

Effect of aflatoxin B₁ at different dietary levels in broiler chickens

I. RIAHI^{1*}, A.M. PÉREZ-VENDRELL¹, A.J. RAMOS² V. MARQUIS³ y J. BRUFAU¹

¹IRTA, Animal Nutrition and Welfare Program, Mas de Bover, Ctra. Reus-El Morell, Km 3.8, 43120 Constantí, Spain. ²Food Technology Department, XaRTA-UTPV, Agrotecnio Center, University of Lleida. Avda Rovira Roure, 191. 25198 Lleida, Spain. ³Phileo-Lesaffre, 2580 Chemin de Vallesvilles, 31600 Seysses (France). *e-mail: insaf.riahi@irta.cat

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de distintos niveles de la aflatoxina B₁ (AFB₁) en los parámetros productivos de pollos broiler, en el peso relativo de sus órganos y en bioquímica y hematología de la sangre. Se realizó un ensayo con 144 pollos broiler machos Ross 308 de un día de vida, distribuidos en 3 grupos experimentales: grupo control (T1), grupo alimentado con 20 ppb de AFB₁ (T2) y grupo alimentado con 40 ppb de AFB₁ (T3). Se utilizaron 8 jaulas con 6 aves cada una, en cada tratamiento, con un diseño de bloques completos al azar durante 22 días. De 0 a 7 días, las aves se alimentaron con una dieta de inicio común, no contaminada, y en forma de harina. De 7 a 22 días, las aves se alimentaron con las dietas experimentales que contenían maíz contaminado (185 ppb de AFB₁), incluido al 10,81% para T2, y al 21,63%, para T3. Los diferentes niveles de AFB₁ no afectaron de forma significativa ni la ingesta diaria de pienso ni el índice de conversión ($P > 0.05$). En el periodo de 1 a 22 días, los pollos alimentados con tratamiento con 20 ppb de AFB₁, mostraron un menor peso vivo (992.7 g vs 928.3 g, $P < 0.06$) y una ganancia media diaria inferior (43,1 frente a 40,1 g / d) frente a los animales del control. El peso relativo de proventrículo y molleja fue significativamente mayor en los animales del tratamiento T3 ($P < 0.05$). La dieta con 40 ppb de AFB₁ aumentó el nivel de gamma-glutamyltransferasa ($P < 0,07$) y redujo el nivel de glucosa en suero ($P < 0,10$). La creatinina quinasa fue asimismo mayor en sangre de aves alimentadas con la dosis alta de AFB₁, comparada con 20 ppb de la micotoxina. La ingesta de AFB₁ aumentó el porcentaje de basófilos en la sangre de pollos alimentados con dietas contaminadas ($P < 0.05$). En resumen, la presencia de AFB₁ en la alimentación de pollos durante 3 semanas redujo el crecimiento de las aves, aumentó el peso relativo de algunos órganos digestivos y afectó la bioquímica (GGT, glucosa) y la hematología de la sangre (% basófilos).

Palabras claves: pollos de engorde; AFB₁; micotoxinas; parámetros productivos; peso órganos.

The aim of this study was to evaluate the effect of aflatoxin B₁ (AFB₁) at different levels (20 or 40 ppb) on chicken performance, relative weight of organs, serum chemistry and hematology.

An animal trial was conducted with 3 different experimental groups of broiler chicks (Ross 308): control group (T1), 20 ppb of AFB₁ group (T2) and 40 ppb of AFB₁ group (T3). 8 replicated cages of 6 birds were used for each treatment in a randomized complete block design for 22 days. From 0 to 7 days, birds were fed a common not contaminated basal diet in mash form. From 7 to 22 days, birds were fed the experimental diets containing contaminated maize (185 ppb of AFB₁), added at 10.81% for T2 and 21.63% for T3. The results revealed that the different levels of AFB₁ did not affect daily feed intake and feed conversion ratio ($P > 0.05$), whereas statistical differences ($P < 0.06$), as compared to control, were found in body weight (992.7 vs. 928.3 g) and body weight gain (43.1 vs. 40.1 g/d), at 20 ppb of AFB₁ at 22 days. The relative weight of proventriculus and gizzard were significantly higher in T3 ($P < 0.05$). T3 diet increased the level of serum gamma-glutamyl transferase ($P < 0.07$) and reduced the level of serum glucose ($P < 0.10$). Serum creatinine kinase, was higher in blood of

birds fed 40 ppb AFB1, as compared to 20 ppb of AFB1. The intake of AFB1 (at 20 or 40 ppb) increased the percentage of basophiles in chickens blood (P<0.05). In summary, the presence of AFB1 in chicken feed for 3weeks reduced the growth of birds and increased the relative weight of some digestive organs, and affected blood chemistry (GGT, glucose) and hematology (% basophiles).

Keywords: broilers; AFB1; mycotoxins; productive performance; organ weight.

Introducción

Las aflatoxinas son un grupo de micotoxinas que frecuentemente se encuentran en los productos alimentarios así como en los piensos para animales, producidas por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Penicilliumpuberulum*. Estas micotoxinas se caracterizan por ser carcinogénicas e inmunodepresoras. Del grupo de aflatoxinas, la AFB1 es la más frecuente y la de mayor toxicidad. En general, las aves son más sensibles a las aflatoxinas que otras especies (Hussein and Brasel, 2001). La Unión Europea recomienda en el caso de piensos para los pollos que no se exceda de un nivel máximo en el pienso de 20 µg de AFB1/kg de pienso. En la práctica, raramente se observan episodios de toxicidad aguda. La toxicidad crónica, con niveles de bajos a moderados de toxina en los piensos, reduce el consumo de alimento y la ganancia media de peso de los pollos de carne. Asimismo, se han descrito alteraciones en los parámetros bioquímicos y hematológicos (Denli *et al.*, 2004; 2009) de la sangre. De hecho, la presencia de AFB1 causa además de problemas agrícolas, grandes pérdidas económicas (Kubena *et al.*, 1998) y produce serios problemas de salud.

El objetivo de este experimento fue evaluar los efectos de dietas contaminadas con distintos niveles de AFB1 sobre el rendimiento productivo, el peso relativo de órganos digestivos e inmunológicos, y sobre la bioquímica y hematología de la sangre.

Material y métodos

El periodo experimental fue de 23 días. Se utilizaron 144 pollitos machos de un día de vida de la estirpe Ross 308, que se distribuyeron en 24 jaulas Petersime, a razón de 6 animales por jaula. El ensayo se realizó en una sala de ambiente controlado, con luz artificial, ventilación forzada y calefacción a gas.

Se ensayaron 3 tratamientos (8 réplicas cada uno): tratamiento T1 (control no contaminado), tratamiento T2 (contaminado con 20 ppb de AFB1), tratamiento T3 (contaminado con 40 ppb de AFB1). Los piensos T2 y T3 contenían 10.81% y 21.63%, respectivamente, de un maíz contaminado (185 ppb AFB1). Se utilizaron dos tipos de dietas de maíz-soja, en harina: una dieta de inicio común no contaminada hasta los 7 días, y las dietas experimentales, de 7 a 23 días. La dieta base se formuló con 22,4% de proteína bruta y 3050 kcal/kg de energía metabolizable. Las aves tuvieron acceso ad libitum al pienso y al agua. Se analizó la composición proximal de los piensos mediante los métodos AOAC (2000), así como la presencia de aflatoxina B1, mediante el test inmunocromatográfico Rida® Quick Aflatoxin RQS.

Se evaluaron los parámetros productivos: peso vivo, ganancia media diaria (GMD), consumo de pienso diario (CMD) e índice de conversión (IC), por réplica, en el periodo experimental de 1 a 22 días. Al final del ensayo, se pesaron y sacrificaron dos animales de cada réplica (16 animales por tratamiento). Se recogieron y pesaron distintos órganos digestivos e inmunológicos: proventrículo, molleja, páncreas, hígado, riñón, bazo, timo y bolsa de Fabricio, y se calculó su peso relativo al peso corporal. Se tomaron muestras de sangre de los mismos animales para obtener el hemograma completo, así como distintos parámetros bioquímicos: glucosa y enzimas (GGT, AST, ALT, CK).

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de la varianza (ANOVA) con un diseño experimental de bloques al azar, utilizando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS, se utilizó el test de Duncan de rango múltiple para la separación de medias.

Resultados y discusión

Al final del periodo experimental (22 días), los animales alimentados con el pienso control presentaron crecimientos normales (992.7 g de peso vivo, y 43,1 g/día de ganancia media diaria), teniendo en cuenta que el pienso se proporcionó en harina. La presencia de AFB1 no afectó ni el consumo medio diario (CMD) ni el índice de conversión, pero redujo el peso vivo y la ganancia media diaria (GMD). Los pollos alimentados con tratamiento con 20 ppb de AFB1, mostraron un menor peso vivo (928.3 g, $P < 0.06$) y una ganancia media diaria inferior (40,1 g / día) (Tabla 2). Muchos estudios también han mostrado el efecto negativo de la presencia de AFB1 en el pienso sobre el rendimiento productivo de los pollos broilers, dependiendo de la dosis y la duración de exposición a la micotoxina (Denli *et al.*, 2004; 2009; Fernández *et al.*, 1994; Kana *et al.*, 2010). En el presente estudio, los peores resultados productivos se observaron en los animales alimentados con 20 ppb de micotoxina, que no fueron, sin embargo, diferentes a los obtenidos con la concentración más alta (Tabla 1).

Tabla 1 Rendimiento productivo de los pollos broilers alimentados AFB1 (20/40ppb) a 22 días de vida

	Peso vivo 22 d (g)	GMD (g)	CMD	IC
Grupo Control	993 ^a ±55	43.1 ^a ±2.5	51.3±3.4	1.199±0.03
Grupo AFB1 (20ppb)	929 ^b ±39	40.2 ^b ±1.8	50.2±5.1	1.25±0.12
Grupo AFB1 (40ppb)	940 ^{ab} ±63	40.7 ^{ab} ±2.9	50.6±2.9	1.244±0.03
ANOVA	0.06	0.06	NS	NS

El efecto adverso de AFB1 en el rendimiento productivo de los pollos broilers podría ser el resultado de la reducción en la síntesis de proteína (Parlat *et al.*, 2001) y podría ser explicado también por la reducción de la utilización de las proteínas y de la energía (Verma *et al.*, 2002)

No se observaron efectos sobre los pesos relativos de órganos en los animales que consumieron 20 ppb de AFB1. La presencia de 40 ppb de esta micotoxina afectó significativamente el peso relativo de proventrículo y molleja (Tabla 2). Los resultados descritos por otros autores son muy variables. Según Raju y Devegodhwa (2000) y Edrington *et al.* (1997), niveles de 3.5-4 mg/kg de dieta no tuvieron efecto sobre el peso del proventrículo y molleja. Sin embargo, la misma concentración de 4 mg AFB1/kg pienso afectó significativamente el peso de estos órganos en los estudios de Kubena *et al.* (1997) y Kana *et al.* (2010). En el presente ensayo, se observó una tendencia al aumento de peso relativo del hígado, conforme se aumentó la presencia de AFB1 en el pienso, micotoxina descrita como hepatotóxica, sin llegar a ser significativa.

Tabla 2 Efecto de AFB1 (20/ 40 ppb) sobre el peso relativo de los órganos

Peso relativo del Órgano (%)	Grupo Control	Grupo AFB1 (20ppb)	Grupo AFB1 (40ppb)	ANOVA
Molleja (%)	6.50 ^b ±0.69	6.40 ^b ±1.20	6.53 ^a ±0.57	0.002
Proventrículos (%)	2.06 ^b ±0.24	2.16 ^{ab} ±0.27	2.29 ^a ±0.21	0.06
Pancreas (%)	0.33±0.04	0.33±0.03	0.32±0.04	NS
Hígado(%)	2.35±0.22	2.38±0.20	2.45±0.22	NS
Riñón (%)	0.35±0.04	0.35±0.03	0.35±0.03	NS
Bazo (%)	0.09±0.01	0.09±0.01	0.10±0.02	NS
Timo (%)	0.24±0.04	0.25±0.05	0.26±0.03	NS
Bursa de Fabricius (%)	0.25±0.07	0.25±0.07	0.23±0.06	NS

La dieta con 40 ppb de AFB1 aumentó el nivel de gamma-glutamyltransferasa ($P < 0,07$) y redujo el nivel de glucosa en suero ($P < 0,10$), al igual que observaron Zhou *et al.* (2010) y Ledoux *et al.* (1999), con piensos contaminados con 0.2 ppm de AFB1. La creatinina quinasa fue asimismo mayor en sangre de aves alimentadas con la dosis alta de AFB1, comparada con 20 ppb de la micotoxina (Tabla 3). Kubena *et al.* (1998) describe que el aumento de enzimas hepáticas y renales por efecto de las aflatoxinas se debe a la inhibición de síntesis de proteínas en el hígado y al daño producido en hígado y riñón. La ingesta de AFB1 aumentó el porcentaje de basófilos en la sangre de pollos alimentados con dietas contaminadas ($P < 0.05$), lo que implica afectación del sistema inmune.

Tabla 3 Efecto de AFB1 (20/ 40 ppb) sobre cualquier parámetros de la bioquímica y la hematología de sangre de los pollos de 22 días de edad.

Parámetro	Grupo Control	Grupo AFB1 (20ppb)	Grupo AFB1 (40ppb)	ANOVA
Gamma-glutamyltransferasa (U/L)	15.62 ^b ±2.00	18.85 ^{ab} ±3.93	19.00 ^a ±2.92	0.0614
Glucosa (mg/dL)	259.87 ^a ±16.78	256.75 ^{ab} ±12.23	244.50 ^b ±11.41	0.1062
Creatinina quinasa (U/L)	4980.12 ^{ab} ±1791.53	3372 ^b ±1108.60	5280.62 ^a ±1290.18	0.0658
Basófilos	0.57 ^b ±1.51	4.87 ^a ±5.02	4.37 ^a ±3.96	0.0457

En conclusión, la presencia de AFB1 en la alimentación de pollos durante 3 semanas redujo el crecimiento de las aves, aumentó el peso relativo de algunos órganos digestivos y afectó la bioquímica (GGT, glucosa) y la hematología de la sangre (% basófilos).

Referencias

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS AOAC (2000) Official Methods of Analysis, 17th ed. Washington DC, Association of Official Analytical Chemist.
- DENLI, M., BLANDON, J.C., GUYNOT, M.E., SALADO, S. and PEREZ, J.F. (2009) Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes, and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B₁. *Poultry Science* **88**: 1444-1451
- DENLI, M., OKAN, F. AND DORAN, F. (2004) Effect of conjugated linoleic acid (CLA) on the performance and serum variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxin B₁. *South African Journal of Animal Science* **34**: 97-103.

- EDRINGTON, T., KUBENA, L., HARVEY, R. and ROTTINGHAUS, G.** (1997) Influence of a superactivated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or T-2 toxin in growing broilers. *Poultry Science* **76**: 1205-1211
- FERNÁNDEZ, A., VERDE, M.T., GASCON, M., RAMOS, J.J. and GOMEZ, J.** (1994) Aflatoxin and its metabolites in tissues from laying hens and broiler chickens fed a contaminated diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **65**: 407-414
- HUSSEIN, H. S., and BRASEL, J. M.** (2001). Review: Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* **167**:101-134
- KANA, J.R., TEGUIA, A. and TCHOUMBOUE, J.** (2010) Effect of dietary plant charcoal from *Canarium schweinfurthii* Engl. and maize cob on aflatoxin B₁ toxicosis in broiler chickens. *Advances in Animal Biosciences* **1**:462-463 doi: 10.1017/S2040470010000841.
- KUBENA, L., HARVEY, R., BAILEY, R., BUCKLEY, S. and ROTTINGHAUS, G.** (1998) Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens. *Poultry Science* **77**: 1502-1509
- KUBENA, L., HARVEY, R., BUCKLEY, S., EDRINGTON, T. and ROTTINGHAUS, G.** (1997) Individual and combined effects of moniliformin present in *Fusarium fujikuroi* culture material and aflatoxin in broiler chicks. *Poultry Science* **76**: 265-270
- LEDOUX, D., ROTTINGHAUS, G., BERMUDEZ, A. AND ALONSO-DEBOLT, M.** (1999) Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poultry Science* **78**: 204-210
- PARLAT, S.S., OZCAN, M. AND OGUZ.** (2001) Biological suppression of aflatoxicosis in Japanese quail (*Coturnix japonica*) by dietary addition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Research in Veterinary Science* **71**: 207-211
- RAJU, M.V.L.N. and DEVEGOWDA, G.** (2000) Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin) . *British Poultry Science* **41**:640-650. doi: 10.1080/713654986
- SAS INSTITUTE INC** (2008) SAS/STAT® 9.2. *User's Guide* (Cary,NC, SAS Institute Inc).
- VERMA, J., JOHRI, T.S., SWAIN, B.K. and AMEENA, S.** (2004) Effect of graded levels of aflatoxin, ochratoxin and their combinations on the performance and immune response of broilers. *British Poultry Science* **45**: 512-518
- ZHAO, J., SHIRLEY, R.B., DIBNER, J.D., URAIZEE, F., OFFICER, M., KITCHELL, M., VAZQUEZ-ANON, M. and KNIGHT, C.D.** (2010) Comparison of hydrated sodium calcium aluminosilicate and yeast cell wall on counteracting aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Science*. **89**: 2147-2156