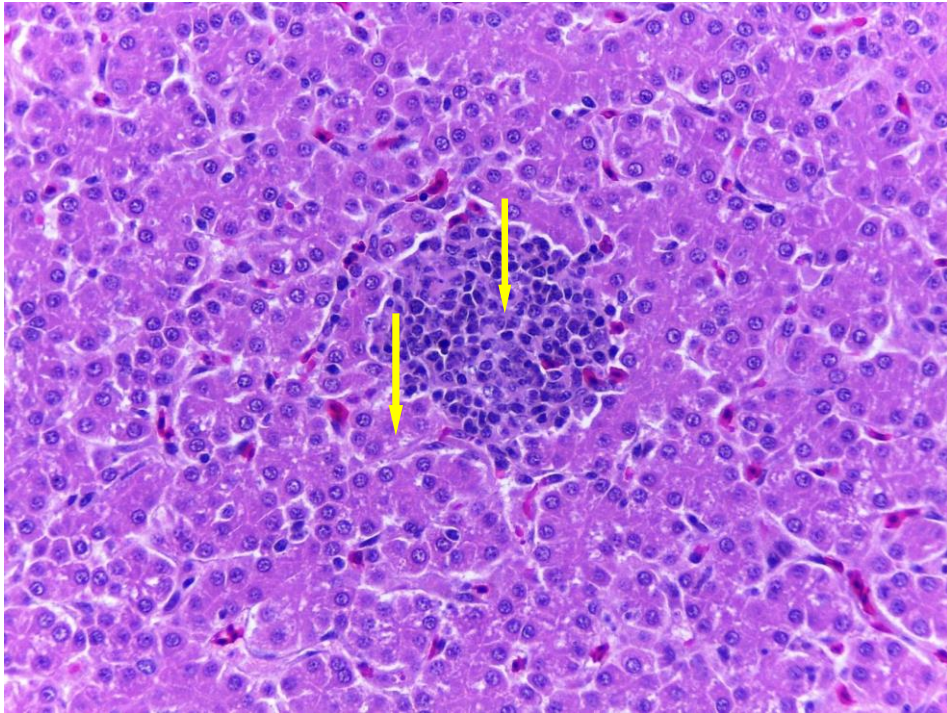
Degeneración vacuolar leve e Infiltrado linfocitario periportal. HE 100x



Degeneación vacuolar leve. Infiltrado heterofílico periportal. HE. 400x

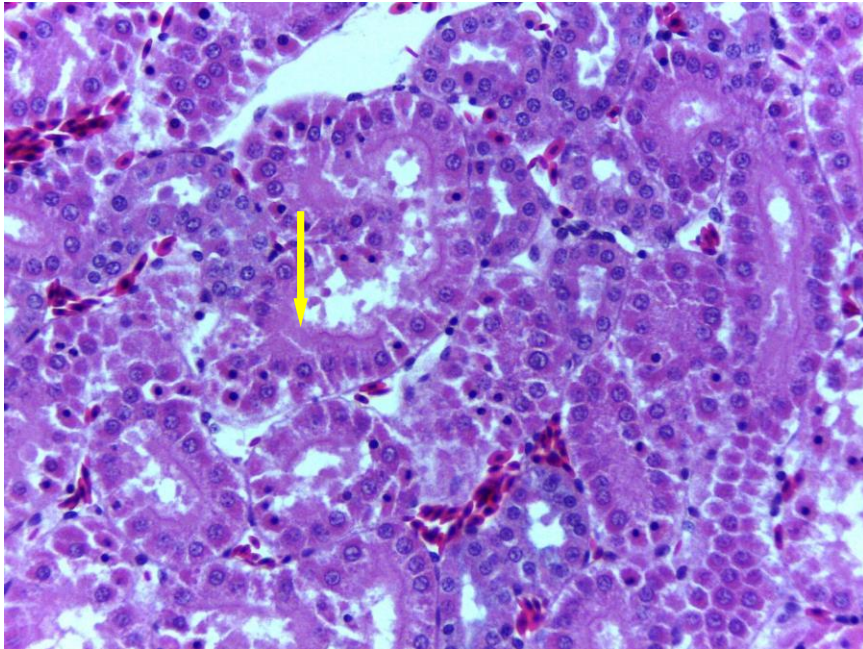


Degeneración vacuolar leve y cúmulo linfoide. HE. 400x.

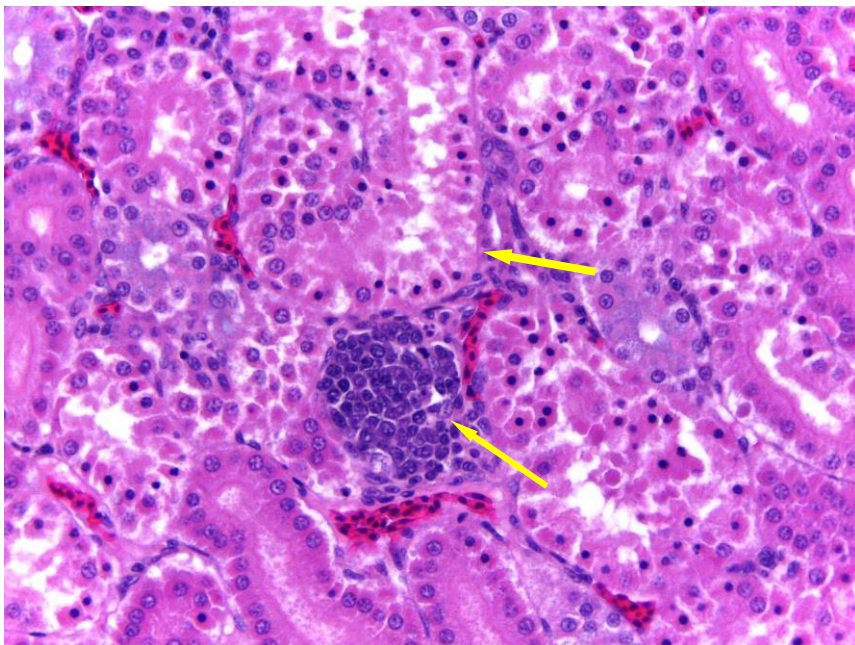


Lesiones renales

Degeneración y necrosis tubular. HE 400x



Degeneración y necrosis tubular con cúmulo linfoide. HE. 400x



Infiltrado linfocitario intersticial. HE. 400x

