

EVALUACIÓN DE ALUMINOSILICATO PARA DISMINUIR LOS EFECTOS TÓXICOS DE AFLATOXINA B1 EN CERDOS

Fierro, H. José Antonio¹; Pérez, F. Rubén¹; Duran, M. Leticia¹; Altamirano, C. Mariana¹; Medina, B. Juan Carlos¹; Moreno, Verónica² y Rodríguez Elizabeth²

¹NUTEK S.A. de C.V., ²Investigación Aplicada S.A. de C.V.
jafierro@grupoidisa.com

Resumen:

La forma más práctica de enfrentar los problemas asociados con la intoxicación con micotoxinas, es la inclusión de adsorbentes en los alimentos balanceados para animales. En este trabajo se presenta un ensayo de evaluación "in vivo" de un adsorbente de micotoxinas, que se incluyó en la dieta para cerdos contra un desafío con aflatoxinas (la concentración de aflatoxina B1 (AFB1) fue 680 µg/kg). El experimento se llevó a cabo con 18 cerdos, divididos en tres grupos con seis repeticiones. Los grupos fueron control negativo, control positivo con aflatoxinas (AFs) y el grupo con el adsorbente denominado Afumtek. El tiempo de experimentación fue de 21 días. Los parámetros a evaluar fueron: ganancia de peso de los animales, peso total, conversión alimenticia, peso relativo de los órganos, ensayos histopatológicos. Además la grasa total, hierro total, vitamina A y Aflatoxina M1 en hígados. En suero se analizaron parámetros bioquímicos y vitamina A. Al finalizar el experimento (21 días) se encontró que en el peso de los cerdos, la ganancia de peso, el consumo de alimento, fosfatasa alcalina, gama glutamil transferasa (GGT) y proteínas totales, se presentaron diferencias estadísticamente significativas, entre los animales que consumieron las 3 dietas, esto consecuencia de los efectos de las AFs.. En conversión alimenticia, peso relativo de los órganos se presentaron solo diferencias numéricas. Al realizar el perfil hepático a todos los animales, se observó un aumento en las enzimas en el grupo que consumió la dieta con AFs. El adsorbente protegió a los cerdos que consumieron las AFs, presentando poca diferencia en la concentración de enzimas respecto al grupo control negativo. También se realizó un perfil renal (urea, ácido úrico y creatinina) en donde no se presentó un aumento de estos parámetros en los animales que consumieron las dietas contaminadas comparadas con el grupo control negativo. Con estos resultados podemos concluir que el adsorbente protegió a los cerdos que consumieron la dieta con AFs. El daño provocado por la AFB1, reportado como la diferencia en ganancia de peso, con respecto a la ganancia promedio del grupo control negativo fue de: 31.2 %. El grupo con el adsorbente y las AFs, mostró una recuperación del peso 52.3 %. Es decir los cerdos mejoraron su peso, pero no lograron alcanzar las ganancias de peso que tuvo el grupo control negativo. La inclusión de adsorbentes de micotoxinas en dietas para animales, son una alternativa para disminuir los efectos negativos y obtener mejores parámetros productivos. El incremento en la concentración de las enzimas fosfatasa alcalina y la GGT son indicadores del efecto de la AFB1 en cerdos. La disminución de estas enzimas, en el grupo que contenía el adsorbente en la dieta, es otra demostración de la protección proporcionada por el adsorbente.

Palabras clave: micotoxinas, aflatoxina B1, adsorbentes, enzimas

Introducción.

La aflatoxina B1 (AFB1), es una micotoxina con propiedades carcinogénicas, teratogénicas, mutagénicas e inmunosupresoras, producida por varias especies de hongos del género *Aspergillus* (*flavus*, *parasiticus*, *nomius*, y *pseudotamarii*), su órgano blanco es el hígado (hepatotóxico). Los cereales, maní (cacahuete), nueces, almendras y sus derivados son los productos más susceptibles a la contaminación con AFs. Además de otros productos de origen vegetal. Los efectos de las AFs en cerdos, dependen de la edad, dieta, concentración y tiempo de exposición. La AFB1 puede ser letal si se consume en grandes dosis por largos periodos de tiempo. Dosis subletales pueden producir una toxicidad crónica que puede resultar en cáncer de hígado principalmente (Sinnhuber et al. 1977; Wogan y Newberne 1967) la toxicidad de las AFs ha sido reportada en cerdos al destete, crecimiento, finalización y en reproducción. Los efectos son: pérdida de peso, pelo áspero, anorexia, ataxia (trastorno caracterizado por la disminución de la capacidad de coordinar los movimientos), temblores, coma y muerte. (Coppeck et al 1989). Otros efectos: disminución en la conversión alimenticia, hepatitis, nefrosis y hemorragias sistémicas (Hoerr et al 1983, Miller et al. 1981, 1982). Monegue et al, 1977, mencionan que cerdos alimentados con concentraciones superiores a 300 ppb, parecen ser resistentes, desde el destete hasta su venta a mercado. Por lo tanto, evitar la contaminación de los alimentos con AFs, destinados a animales es una necesidad crítica. Algo práctico para contrarrestar este problema, es el uso de adsorbentes de micotoxinas en la dieta, los cuales reducen la biodisponibilidad y la toxicidad de estas micotoxinas. Montmorillonita, bentonitas, zeolitas y aluminosilicatos de calcio y sodio hidratados (HSCAS), que son utilizados como agentes antiapelmazantes en alimentos para animales, han sido reportados que previenen las enfermedades asociadas con aflatoxicosis en animales, incluyendo cerdos, pollos y pavos (Ramos y Hernandez 1997: Miazza et al. 2000). Por lo cual la propuesta de este estudio fue evaluar un adsorbente de micotoxinas (aluminosilicato de calcio y sodio hidratado) para reducir los efectos negativos producidos por el consumo de AFs en cerdos.

Objetivo.

Evaluar la eficacia de un adsorbente de micotoxinas para disminuir los efectos tóxicos de una dieta contaminada con 680 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de AFB1, presente en alimentos balanceados para cerdos.

Material y métodos.

Se emplearon 18 cerdos, recién destetados de 21 días de edad distribuidos en 3 grupos con 6 repeticiones y se colocaron en corrales individuales con piso porcino, bebederos de chupón y comederos para destete. La primera semana fue de adaptación. Los alimentos utilizados fueron comerciales (Lactomax), se demostró la ausencia de contaminación con otras micotoxinas, tales como aflatoxinas, fumonisina B1, ocratoxina A, vomitoxina y toxina T-2. Además se le realizó el análisis proximal, calcio, fósforo y vitamina A. Las AFs fueron obtenidas por contaminación natural en muestras de arroz. La concentración de las AFs en los alimentos contaminados fue confirmada por medio de la cuantificación vía HPLC. Los tratamientos fueron: (1) dieta control negativo; (2) dieta control positivo: 680 ppb de AFB1; (3) dieta de desafío con adsorbente: 5 kg/t + 680 ppb de AFB1.

El tiempo de experimentación fue de 21 días. Los cerdos fueron pesados al inicio del experimento (28 días de edad) y se registró el peso individual cada semana, hasta el final del experimento (49 días). La conversión alimenticia se calculó semanalmente. No ocurrió la muerte de ninguno de los animales. Los cerdos fueron sacrificados el día 21 de experimentación. Se realizó la necropsia de los 18 cerdos, de los cuales se tomaron los siguientes órganos: tonsilas, pulmón, corazón, hígado, vesícula biliar, riñón, bazo y linfonodos mesentericos, se pesaron y se tomaron muestras para su estudio histopatológico. Además se cuantificó la grasa total, hierro total, vitamina A y AFM1 en hígados. En suero se analizaron parámetros bioquímicos (aspartato amino transferasa, alanino amino transferasa, fosfatasa alcalina, gama glutamil transferasa (GGT), glucosa, proteínas totales, albúmina, creatinina, triglicéridos, colesterol, urea, ácido úrico) y vitamina A. La información obtenida fue analizada por medio del programa estadístico SYSTAT, por la prueba de Tukey donde se definió la diferencia entre medias, el valor de significación se basó en 0.05 de probabilidad.

Resultados.

En cuanto al peso del animal, ganancia de peso, consumo de alimento, fosfatasa alcalina, GGT y proteínas totales, se presentaron diferencias estadísticamente significativas, al final del experimento (21 días), entre los animales que consumieron las 3 dietas. Esto debido al efecto de las AFs y la protección que proporciona el adsorbente. En conversión alimenticia, peso relativo de los órganos se presentaron solo diferencias numéricas. Al realizar el perfil hepático a todos los animales, se observó un aumento en las enzimas (AST, ALP y fosfatasa alcalina) en el grupo que consumió la dieta con AFs. El adsorbente Afumtek protegió a los cerdos que consumieron las AFs, presentando poca diferencia en la concentración de enzimas respecto al grupo control negativo. También se les realizó un perfil renal (urea, ácido úrico y creatinina) en donde no se presentó un aumento de estos parámetros en los animales que consumieron las dietas contaminadas comparadas con el grupo control negativo. En la foto podemos observar los hígados de los cerdos en donde el grupo que consumió las AFs presentan palidez con respecto al grupo control negativo y el grupo con el adsorbente Afumtek.

Tablas de resultados:

Ganancia de peso.

Tratamientos	7 días de experimentación (35 días de edad)	14 días de experimentación (42 días de edad)	21 días de experimentación (49 días de edad)
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	2053 \pm 188 ^a	3054 \pm 265 ^a	3900 \pm 179 ^a
Micotoxinas	1857 \pm 110 ^a	2817 \pm 170 ^a	2683 \pm 193 ^b
Desafío	1810 \pm 124 ^a	3087 \pm 124 ^a	3320 \pm 119 ^a

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)



Peso promedio de los animales:

Tratamientos	Peso promedio (kg) al inicio del experimento (28 días de edad)	Peso promedio (kg) al final del experimento (49 días de edad)	Peso final – peso inicial (kg) (49 días de edad)
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	6293 \pm 209 ^a	15300 \pm 187 ^a	9007 \pm 176 ^a
Micotoxinas	6300 \pm 170 ^a	13657 \pm 397 ^a	7357 \pm 412 ^b
Desafío	6317 \pm 170 ^a	14533 \pm 349 ^a	8217 \pm 295 ^a

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)

Otros parámetros analizados:

Tratamientos	Consumo de alimento (kg)	Fosfatasa alcalina U/L	Proteínas totales mg/dL
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	12,343 \pm 163 ^a	285 \pm 47 ^a	5.75 \pm 0.215 ^a
Micotoxinas	10,900 \pm 305 ^b	627 \pm 113 ^b	5.07 \pm 0.228 ^b
Desafío	12,133 \pm 161 ^a	365 \pm 20 ^a	5.38 \pm 0.152 ^a

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)

Tratamientos	GGT mg/dL	AST (GOT) U/L	ALT (GPT) U/L
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	7.7 \pm 1.38 ^a	139 \pm 20.2 ^a	62 \pm 9.44 ^a
Micotoxinas	50.6 \pm 4.60 ^b	202 \pm 17.4 ^a	81 \pm 5.97 ^a
Desafío	17.9 \pm 4.55 ^a	168 \pm 16.2 ^a	72 \pm 7.75 ^a

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)

Tratamientos	Colesterol mg/dL	Albúmina mg/dL	Triglicéridos mg/dL
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	124 \pm 25.23 ^a	3.59 \pm 0.052 ^a	148 \pm 18.4 ^a
Micotoxinas	98 \pm 15.11 ^a	3.19 \pm 0.180 ^a	137 \pm 21.3 ^a
Desafío	130 \pm 15.50 ^a	3.56 \pm 0.111 ^a	138 \pm 13.8 ^a

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)

Tratamientos	Urea mg/dL	Creatinina mg/dL	Ácido úrico mg/dL
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	40.7 \pm 2.76 ^a	0.786 \pm 0.043 ^a	1.11 \pm 0.017 ^a
Micotoxinas	39.6 \pm 1.53 ^a	0.752 \pm 0.030 ^a	1.08 \pm 0.049 ^a
Desafío	39.5 \pm 1.62 ^a	0.783 \pm 0.038 ^a	0.94 \pm 0.007 ^b

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)

Tratamientos	Glucosa mg/dL	Peso relativo de los ganglios linfáticos (%)
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	95 \pm 2.52 ^a	0.22 \pm 0.024 ^a
Micotoxinas	104 \pm 4.53 ^a	0.21 \pm 0.018 ^a
Desafío	92 \pm 2.92 ^a	0.22 \pm 0.027 ^a

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)

Tratamientos	Conversión alimenticia	Peso relativo del hígado (%)	Peso relativo del riñón (%)
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	1.37 \pm 0.033 ^a	5.25 \pm 0.216 ^a	0.77 \pm 0.041 ^a
Micotoxinas	1.48 \pm 0.030 ^a	5.09 \pm 0.175 ^a	0.78 \pm 0.105 ^a
Desafío	1.48 \pm 0.029 ^a	4.70 \pm 0.260 ^a	0.77 \pm 0.052 ^a

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)



Tratamientos	Peso relativo del bazo (%)	Peso relativo del pulmón (%)	Peso relativo del corazón (%)
	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar	Medias \pm error estándar
Control	0.33 \pm 0.027 ^a	1.28 \pm 0.057 ^a	0.76 \pm 0.032 ^a
Micotoxinas	0.28 \pm 0.022 ^a	1.41 \pm 0.097 ^a	0.81 \pm 0.026 ^a
Desafío	0.34 \pm 0.028 ^a	1.32 \pm 0.080 ^a	0.81 \pm 0.052 ^a

Medias con letras diferentes son estadísticamente significativas para ($p < 0.05$)

Foto de hígados:



Los análisis histopatológicos mostraron los efectos en hígado y riñón por la ingestión de la AFB1. Además 9 de los 18 cerdos presentaron problemas respiratorios ocasionados por un cuadro de etiología viral asociada a PRRS y un cerdo presentaba lesiones compatibles con *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Discusión:

Las AFs además de ser hepatotóxicas, nefrotóxicas e inmunosupresoras, también pueden afectar otros órganos. La inclusión de adsorbentes de micotoxinas es una buena alternativa para disminuir estos efectos y obtener mejores parámetros productivos ocasionados por el consumo de estos metabolitos, debido a que los granos sea observado el incremento en la contaminación con hongos y por consiguiente con micotoxinas. El uso de adsorbentes de micotoxinas en los alimentos balanceados para animales, reducen la presencia de estas toxinas o de sus metabolitos en los alimentos destinados para el consumo humano. Por otra parte los adsorbentes disminuyen las pérdidas económicas a los productores pecuarios, por el consumo de alimento contaminado a los animales sometidos a explotación intensiva. Por supuesto, que es muy importante calcular el costo-beneficio que implica el utilizar adsorbentes de micotoxinas. Aunque muchas veces se crea que el mayor problema de las micotoxicosis se encuentra relacionado con el daño que producen en diversos órganos y sistemas de los cerdos, la reducción del rendimiento productivo y de la respuesta inmune de las mismas ante dosis más bajas es mucho más importante en términos económicos. Por lo cual se consideran como una alternativa para valorar una intoxicación por el consumo con estas micotoxinas.



Conclusión:

De acuerdo a los resultados obtenidos en este experimento, el producto considerado como agente antimicotoxinas protegió a los cerdos que fueron desafiados con las AFs: 14.87% de reducción en la ganancia del animal con respecto al grupo control negativo, contra 31.2 % de pérdida de peso en grupo control positivo. Los animales del Grupo 3, durante el periodo de experimentación no rechazaron alimento. El incremento en la concentración de las enzimas fosfatasa alcalina y la GGT son indicadores del efecto de la AFB1 en cerdos. La disminución de estas enzimas, en el grupo que contenía el adsorbente en la dieta, es otra demostración de la protección proporcionada por el adsorbente.

Bibliografía.

- Coppeck, R. W., R. D. Reynolds, W. B. Buck, B. J. Jacobsen, S. C. Ross, and M. S. Mostrom. 1989. Acute aflatoxicosis in feeder pigs, resulting from improper storage of corn. *J. Am Veter Med Assoc* 195: 1380-1381.
- Fierro, J. A. 1999. Cinética de la producción de micotoxinas por una cepa de *Aspergillus flavus*. XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Lima, Perú.
- Hoerr, F. J. and G. H. D'Andrea. 1983. Biological effects of aflatoxin in swine. Pp. 51-55. In U.L. Diener; R. L. Asquith, and J. W. Dickens (Eds.). *Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn*. Southern Cooperative Series Bulletin 279. Auburn University, Auburn, Alabama.
- Miller, D. M., B. P. Stuart, and W. A. Crowell. 1981. Experimental aflatoxicosis in swine: Morphological and clinical pathological results. *Can. J. Comp. Med* 45: 343-351.
- Miller, D. M., B. P. Stuart, and W. A. Crowell. 1982. Acute aflatoxicosis in swine: Clinical pathology, histopathology, and electron microscopy. *Am. J. Vet Res* 43: 273-277.
- Monegue, H. J., C. E. Combs, G. T. Edds, and H. D. Wallace (Eds). 1977. The effects of various levels of aflatoxinas on young swine. Florida agriculture experiment station report AL-1977-5.
- Ramos, A. J. and E. Hernandez. 1997. Prevention of aflatoxicosis in farm animal by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs a review. *Animal Feed Science and Technology* 65:197-206.
- Sinshuber, R. O., J. D. Hendriks, J. H. Wales, and G. B. Putnam. 1977. Neoplasms in rainbow trout, a sensitive animal model for environmental carcinogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 298:389-408.
- Wogan, G. N. and P. M. Newberne. 1967. Dose-response characteristics of aflatoxin B1 carcinogenesis in rat. *Cancer Res* 27:2370-2376.