

EFEECTO DE DIFERENTES NIVELES DE AFLATOXINA B₁ SOBRE LA RESPUESTA INMUNE DE POLLOS DE ENGORDE

Elsy Saume¹ y Fanny Requena²

RESUMEN

Aflatoxina B₁ (AB₁) se conoce como el “asesino silencioso”, ya que su consumo en niveles mayores a 20 ppb, no induce síntomas clínicos evidentes, pero con el tiempo causan pérdidas económicas considerables en la producción avícola. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto producido por el consumo *ad libitum* de dietas contaminadas con tres niveles de AB₁: 0; 50; 100 y 200 ppb, en pollos hasta los 28 días de edad, en la producción de anticuerpos contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB), la relación peso bursa/peso corporal (B/PC) y el índice bursal (IB). Se utilizaron 96 pollos de engorde machos (Cobb) de un día de nacidos, distribuidos en ocho tratamientos con seis réplicas cada uno y dos grupos (vacunados y no vacunados). Se aplicó vacuna contra la EIB a los 10 días de edad al grupo correspondiente. A la sexta semana de edad se tomó el peso vivo individual y después del sacrificio, el peso y tamaño de la bursa; se determinó la relación B/PC y el IB. Para la detección de los anticuerpos se utilizó la técnica de Inmunoensayo ELISA. En los resultados obtenidos se observó que los pollos de los tratamientos con 200 ppb de AB₁, presentaron bursas más pequeñas, con una relación B/PC e IB menor a la de los otros tratamientos (P<0,05). Igualmente los títulos de anticuerpos contra la EIB del tratamiento 200 ppb vacunados, fueron más bajos que para el resto de los tratamientos. El consumo de dietas con 200 ppb de AB₁, causa supresión del sistema inmune, lo que puede traer como consecuencia aves mucho más susceptibles a agentes infecciosos oportunistas, deficiente respuesta a los programas de vacunación y pérdidas económicas.

Palabras Clave: Aflatoxina; sistema inmune; pollos de engorde; enfermedad de la bursa.

¹ Investigadores. INIA. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). Sanidad Animal y ² Producción Animal, respectivamente.
E.mail: esaume@inia.gov.ve / f_requena@inia.gov.ve
Recibido: 5/10/2006

Aprobado: 07/12/06

EFFECT OF FEED INTAKE OF AFLATOXIN B₁ ON THE IMMUNE SYSTEM IN BROILER CHICKENS

Elsy Saume¹ and Fanny Requena²

SUMMARY

Aflatoxin B₁ (AB₁) is known as “the silent killer”, since its feed intake in levels greater than 20 ppb, does not induce evident clinical symptoms, but can cause economic losses in the poultry industry. The effect of four levels of AB₁: 0; 50; 100 y 200 ppb, in male chickens (Cobb), distributed in eight treatments with six replicates, were evaluated. They were fed *ad libitum* diets with AB₁, from 1 to 28 days of age and vaccinated at day 10 against the Infectious Bursal Disease (IBD) only to the corresponding lot. At six weeks old, each bird was weighted and after sacrificed full size and weight of bursa was registered. The relationship bursa/weight (B/W) and the bursal index (BI) were determined. For the detection of the antibodies, the ELISA'S technique was used. The results show that chickens of treatments with 200 ppb of AB₁, vaccinated or not, presented bursae, relation B/W and BI, smaller to those other treatments, with significant differences (P<0,05). Equally, titles of antibodies against the IBD of these treatment but vaccinated, were lower than the rest of treatments. The consumption of diets with 200 ppb of AB₁ causes suppression on the immune system, which can result in much more susceptible birds to infectious opportunist agents, inefficient response to vaccination programs and economic losses.

Key Words: Aflatoxins; immune systems; broiler chickens; infectious bursal disease.

¹ Investigadores. INIA. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). Sanidad Animal y ²Producción Animal, respectivamente.
E.mail: esaume@inia.gov.ve - f_requena@inia.gov.ve

INTRODUCCIÓN

La incidencia de micotoxinas en la producción de pollos de engorde representa uno de los mayores problemas que afecta a este sector. Esta influencia negativa se debe principalmente a interferencias producidas por las micotoxinas sobre diversos sistemas enzimáticos, ligados al proceso digestivo y del metabolismo de los nutrientes, así como del sistema inmunológico (Reddy *et al.*, 1982), que generan alteraciones en los parámetros productivos e incremento de la incidencia de enfermedades. La micotoxicosis es un proceso patológico provocado por la ingestión de toxinas fúngicas cuya actuación está influida por la especie animal, raza, edad y dosis como factores principales (Osuna, 1992). Puede ser aguda, subaguda o crónica, dependiendo de los niveles consumidos; no es transmisible y generalmente, está asociada con el consumo de algunos alimentos, especialmente cereales, propensos a la contaminación fúngica.

Entre la principales micotoxinas que afectan a las aves están las aflatoxinas, metabolitos del *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* (Calnek *et al.*, 1995). La toxicidad aguda de las aflatoxinas se manifiesta principalmente como lesiones hepáticas, observándose microscópicamente hepatomegalia, bordes del órgano redondeados, consistencia flácida, hemorragias petequiales en superficie, palidez con decoloración amarillenta del órgano (Rosa *et al.*, 2001; Smith y Hamilton, 1970). Hidalgo *et al.* (2004) reportan que observaron microscópicamente hígados aumentados de tamaño, pálidos, con superficie de aspecto granular, áreas de necrosis focal puntiforme, hemorragias petequiales subcapsulares, exudado fibrinoso en cápsula, al corte el parénquima era de consistencia dura y en ocasiones con formaciones quísticas de aproximadamente 1 mm de diámetro.

Entre los hallazgos microscópicos reportados: lesiones en cápsulas engrosadas, hepatocitos agrandados, desorganización de trabéculas, degeneración vacuolar y necrosis focal de hepatocitos, fibrosis interlobulillar y perilobulillar, espacios portales engrosados con fibroplasia y marcada infiltración focal de leucocitos constituidos por heterófilos inmaduros, linfocitos, plasmocitos, macrófagos y células hemopoyéticas. El cambio histopatológico más resaltante fue la proliferación de los conductos biliares con severa hiperplasia

del epitelio y fibrosis hepática severa. Arrieta *et al.* (2006) observaron pollos que consumieron alimento contaminado con AFB₁ a 0,07mg/kg y el 62% de ellos presentó hígado con hepatopatía tóxica leve y 13% moderada, mientras que 25% resultaron normales.

En la forma subaguda los animales jóvenes pueden presentar retardo en el crecimiento, pérdida del apetito, se compromete el sistema inmunitario, por su acción degeneradora sobre el timo y la bursa de Fabricio, hay aumento de la fragilidad capilar, afectando el tiempo de coagulación sanguínea; de allí, la presencia de hematomas, postración y muerte (Rivero *et al.*, 1998). En avicultura se conoce la aflatoxina B₁ (AB₁) como el “asesino silencioso”, ya que su consumo en niveles menores de 20 ppb, no induce síntomas clínicos evidentes, pero con el tiempo si causa pérdidas económicas.

Por otra parte, Fain (2000) señala que consumos superiores inciden negativamente sobre el índice de conversión y la ganancia diaria de peso, debido a un trastorno fisiopatológico, Se altera la digestión proteica y la absorción de aminoácidos, con reducción de síntesis de ADN, ARN, proteínas ribosomales que retardan el crecimiento del pollo y originan un aumento del tamaño del hígado, debido a la acumulación de grasa.

Hay innumerables trabajos donde se le atribuye a la AB₁ el efecto nocivo sobre la salud y deterioro en la respuesta productiva de las aves, incluyendo la producción de huevos. Pérez *et al.* (2001), observaron la tendencia en la disminución de la producción de huevos a partir de la 2da. semana posterior a la administración de AB₁ (4mg/kg = 4 000ppb) y en la 4ta. semana con la administración de 0,02 mg/kg (20ppb). La inmunodepresión del ave por acción de las aflatoxinas parece ser la responsable del incremento de la susceptibilidad a diversas enfermedades infectocontagiosas, al verse afectados los sistemas de inmunidad celular y humoral (Carabaño *et al.*, 2001).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto producido por la ingestión de tres niveles de AB₁ sintética, añadida a la ración de alimento, sobre el peso final de las aves, la relación peso bursa/peso corporal, índice bursal y título de anticuerpos contra la enfermedad infecciosa de la bursa (EIB).

MATERIALES Y MÉTODOS

La experimentación se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad Experimental de Aves y en los Laboratorios de Nutrición Animal y Control de Productos, pertenecientes al Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), Aragua, Venezuela.

Se utilizaron 96 pollos de engorde machos (Cobb) de un día de nacidos, distribuidos en ocho 8 tratamientos con seis replicas cada uno, mediante un diseño completamente aleatorizado. Los tratamientos fueron los siguientes:

Grupo 1	Con 50 ppb de Aflatoxina B ₁ (AB ₁)	Vacunados (V)
Grupo 2	Con 50 ppb de AB ₁	No vacunados (NV)
Grupo 3	Con 100 ppb de AB ₁	Vacunados (V)
Grupo 4	Con 100 ppb de AB ₁	No vacunados (NV)
Grupo 5	Con 200 ppb de AB ₁	Vacunados (V)
Grupo 6	Con 200 ppb de AB ₁	No vacunados (NV)
Grupo 7	Sin Aflatoxina B ₁	Vacunados (V)
Grupo 8	Sin Aflatoxina B ₁	No vacunados (NV)

Se utilizo AB₁ purificada marca SIGMA (código A6636) para contaminar el alimento, el cual fue suministrado *ad libitum* desde el primer día de edad hasta los 28 días.

Los grupos impares fueron vacunados vía ocular a los 10 días de edad contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB), con una vacuna virus vivo.

Se tomaron muestras de sangre de la vena radial en el ala, antes de la vacunación y a los dieciocho (18) días post-vacunación, para la evaluación serológica de los anticuerpos mediante la técnica de Inmuno-ensayo ELISA, utilizando un Kit comercial diseñado para detectar anticuerpos específicos contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa, basado en un Elisa Indirecto. Las lecturas de las densidades ópticas de las muestras se realizaron en un espectrofotómetro con un filtro de 405nm donde la media del control negativo estuvo por debajo de 0,3 y la diferencia entre la media del control negativo y la media del control positivo fue mayor a 0,15. Las muestras con una relación S/P de 0,2 o más se consideraron positivas.

Todas las aves fueron pesadas al primer día de edad y luego una vez por semana hasta el final del ensayo, cuando se realizó el sacrificio de todas las aves y se tomaron y pesaron las bursas para determinar la relación bursa/peso corporal y el índice bursal.

Para determinar la relación bursa / peso corporal (B/PC), se dividió el peso de la bursa entre el peso del cuerpo y se multiplicó por 1 000 (Giambrione y Closser, 1990). Los Índices Bursales (IB) fueron calculados dividiendo la relación B/PC de pollos con AB₁ entre el promedio de la relación B/PC de pollos controles (Lucio y Hitchner, 1979).

La evaluación estadística de los datos se determinó aplicando análisis de varianza por el método de Mínima Diferencia Significativa con nivel de significación de $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presentan los resultados de la relación bursa/peso corporal en la que los pollos con ingestión de la ración 200 ppb, con o sin vacunar, tuvieron bursas significativamente más pequeñas ($P < 0,05$) que las de los pollos de los otros grupos de tratamiento, incluyendo los otros niveles de ingestión (100 y 50 ppb).

Perozo *et al.* (2003), también observaron disminución en la relación B/PC pero con niveles mas bajos de ingestión de AB₁ (70 µg/kg) al observado en este trabajo, con diferencias significativas de P<0,05 en relación al promedio obtenido por el grupo control (sin ingestión de AB₁).

CUADRO 1. Promedio de la Relación Bursa/ Peso Corporal (B/PC).

Grupo Tratamiento	Relación B/PC
Grupo 1	1,229 a
Grupo 2	1,220 a
Grupo 3	1,306 a
Grupo 4	1,467 b
Grupo 5	1,067 c
Grupo 6	0,929 c
Grupo 7	1,212 a
Grupo 8	1,117 a

Valores con distintos sub-índices muestran diferencias estadísticas significativas (P<0,05).

Al evaluar el Índice Bursal (IB) en el Cuadro 2, los pollos que tuvieron el IB más pequeño eran los correspondientes a los grupos 5 y 6 (200 ppb AB₁, con y sin vacunar). Diferencias significativas fueron observadas entre estos grupos y el resto de los tratamientos. Los cálculos de la relación B/PC e IB da un 60 – 90% de exactitud sobre el nivel de daño con la bursa. Una mayor relación B/PC o IB indica una bursa saludable o normal. Con la ingestión de 200 ppb AB₁ hubo atrofia de la bursa, lo que demuestra el efecto negativo de éstos niveles. Torrealba (2001) destaca que por efecto de la ingestión de las aflatoxinas en el alimento, al producir disminución del tamaño de la bursa, disminuye la habilidad para producir inmunoglobulinas y esta supresión puede tener efectos crónicos en momentos de estrés o de reto.

CUADRO 2. Promedio de los Índices de Bursa (IB) en Pollos de engorde.

Grupo de Tratamiento	Índice Bursal	
	Relación con Grupo sin AB ₁ Vacunado	Sin Vacunar
Grupo 1	1,014 a	1,100 a
Grupo 2	1,007 a	1,092 a
Grupo 3	1,077 a	1,169 a
Grupo 4	1,210 a	1,313 a
Grupo 5	0,0880 b	0,055 b
Grupo 6	0,766 b	0,83 b

Valores en la misma columna con diferentes sub-índices muestran diferencias significativas ($P < 0,05$).

A los 18 días post-vacunación, los títulos promedios por Elisa contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa fueron mayores (1:1860) en el grupo 7 (sin AB₁-vacunados), con diferencias entre éstos y los títulos de los otros grupos que sí consumieron AB₁, observándose que los títulos mas bajos los presentó el grupo 5 (1:927) en el cual la ingestión de AB₁ fue de 200 ppb (Cuadro 3), coincidiendo estos resultados con los observados por Giambrone *et al.* (1978), quienes reportan disminución en la producción de las inmunoglobulinas IgM, IgG e IgA, debido a la incapacidad productiva de los tejidos linfoides afectados por efecto del consumo de AB₁.

Fernández (2001), informa que las aflatoxinas causan involución de la Bursa de Fabricio, afectando la producción de linfocitos y comprometiendo la respuesta humoral efectiva contra los antígenos vacunales. Perozo *et al.* (2003), determinaron que el porcentaje de linfocitos viables (PLV) no fue afectado significativamente, aunque si observaron la tendencia que los grupos expuestos a 70 µg/kg de AB₁ presentaron niveles más bajos de PLV; sin embargo, no afectaron la capacidad de respuesta humoral específica del ave.

CUADRO 3. Títulos de Anticuerpos IBDV por ELISA.

Grupo Tratamiento	Títulos
Grupo 1	1,291 a
Grupo 3	1,384 a
Grupo 5	0,927 b
Grupo 7	0,820 c

Valores en la misma columna con diferentes sub-índices muestran diferencias significativas ($P < 0,05$).

Trabajo realizado por Carabaño *et al.* (2001), demuestra que con la ingestión de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AB₁ hay una marcada atrofia folicular, la cual aumenta con dosis de 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$, observando el efecto nocivo de la aflatoxina en función de la dosis.

Giambrone *et al.*, en 1985, evidenciaron un decrecimiento progresivo de la inmunidad mediada por células, por la ingestión de 200ppb; sin embargo, no observaron una disminución de la respuesta inmune humoral por la vacunación contra la enfermedad de Newcastle o cólera aviar, en pavos y pollos que ingirieron AB₁.

Todo esto indica que el efecto inmunosupresor de las micotoxinas se fundamenta en la alteración de la resistencia inmunológica a los agentes infecciosos presentes en el ambiente y en la incapacidad de los programas de vacunación a proteger en forma efectiva a las parvadas avícolas (Smith y Moss, 1985).

CONCLUSIONES

- Los resultados de este trabajo indican que la ingestión de 200 ppb de AB₁ causa supresión del sistema inmune, lo que trae como consecuencia aves mucho más susceptibles a agentes infecciosos oportunistas, respondiendo deficientemente a los programas de vacunación.

- Con niveles en la ración de 50 y 100 ppb no se observaron efectos adversos significativos; sin embargo, la ingestión continua de estos niveles hasta el final del ciclo productivo del pollo, puede originar efectos negativos en los mismos que se traduce en pérdidas económicas.
- La vacunación no contrarresta los efectos negativos de la ingestión de 200 ppb de AB₁.
- Parámetros como la relación peso bursa/peso corporal y el índice bursal pueden ser utilizados como indicadores del efecto negativo de la ingestión de aflatoxinas.

BIBLIOGRAFÍA

ARRIETA MENDOZA, D.; M. PÉREZ A.; C. GÓMEZ. 2006. Efecto del alimento contaminado con aflatoxina b₁ (0,07 mg/kg) sobre la morfología hepática y actividad enzimática sérica (ast y alt) en pollos de engorde. Revista Científica, FCV-LUZ, XVI (1):39-47.

CALNEK K., B. W.; H. J. BARNES; C. W. BEARD; W. M. REID; H. W. YORDER. 1995. Enfermedades de las Aves. 9na edición. Editorial Manual Moderno, México. pp 1094-1131.

CARABAÑO J. M.; L. SILVA; E. ASCANIO; D. TAMBURINI; Y. REYES; R. MARCANO. 2001. Efecto de la Aflatoxina B₁ sobre la respuesta inmune de los pollos de engorde en la etapa de iniciación (0-28 días). Memorias del XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura, Guatemala 9-12 de Octubre 2001. 8 p.

FAIN, B. 2000. Marcados efectos productivos con altas dosis de aflatoxinas en pollo. Disponible: <http://www.unr.edu.ar/u-acad/fveter/jor-cientif-2001/1/htm> (consulta: octubre 2002).

FERNÁNDEZ, R. 2001. Efecto de las Micotoxinas como agente Inmunopresor en los programas de vacunación de las aves. Memorias del XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Guatemala 9-12 octubre 2001.

GIAMBRONE, J.J.; J. CLOSSER. 1990. Efficacy of live vaccines against serologic subtype of infections bursal disease virus. Avian Dis. 34:7-11.

GIAMBRONE, J. J.; V. L. DIENER; N. D. DAVIS; V. S. PANGALA; F. J. HOERR. 1985. Effects of Aflatoxin on young turkeys and broiler chickens. Poult. Sci. 64 (9):1678-84.

GIAMBRONE, J. J.; D. L. EWERT; R. A. WYATT; C. S. EDISON. 1978. Effect of Aflatoxin on the humoral and cell-mediate immune systems of the chicken. Am. J. vet. Res. 39:305.

HIDALGO, G.; A. LUENGO; J. SOTO. 2004. Hiperplasia quística papilar adenomatosa de conductos biliares en pollos de engorde. Primeros casos reportados en Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ, XIV (1):79-84.

LUCIO, B.; S. B. HITCHNER. 1979. Infections bursal disease emulsified vaccine: effect upon neutralizing antibodies levels in the dam and subsequent protection of the progeny. Avian Dis. 23:466-478.

OSUNA, O. 1992. Efectos de las Micotoxinas en la Inmunidad de las aves. Memorias del III Seminario Latinoamericano de Sanidad Avícola, Solvay, Paipa, Boyacá-Colombia. Agosto 25-28, 1992.

PÉREZ, M.; J. SOTO; R. ROMÁN; I. ANGULO; D. ARRIETA; R. VALERIS. 2001. Efectos de la Aflatoxina b₁ sobre la producción de huevos de consumo. Revista Científica, FCV-LUZ, XI (4):337-341.

PEROZO, F.; S. RIVERA; G. FINOL; Y. MAVAREZ. 2003. Aflatoxina B₁, Selenio y *Saccharomyces cerevisiae* en la respuesta inmune de pollos de engorde en el estado Zulia, Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ, XIII (5):360-370.

REDDY, A.; P. REDDY; B. YADRAGI. 1982. Effect of experimentally induced aflatoxicosis on the performance of commercial broiler chickens. Indian J. Anim. Sci. 52:405-410.

RIVERO, E.; M. GAMBOA; M. ROJAS; C. MARTÍNEZ; L. DE SOUSA. 1998. Aflatoxinas en alimentos para aves. *Avicultura Profesional*, Vol. 16(6):36-38.

ROSA, C. A.; R. MIAZZO; C. MAGNOLI; M. SALVANO; S. M. CHIACCHIERA; S. FERRERO; M. SAENZ; E. C. CARVALHO; A. DALCERO. 2001. Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Poult. Sci.* 80(2):139-144.

SMITH, J. W.; P. B. HAMILTON. 1970. Aflatoxicosis in the broiler chicken. *Poult. Sci.* 49(1):207-215.

SMITH, J. E.; N. O. MOSS. 1985. *Micotoxins: formation, analysis and significance*. John Wiley and sons. LTD. U.K. (1985).

TORREALBA, H. 2001. Los Manano-oligosacáridos un arma biotecnológica en la batalla contra las Micotoxinas. *Venezuela Avícola*, 33:19-21.