

EFFECTO DE LA INGESTIÓN DE CULTIVO *Saccharomyces cerevisiae* Y SELENIO EN POLLOS DE ENGORDE EXPUESTOS A BAJOS NIVELES DE AFLATOXINA B₁ EN LA DIETA

Effect of *Saccharomyces cerevisiae* Culture and Selenium Intake in Broiler Chickens Exposed to Low Levels of Aflatoxin B₁ in the Ration

Carlos O. Gómez¹, Alexis Ferrer², Mariela Lachmann³, Darwain Arrieta-Mendoza⁴, Elizabet Novoa⁵ y Rafael Román-Bravo³

¹ Sistema Regional de Salud, Estado Mérida. ² Laboratorio de Instrumentación Analítica, Dpto. de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo. ³ Departamento de Producción e Industria Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. ⁴ Cátedra de Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Maracay-Aragua. ⁵ Instituto Hematológico de Occidente, Zulia.

E-mail: carlosnegomez@hotmail.com; darwainarrieta@yahoo.es

RESUMEN

El presente estudio determinó el efecto de 0,1% de cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (CSc) y 2 mg/kg de selenio (Se) sobre los índices productivos y concentración de proteínas totales en pollos de engorde que recibieron dietas con 0,07 mg/kg de aflatoxina B₁ (AFB₁). Un total de 480 pollos de engorde, de un día de nacidos, fueron asignados al azar para recibir 8 tipos de dietas durante 42 días. Se registró el peso de las aves (P), consumo de alimento (C), conversión de alimento (CV), ganancia de peso corporal (GPC), mortalidad (M) y a los 42 días se tomó suero sanguíneo de cada grupo para determinar la concentración de proteínas totales (PT). Las dietas correspondieron a los siguientes tratamientos (T) T₁: grupo control que consiste en alimento comercial (AC) sin niveles detectables de aflatoxina; T₂: AC + AFB₁; T₃: AC + CSc; T₄: AC + AFB₁ + CSc; T₅: AC + Se; T₆: AC + AFB₁ + Se; T₇: AC + CSc + Se; T₈: AC + AFB₁ + CSc + Se. La inclusión de CSc y/o Se en dietas con o sin AFB₁ no alteró (P>0,05) el P, GPC, CV PT. El C incrementó (P≤0,01) con la inclusión de CSc y/o Se en el alimento con AFB₁ (T₄, T₆, T₈), con respecto a los pollos que recibieron CSc y/o Se sin AFB₁ (T₃, T₅, T₇). La M en aves que recibieron AFB₁ (T₂, T₄, T₆, T₇), incrementó (P<0,15), con respecto a las que recibieron dietas sin AFB₁ (T₁, T₃, T₅, T₇). Estos resultados sugieren que la ingestión durante 42 días de 0,07 mg/kg de AFB₁ en la dieta de pollos de engorde, puede tener efectos en algunos parámetros productivos, pudiendo aumen-

tarse el consumo de alimento sin cambios en el P, GPC y CV por la inclusión individual o combinada de CSc y Se en las dietas contaminadas.

Palabra clave: Aflatoxina, levadura, selenio, pollo.

ABSTRACT

The present study determine the effect of 0.1% of yeast *Saccharomyces cerevisiae* (CSc) and 2 mg/kg de selenium (Se) over productive ranges and total protein concentrations on broiler chickens feed with a diet contaminated with 0.07 mg/kg of aflatoxin B₁ (AFB₁). 480 newborn broiler were randomly organized to receive 8 different diet during a 42 days period. Weight (P), Daily consume (C), Food conversion (CV) corporal weight gain (GPC), mortality (M) of broiler and at 42 days it was took blood serum of each group to determine total protein (PT) concentration. Diets corresponded the following treatments (T). T₁: control group constitute by a commercial diet (AC) without any detectable level of aflatoxins; T₂: AC + AFB₁; T₃: AC + CSc; T₄: AC + AFB₁ + CSc; T₅: AC + Se; T₆: AC + AFB₁ + Se; T₇: AC + CSc + Se; T₈: AC + AFB₁ + CSc + Se. The inclusion of CSc and/or Se diets with or without AFB₁ did not affect (P>0.05) P, GPC, CV and PT. The increase of C (P≤0.01) with inclusion of CSc and/or Se at feeding with AFB₁ (T₄, T₆, T₈), compared to boilers that received CSc and/or Se without AFB₁ (T₃, T₅, T₇). M on broilers that received AFB₁ (T₂, T₄, T₆, T₇) incremented (P<0.15) compared to broilers that received a feeding without AFB₁ (T₁, T₃, T₅, T₇). These results suggest that the ingestion during 42 days period with 0.07

mg/kg of AFB₁ on diet of broiler, could have some effects on production parameters increasing consume of food without changes for P, GPC and CV by individual or combined inclusion of CSc and Se on contaminated diets.

Key word: Aflatoxin, yeast, selenium, broiler.

INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos principalmente por algunas cepas de hongos del género *Aspergillus*, describiéndose generalmente la aflatoxina B₁ como un compuesto altamente hepatotóxico en pollos de engorde (*Gallus gallus*) [30] y hepatocarcinogénico en humanos [21]. Frecuentemente se detecta en semillas o materias primas vegetales [26], son muy termoestables y la peletización de los alimentos elaborados con materias primas contaminadas no las destruyen [45], por lo que su presencia en alimentos de consumo animal, es un problema de seguridad alimentaria [8, 10, 21]. En Venezuela se ha detectado en materias primas destinadas a la elaboración de alimentos de aves, niveles superiores a los máximos permitidos para alimentación animal [22].

Las aflatoxinas son las principales micotoxinas que afectan la industria avícola [30, 37, 38]. La toxicidad de la aflatoxina ha sido ampliamente descrita en pollos de engorde por sus efectos inhibitorios sobre el desarrollo [35], cambios en los valores hemáticos y bioquímicos normales [33], disminución de la respuesta inmune [39], cambios patológicos [12, 19, 28] y presencia de residuos en tejidos comestibles [6]. Los alimentos destinados para pollos de engorde contaminados con aflatoxinas, inducen aflatoxicosis en las parvadas, que se caracterizan por escaso consumo de alimento con baja tasa de crecimiento, disminución de la ganancia de peso corporal con inapropiada conversión, provocando mayor susceptibilidad al estrés ambiental y a los agentes microbianos, aumentando la mortalidad de las aves [29, 30]. Todos estos efectos provocan pérdidas económicas considerables a la empresa avícola.

Los efectos dependerán principalmente del tiempo de exposición y la dosis [30], asimismo en pollos de engorde las investigaciones con bajas concentraciones de aflatoxina por amplios períodos de exposición, generalmente reportan efectos subclínicos o no letales y no por ello menos nocivos [3, 30, 34]. En la actualidad, las investigaciones se han enfocado a inducir aflatoxicosis con bajos niveles de toxina en la dieta por amplios períodos de exposición, debido a que estos casos crónicos se presentan naturalmente en condiciones de campo cada vez con mayor frecuencia [36, 37, 44].

En respuesta a esta situación se ha utilizado el cultivo de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, cuya pared celular se le atribuyen propiedades secuestrantes de aflatoxina en el alimento, disminuyendo los efectos adversos en pollos de engorde que reciben dietas contaminadas con aflatoxinas [2, 17, 27]. Una situación semejante ocurre con el uso del selenio

como protector de los efectos hepatotóxicos de la aflatoxina B₁ en aves de corral [7]. En el país se han utilizado estos productos, pero aún existe escasa documentación en el sector avícola que permita distinguir los beneficios de los dos aditivos en conjunto ante esta micotoxina.

Considerando los aspectos antes descritos a fin de contribuir en la salud pública y en la economía avícola, este experimento tuvo el objetivo de determinar los efectos adversos en pollos que consumen alimento con aflatoxina B₁ (AFB₁) a bajas concentraciones (0,07 mg/kg), en consonancia con la contaminación natural de esta toxina en el medio y evaluar la eficacia del cultivo de *S. cerevisiae*¹⁰²⁶ (CSc) y/o selenio (Se) adicionados al alimento, sobre los posibles efectos nocivos de la AFB₁ en los índices productivos y proteínas totales en pollos engorde.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación Geográfica del Estudio y Manejo de las Aves

El experimento se realizó en el Centro Experimental de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad del Zulia (L.U.Z), ubicado en el municipio La Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela; zona clasificada como bosque seco tropical con temperatura promedio de 30°C y una precipitación promedio de 800mm/año [20]. Se utilizaron 480 pollitos (*Gallus gallus*) híbridos Hubbar x Hubbar, machos, de un día de edad, procedentes de una incubadora comercial, seleccionados y vacunados según programa de vacunación reportado en ensayos anteriores [4]. Las aves fueron separadas y pesadas en 32 lotes de 15 pollitos cada uno y fueron distribuidos al azar en 32 corrales de tres metros cuadrados (2 x 1,5 mts) cada uno, a razón de 5 aves/m² con divisiones de 0,70mts de altura. Los corrales se ubicaron dentro de un galpón avícola, el cual se desinfectó y fumigó previamente, dándole un periodo de 20 días de descanso. El piso fue cubierto con concha de arroz (*Oryza sativa*), previamente fumigada, sobre la cual se ubicaron los 32 corrales donde las aves permanecieron durante 42 días con agua y alimento administrados *ad libitum*.

Dietas experimentales

Se emplearon 8 tipos de dietas experimentales, cada una con un total de 60 pollos distribuidos al azar en 4 réplicas de 15 aves por corral. Estas dietas correspondieron a los siguientes tratamientos T₁: grupo control que consiste en alimento comercial (AC) sin niveles detectables de aflatoxina; T₂: AC + AFB₁; T₃: AC + CSc; T₄: AC + AFB₁ + CSc; T₅: AC + Se; T₆: AC + AFB₁ + Se; T₇: AC + CSc + Se; T₈: AC + AFB₁ + CSc + Se.

Alimento

El alimento comercial (AC) de la dieta control fue producido en una fábrica de alimento a base de maíz (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum vulgare*) y harina de soya (*Glycine max*) sin niveles detectables de aflatoxinas. Se emplearon dos tipos de

alimentos balanceados: iniciador (proteína: 23,2%; grasa: 8,4%; fibra: 2,8%; energía metabolizable EM/kg MS: 3150 Kcal y selenio como selenito de sodio: 0,1726 mg/kg) que se ofreció a las aves desde el día 1 hasta el día 21 y el alimento terminador (proteína: 19%; grasa: 10,5%; fibra: 2,9%; energía metabolizable EM/kg MS: 3000 Kcal y selenio como selenito de sodio: 0,3027 mg/kg) desde el día 22 al día 42 del experimento. Estos se elaboraron en función a requerimientos de la línea genética de las aves y suplementados con aminoácidos, vitaminas y minerales establecidos por el Consejo de Investigación Nacional (NRC) de EUA. [32]. Se tomaron muestras de estos alimentos por duplicado para análisis bromatológicos y nutricionales según la metodología descrita en otros ensayos [23].

El cultivo de levaduras utilizado estuvo compuesto por células de la cepa 1026 de levadura de *Saccharomyces cerevisiae*, liofilizado y microencapsulado en β -glucano para protegerlo y preservar su viabilidad, estandarizado a una concentración mínima de 5 billones de levaduras vivas por gramo, según las especificaciones dadas por el fabricante (Alltech® Corporate Headquarters, EUA.). La concentración en las dietas experimentales con inclusión de esta levadura se hizo a razón de 0,1% del alimento balanceado considerando los resultados de estudios previos [15, 43]. La fuente de Se utilizada para suplementar dichas dietas experimentales fue selenito de sodio (Na₂SeO₃·5H₂O) en polvo, con un aporte del 45,6% de Se según la información comercial y se adicionaron 2 mg/kg del mismo en las dietas experimentales, considerando los resultados de otros autores [24].

El alimento balanceado fue contaminado de manera artificial con AFB₁ purificada (98%) procedente de *A. flavus* de laboratorios Sigma (elaborado en Israel, catalogo N° A6536/4), en forma liofilizada. Antes de hacer la contaminación general del alimento con la AFB₁, se hizo una premezcla de la misma con una porción del alimento balanceado, que consistió en diluir el contenido del envase de 50mg de AFB₁ en 8mL de Acetonitrilo (Burdick & Jackson Inc, EUA. Cat. 015-4), los cuales se agregaron en 2 kilogramos de alimento contenidos en un envase de vidrio y luego se procedió a mezclarlos por 4 horas en un agitador mecánico previamente descrito [23].

La premezcla de AFB₁, al igual que los dos aditivos (CSc y Se), se mezclaron con el alimento comercial, de acuerdo con las proporciones requeridas. Previamente se practicó una prueba de homogenización al mezclador utilizando harina de maíz y sulfato de cobre, dando como resultado un coeficiente de variación de 0,6%. Inicialmente se agregó el CSc al alimento comercial y luego el selenito de sodio en las proporciones mencionadas, posteriormente se adicionó la porción de alimento previamente contaminada con AFB₁, para obtener una concentración final de 0,07 mg/kg en los tratamientos contaminados. Esta concentración se basó en los hallazgos de toxicidad en pollos de engorde, descritos en estudios anteriores [3, 18].

Detección de Aflatoxina en Alimento y Prueba de Recuperación de Aflatoxina

Por cada dieta (tratamiento) se tomaron 4 muestras de alimento antes y después de la contaminación con AFB₁. La detección se efectuó mediante el uso de un fluorómetro VICAM Serie-4, Modelo VICAM VI.0, EUA, especialmente diseñado para análisis de micotoxinas con las columnas de inmunoafinidad VICAN [1]. La prueba de recuperación de AFB₁ se ejecutó por triplicado sobre la matriz del alimento balanceado empleado en el estudio, utilizando patrones de referencia con concentraciones de 0 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,08 mg/kg y 0,18 mg/kg. Los resultados indicaron que el alimento comercial balanceado utilizado como matriz en el ensayo estaba libre de aflatoxina y el alimento contaminado (T₂) con fines experimentales registró una concentración promedio de 0,07 mg/kg de AFB₁. Este valor se obtuvo utilizando el valor de concentración de AFB₁ detectada por el equipo y corregido en función de un 81,25% de recuperación, estimado para la columna utilizada mediante la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución [1].

Determinación de Índices Productivos

Se registró el peso en cada grupo experimental, a los 1; 7; 14; 21; 28; 35 y 42 días de edad de los pollos a fin de conocer el peso (P) de las aves y la ganancia diaria de peso corporal (GPC). La mortalidad (M) fue registrada diariamente, de acuerdo a su ocurrencia, contándose las aves muertas por tratamiento. Diariamente se pesó la cantidad de alimento ofrecido y rechazado por las aves de cada tratamiento para determinar el consumo de alimento (C) diario. La cantidad de alimento consumido por kilogramo de carne producido se calculó a fin de obtener las conversiones (CV) de alimento semanales. Posteriormente se obtuvieron los valores acumulados de C, GPC y CV.

Determinación de Proteínas Totales

Cuando los pollos llegaron al día 42 del experimento se tomaron al azar 8 aves por tratamiento (2 por réplica), para tomarles muestras de sangre mediante punción cardiaca en tubo de ensayo estéril, sin anticoagulante, para obtener el suero sanguíneo y determinar concentración de proteínas totales, empleando el procedimiento descrito en ensayos anteriores [4]. Igualmente se tomaron muestras de hígado de las aves para evaluar los efectos de las dietas experimentales sobre este órgano, cuyos hallazgos morfológicos fueron previamente publicados [3, 5].

Análisis Estadístico

Los datos de las variables GPC, C, CV y P se analizaron con el procedimiento de modelos Mixtos del S.A.S [41], usando un modelo correspondiente a parcelas divididas en el tiempo en un modelo aditivo lineal, determinado de acuerdo con el Criterio Bayesiano de Schwarz [14]. Los valores de proteínas totales se analizaron con un modelo aditivo lineal. En aquellas variables donde resultó significativo un efecto, las comparacio-

nes entre los promedios se realizaron con contrastes ortogonales para comparar medias de los tratamientos no contaminados contra el T₁ y comparar los tratamientos contaminados contra el T₂ y por cada tipo de dieta comparar el contaminado contra la no contaminada. Para la mortalidad los análisis se realizaron calculando las frecuencias y pruebas de Ji-Cuadrado [14].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros Productivos

Los resultados obtenidos revelan que los pollos alimentados con dietas contaminadas con 0,07mg de AFB₁ por kg de alimento no mostraron cambios significativos (P>0,05), en el P (TABLA I), C (TABLA II), CV (TABLA III), GPC (TABLA IV), M (TABLA V) y concertación de proteínas totales (TABLA VI) a los 42 días de edad comparados con el grupo control (T₁). Asimismo, también se muestran los valores acumulados de C, CV, y GPC (TABLA VII) los cuales no presentaron diferencias significativas (P>0,05). El análisis de varianza con los datos registrados a los 42 días (sexta semana) y para la interacción semana por tratamiento no demostró diferencias (P>0,05) en P, CV, GPC atribuibles a los tratamientos, indicando que la inclusión individual o combinada de 0,1% CSc y 2 mg/kg de Se en el alimento con y sin 0,07 mg/kg de AFB₁, no ocasionó cambios significativos favorables o adversos sobre el P, CV, GPC con respecto al grupo control de este experimento.

Sin embargo, la interacción semana por tratamiento fue altamente significativa para el C (P<0,01), y el análisis de varianza con los datos correspondientes a los 42 días (sexta semana) demostró diferencia estadística en el C, atribuibles a los tratamientos, observándose incremento (P≤0,01) del consumo

(TABLA II) en pollos que recibieron dietas con la inclusión individual o combinada de 0,1% CSc y 2mg/kg de Se en el alimento con 0,07 mg/kg de AFB₁ (T₄, T₆ y T₈), con respecto aquellos pollos que recibieron los mismos aditivos (CSc y Se) en las dietas sin AFB₁ (T₃, T₅ y T₇).

A este respecto, Dalvi y Ademoyero [13], describen una drástica disminución de la ganancia de peso y consumo de alimento en pollos alimentados con altos niveles de AFB₁ (10 mg/kg), lo cual fue contrarrestado parcialmente por la adición de Se (0,05 mg/kg) en la dieta contaminada. Otros estudios [31] reportan incremento significativo del consumo en pollos que recibieron dietas suplementadas con levadura de *S. cerevisiae*. Adicionalmente, Oguz y col. [36], utilizando bajos niveles (0,05 mg/kg) de aflatoxina en la dieta, reportan un incremento significativo del C en pollos a la 5^{ta} semana del ensayo, pero no a la 6^{ta} semana. En el presente ensayo no se observaron variaciones (P>0,05) del C en aves que recibieron 0,07 mg/kg de AFB₁ (T₂).

Con relación al índice de mortalidad (M) del ensayo, el número de pollos muertos de los grupos alimentados con 0,07 mg/kg de AFB₁ en la dieta (T₂, T₄, T₆ y T₈), duplicó el número de aves muertas en los grupos que consumieron dietas sin AFB₁ (TABLA V); aunque la diferencia no fue significativa (P>0,05), se hizo evidente una clara tendencia a aumentar la mortalidad (P<0,15). Considerando que la presencia de aditivos no disminuyó la tendencia de aumento de M, estos resultados divergen de los obtenidos por Devegowda y col. [16], quienes reportan incremento significativo en la mortalidad de pollos alimentados con dietas contaminadas con 0,5 mg/kg de aflatoxina y cuyo efecto fue revertido con la adición de 0,1% de CSc en alimento contaminado. Otros autores no reportan diferencias significativas en la mortalidad de los pollos con respecto al control utilizando concentraciones altas (1 mg/Kg.)

TABLA I

MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS PARA PESO (GRAMOS) POR SEMANA, EN POLLOS DE ENGORDE QUE RECIBIERON 0,1% DE CSC Y/O 2MG/KG DE SELENIO EN DIETAS CON Y SIN AFLATOXINA B₁ (0,07MG/KG) DURANTE 42 DÍAS / WEEKLY WEIGHT MEANS (GRAMS) OF BROILER CHICKENS THAT WERE FED WITH A RATION CONTAINING (OR NOT) 0.07 MG/KG AFLATOXIN B₁, AND SUPPLEMENTED WITH 0.1% CSC AND/OR 2MG/KG SELENIUM FOR 42 DAYS.

	Tratamientos (T)				Semanas					
	AFB ₁	CSc	Se	CSc+Se	1	2	3	4	5	6
T ₁	-	-	-	-	167,5	422,9	783,8	1188,8	1584,4	2097,7 ^a
T ₂	+	-	-	-	171,7	430,1	793,0	1206,2	1621,4	2124,6 ^a
T ₃	-	+	-	-	169,6	419,2	773,3	1160,0	1535,0	2084,2 ^a
T ₄	+	+	-	-	172,1	431,3	781,7	1173,2	1568,8	2031,7 ^a
T ₅	-	-	+	-	169,6	418,9	778,2	1170,7	1551,3	2034,0 ^a
T ₆	+	-	+	-	167,9	418,3	775,8	1164,2	1539,2	2064,0 ^a
T ₇	-	-	-	+	169,2	418,8	774,0	1167,5	1563,7	1995,1 ^a
T ₈	+	-	-	+	172,1	422,1	771,3	1195,8	1621,9	2112,1 ^a

AFB₁= Aflatoxina B₁; CSc= cultivo de levaduras *S. cerevisiae*; Se= Selenio.

Error típico Semana/Tratamiento: 0,020972.

^aMedias con igual superíndice en la misma columna son estadísticamente similares (P>0,05).

TABLA II
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS PARA CONSUMO (GRAMOS) POR SEMANA, EN POLLOS DE ENGORDE QUE RECIBIERON 0,1 % DE CSC Y/O 2MG/KG DE SELENIO EN DIETAS CON Y SIN AFLATOXINA B₁ (0,07MG/KG) DURANTE 42 DÍAS / WEEKLY CONSUMPTION MEANS (GRAMS) OF BROILER CHICKENS THAT WERE FED WITH A RATION CONTAINING (OR NOT) 0.07 MG/KG AFLATOXIN B₁, AND SUPPLEMENTED WITH 0.1% CSC AND/OR 2MG/KG SELENIUM FOR 42 DAYS.

	Tratamientos (T)				Semanas					
	AFB ₁	CSc	Se	CSc+Se	1	2	3	4	5	6
T ₁	-	-	-	-	137	366	554	764	962	1169 ^a
T ₂	+	-	-	-	140	370	558	779	948	1182 ^a
T ₃	-	+	-	-	140	358	549	760	945	1104 ^b
T ₄	+	+	-	-	139	368	557	766	950	1140 ^c
T ₅	-	-	+	-	139	364	553	757	944	1107 ^b
T ₆	+	-	+	-	138	371	559	756	954	1195 ^{ad}
T ₇	-	-	-	+	139	361	555	761	948	1127 ^c
T ₈	+	-	-	+	138	367	558	766	980	1189 ^a

AFB₁= Aflatoxina B₁; CSc= cultivo de levaduras *S. cerevisiae*; Se= Selenio.

Error típico Semana/Tratamiento: 0,00970.

^{abcd}Medias con distinto superíndice en la misma columna son diferentes (P≤0,01).

TABLA III
MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS PARA CONVERSIÓN (*) POR SEMANA, EN POLLOS DE ENGORDE QUE RECIBIERON 0,1% DE CSC Y/O 2MG/KG DE SELENIO EN DIETAS CON Y SIN AFLATOXINA B₁ (0,07MG/KG) DURANTE 42 DÍAS / WEEKLY CONVERSION MEANS (*) OF BROILER CHICKENS THAT WERE FED WITH A RATION CONTAINING (OR NOT) 0.07 MG/KG AFLATOXIN B₁, AND SUPPLEMENTED WITH 0.1% CSC AND/OR 2MG/KG SELENIUM FOR 42 DAYS.

	Tratamientos (T)				Semanas					
	AFB ₁	CSc	Se	CSc+Se	1	2	3	4	5	6
T ₁	-	-	-	-	1,089	1,433	1,536	1,888	2,583	2,279 ^a
T ₂	+	-	-	-	1,067	1,452	1,537	1,959	2,297	2,708 ^a
T ₃	-	+	-	-	1,089	1,435	1,550	1,968	2,534	2,017 ^a
T ₄	+	+	-	-	1,068	1,422	1,590	2,113	2,784	2,640 ^a
T ₅	-	-	+	-	1,086	1,495	1,540	1,934	2,491	2,334 ^a
T ₆	+	-	+	-	1,086	1,483	1,565	1,949	2,549	2,476 ^a
T ₇	-	-	-	+	1,086	1,466	1,602	1,950	2,398	2,889 ^a
T ₈	+	-	-	+	1,058	1,469	1,599	1,808	2,477	2,730 ^a

AFB₁= Aflatoxina B₁; CSc= cultivo de levaduras *S. cerevisiae*; Se= Selenio.

Error típico Semana/Tratamiento: 0,11775.

*Kg alimento/kg carne.

^aMedias con igual superíndice en la misma columna son estadísticamente similares (P>0,05).

[11], moderadas (0,3 mg/Kg.) [40] y bajas (0,05 y 0,1 mg/kg.) [36] de aflatoxina en la dieta.

A pesar que el índice de M no presentó diferencia significativa (P>0,05) en el presente experimento, hay que destacar que el porcentaje de mortalidad observado en las aves que recibieron dietas con estos niveles (0,07 mg/kg) de AFB₁, podría tener un gran impacto económico en las explotaciones de pollos de engorde, donde se manejan poblaciones de aves considerablemente mayores a las de este estudio; Investigaciones patológicas previamente publicadas [5], con profunda descripción sobre las lesiones hepáticas evaluadas en las aves del

presente experimento, contribuyen a explicar la mayor tendencia en el índice de M de los respectivos tratamientos del presente experimento.

Los resultados sobre la CV y GPC en la presente investigación (TABLA III y IV) son comparables con los obtenidos por Oguz y col. [36], quienes utilizando dietas contaminadas con menores niveles (0,05 mg/kg) de aflatoxina en comparación al presente ensayo, no reportan diferencias significativas en la ganancia de peso corporal y conversión de alimento en pollos evaluados durante 42 días de vida, pero cuando estos autores emplean mayores niveles (0,1 mg/kg) de aflatoxina en la dieta, en compa-

TABLA IV

MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS PARA GANANCIA DE PESO CORPORAL (GRAMOS) POR SEMANA, EN POLLOS DE ENGORDE QUE RECIBIERON 0,1% DE CSC Y/O 2MG/KG DE SELENIO EN DIETAS CON Y SIN AFLATOXINA B₁ (0,07MG/KG) DURANTE 42 DÍAS / WEEKLY BODY WEIGHT GAIN MEANS (GRAMS) OF BROILER CHICKENS THAT WERE FED WITH A RATION CONTAINING OR NOT 0.07MG/KG AFLATOXIN B₁, AND SUPPLEMENTED WITH 0.1% CSC AND/OR 2MG/KG SELENIUM FOR 42 DAYS.

	Tratamientos (T)				Semanas					
	AFB ₁	CSc	Se	CSc+Se	1	2	3	4	5	6
T ₁	-	-	-	-	126	255	361	405	374	513 ^a
T ₂	+	-	-	-	131	255	363	399	415	444 ^a
T ₃	-	+	-	-	129	250	354	387	375	549 ^a
T ₄	+	+	-	-	130	259	350	364	354	433 ^a
T ₅	-	-	+	-	128	243	359	392	381	483 ^a
T ₆	+	-	+	-	128	250	358	388	375	498 ^a
T ₇	-	-	-	+	128	247	347	393	396	404 ^a
T ₈	+	-	-	+	131	250	349	425	405	459 ^a

AFB₁= Aflatoxina B₁; CSc= cultivo de levaduras *S. cerevisiae*; Se= Selenio.

Error típico Semana/Tratamiento: 0,01833.

^aMedias con igual superíndice en la misma columna son estadísticamente similares (P>0,05).

TABLA V

PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE POLLOS DE ENGORDE QUE RECIBIERON 0,1% DE CSC Y/O 2MG/KG DE SE EN DIETAS CON Y SIN AFLATOXINA B₁ DURANTE 42 DÍAS /MORTALITY PERCENTAGE OF BROILER CHICKENS THAT WERE FED WITH A RATION CONTAINING (OR NOT) 0.07 MG/KG AFLATOXIN B₁, AND SUPPLEMENTED WITH 0.1% CSC AND/OR 2MG/KG SELENIUM FOR 42 DAYS.

Tratamientos (T)	Control	CSc	Se	CSc+Se	Pollos			
					Vivos (%)	^a Muertos (%)	Total	
Aflatoxina B ₁	0mg/kg	T ₁	T ₃	T ₅	T ₇	97,5	2,5	240
	0,07mg/kg	T ₂	T ₄	T ₆	T ₈	95	5	240

CSc= cultivo de levaduras *S. cerevisiae*; Se= Selenio.

^aDiferencia estadística con respecto a los grupos con dietas sin aflatoxina B₁ (P<0,15).

TABLA VI

PROMEDIOS DE PROTEÍNAS TOTALES, EN POLLOS DE ENGORDE QUE RECIBIERON ALIMENTO 0,1% DE CSC Y/O 2MG/KG DE SE EN DIETAS CON Y SIN AFLATOXINA B₁ (0,07MG/KG) DURANTE 42 DÍAS / TOTAL PROTEINS (PT) CONCENTRATION MEANS IN BROILER CHICKENS THAT WERE FED WITH A RATION CONTAINING (OR NOT) 0.07 MG/KG AFLATOXIN B₁, AND SUPPLEMENTED WITH 0.1% CSC AND/OR 2MG/KG SELENIUM FOR 42 DAYS.

	Tratamientos (T)				Proteínas Totales (g/100 ml)	
	AFB ₁	CSc	Se	CSc+Se	Promedio	Desviación Estándar
T ₁	-	-	-	-	3,430 ^a	± 0,60
T ₂	+	-	-	-	3,797 ^a	± 0,68
T ₃	-	+	-	-	3,870 ^a	± 0,86
T ₄	+	+	-	-	3,410 ^a	± 0,50
T ₅	-	-	+	-	3,752 ^a	± 0,43
T ₆	+	-	+	-	3,368 ^a	± 0,31
T ₇	-	-	-	+	3,501 ^a	± 0,30
T ₈	+	-	-	+	3,603 ^a	± 0,51

AFB₁= Aflatoxina B₁; CSc= cultivo de levaduras *S. cerevisiae*; Se= Selenio.

^aMedias con igual superíndice en la misma columna son similares (P>0,05).

TABLA VII

VALORES ACUMULADOS DE CONSUMO, GANANCIA DE PESO CORPORAL (GPC) Y CONVERSIÓN, EN POLLOS DE ENGORDE QUE RECIBIERON 0,1% DE CSC Y/O 2MG/KG DE SELENIO EN DIETAS CON Y SIN AFLATOXINA B₁ (0,07MG/KG) DURANTE 42 DÍAS / VALUES ACCUMULATED OF CONSUMPTION, BODY WEIGHT GAIN (GPC) AND CONVERSION IN BROILER CHICKENS THAT WERE FED WITH A RATION CONTAINING (OR NOT) 0.07 MG/KG AFLATOXIN B₁, AND SUPPLEMENTED WITH 0.1% CSC AND/OR 2MG/KG SELENIUM FOR 42 DAYS.

	Tratamientos (T)				Valores Acumulados		
	AFB ₁	CSc	Se	CSc+Se	Consumo ^g	GPC ^g	Conversión*
T ₁	-	-	-	-	3952 ^a	2034 ^a	1,88 ^a
T ₂	+	-	-	-	3977 ^a	2007 ^a	1,87 ^a
T ₃	-	+	-	-	3856 ^a	2044 ^a	1,85 ^a
T ₄	+	+	-	-	3920 ^a	2993 ^a	1,93 ^a
T ₅	-	-	+	-	3864 ^a	1986 ^a	1,89 ^a
T ₆	+	-	+	-	3973 ^a	1997 ^a	1,92 ^a
T ₇	-	-	-	+	3891 ^a	1915 ^a	1,95 ^a
T ₈	+	-	-	+	3998 ^a	2019 ^a	1,89 ^a

AFB₁= Aflatoxina B₁; CSc= cultivo de levaduras *S. cerevisiae*; Se= Selenio.

* Kg alimento/kg carne.

^g (gramos)

^a Medias con igual superíndice en la misma columna son estadísticamente similares (P>0,05).

ración a los del presente estudio, observaron una significativa disminución de la ganancia acumulada de peso y un incremento significativo sobre la tasa de conversión de alimento.

La inclusión de CSc o los componentes de su pared celular en alimento, con niveles de aflatoxina mayores a los del presente experimento, han contrarrestado la severidad de la aflatoxicosis [27] y mejoran los índices productivos [43] en pollos de engorde. Otros estudios, con dos niveles (0,1% y 0,2%) de CSc en la dieta contaminada con 0,5 y 1 mg/kg de aflatoxina, lograron un mejoramiento significativo en la GPC de los pollos [16], mientras que otros autores reportan resultados muy similares en pollos, con las mismas concentraciones de CSc en el alimento con 1 mg/kg de AFB₁ [11]. Estos reportes, sugieren que las propiedades del CSc para contrarrestar la aflatoxicosis, se hacen más evidentes a elevadas concentraciones de aflatoxina en la dieta. Adicionalmente hay que destacar, que a pesar de no detectarse diferencia significativa en los valores acumulados (TABLA VII), se evidenció mayor GPC acumulado en las aves que recibieron CSc en la dieta contaminada con AFB₁ (T₄).

Estudios en pollos sometidos a aflatoxicosis experimental (inoculación) presentaron significativa disminución de la ganancia de peso y consumo de alimento, mientras que aves que recibieron Se (1 mg/kg) en la dieta sometidas a aflatoxicosis, no mostraron cambios significativos en los parámetros mencionados [25]. Experimentos en mamíferos [42] y pollos [9] demostraron que el Se disminuye la formación de aductos ADN-AFB₁. Igualmente se reporta en patos (*Anas platyrhynchos*) disminución de lesiones causadas por el consumo de alimento con aflatoxina, cuando se suplementa con Se [46]. Ensayos en pavipollos que recibieron Se (2 y 4 mg/kg) en dietas con AFB₁ (500 ng/g), demostraron que el Se contribuye a la eliminación de aflatoxina [24].

Los resultados del presente ensayo discrepan con algunas de las investigaciones citadas que evalúan las propiedades de estos aditivos (CSc y Se), para contrarrestar los efectos de las dietas contaminadas con aflatoxinas en pollos de engorde. Probablemente, esto es debido a que la mayoría de los autores que estudian pollos sometidos a aflatoxicosis experimentales han empleado altas concentraciones de aflatoxina en sus ensayos [2], en comparación con el presente estudio. Por otro lado, los mecanismos de los componentes de la pared de la levadura de *S. cerevisiae* para contrarrestar los efectos de las micotoxicosis aún no están claros [40]. Adicionalmente, existe escasa información sobre la suplementación con selenio en pollos de engorde, que reciben dietas contaminadas con bajos niveles de aflatoxina.

Proteínas Totales

La TABLA VI muestra los promedios de las proteínas totales de los pollos muestreados por cada dieta experimental. La comparación de las concentraciones de proteínas totales en los distintos tratamientos no presentó variaciones (P>0,05), indicando similitud entre los mismos. Estos resultados discrepan con los de otros autores [16, 43], quienes obtuvieron concentración de proteínas totales significativamente menores, y que posteriormente incrementaron al incluir CSc en la dieta con altos niveles de aflatoxinas. Adicionalmente, pavos (*Meleagris gallopavo*) que recibieron dietas con aflatoxina y selenio, presentaron altos valores en las proteínas totales [7]. Experimentos con pollos que recibieron concentraciones de aflatoxina en la dieta, menores (0,050 mg/kg) y mayores (0,1mg/kg) a las del presente estudio, no detectaron

variación significativa en la concentración de proteínas totales a los 42 días [33]. Estos resultados apoyan los valores de proteínas totales obtenidos con bajas concentraciones de aflatoxina (0,07 mg/kg) en la presente investigación. Una descripción más profunda sobre los cambios en valores de química sanguínea y otras proteínas séricas evaluadas en las aves del presente experimento, es discutida en estudios previamente publicados [4].

A pesar de estos resultados, hay que hacer notar que no es conveniente considerar este nivel de AFB₁ (0,07 mg/kg) como inocuo para pollos, debido a que aún cuando fueron manejados en ambientes controlados y con una alimentación adecuada, las aves de este experimento expuestas a esta concentración de AFB₁ (T₂, T₄, T₆ y T₈), presentaron una tendencia a un mayor índice de M (P<0,15), con respecto a los pollos que no recibieron AFB₁. Adicionalmente, en otros experimentos anteriores se reportó [3], una leve a moderada frecuencia de lesiones hepáticas en pollos que recibieron el mismo nivel de AFB₁ (0,07 mg/kg) en la dieta. Estos aspectos, aumentarían la susceptibilidad en presencia de factores negativos de origen alimentario y/o ambiental que contribuirían a incrementar la toxicidad de la AFB₁ ingerida en la dieta, incidiendo negativamente sobre los parámetros productivos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Estos resultados sugieren propiedades del CSc y Se para incrementar (P≤0,01) el consumo de alimento en pollos de engorde, cuando se incluyen individualmente o combinados en el alimento con 0,07 mg/kg de AFB₁, en comparación con las dietas no contaminadas con AFB₁ y suplementadas con ambos aditivos individualmente o combinados. También indican ausencia de efectos adversos o benéficos (P>0,05) sobre el P, GPC, CV y concentración de proteínas totales, cuando estos aditivos (CSc y Se) se incluyen individualmente o combinados en dietas con o sin 0,07 mg/kg de AFB₁. Asimismo, evidencian que la ingestión durante 42 días de bajas concentraciones (0,07 mg/kg) de AFB₁ en la dieta de pollos de engorde, pueden causar una tendencia a incrementar su mortalidad.

Considerando el problema de salud pública que representa el consumo de tejidos de estas aves con residuos de aflatoxinas y la escasa variación estadística de los parámetros productivos, en aves alimentadas con estos niveles de AFB₁, se recomienda profundizar en las investigaciones sobre los efectos nocivos ocasionados por 0,07 mg/kg y otros niveles de AFB₁ en la dieta, con estudios de tipo toxicológico, clínico y patológico, así como, su interacción con otras micotoxinas, bajo las condiciones climáticas y de manejo que imperan en el país, utilizando ambos aditivos en el alimento contaminado de pollos de engorde. Igualmente establecer periodos de monitoreo frecuentes y continuos en la industria avícola con evalua-

ciones toxicológicas de los alimentos para aves, aunado a estudios patológicos y clínicos en las parvadas avícolas.

AGRADECIMIENTO

Al laboratorio de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela. Al laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad del Zulia y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de LUZ.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis. Food and Drug Administration. In: **Natural Toxins**. M. W. Trucksess (Ed). Chapter 49.38-40pp. 2000.
- [2] ARAVIND, K.L.; PATIL, V. S.; DEVEGOWDA, G.; UMAKANTHA, B.; GANPULE, S. P. Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. **Poult. Sci.** 82(4):571-6. 2003.
- [3] ARRIETA, D. M.; PÉREZ, A. M.; GÓMEZ, C.; MOLERO, G.; NOVOA, E.; RINCÓN, H.; ASCANIO, E. 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. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XVI(1):39-47. 2006.
- [4] ARRIETA, D. M.; PÉREZ-AREVALO, A. M.; GÓMEZ, C.; ASCANIO, E.; IRAUSQUIN, B.; MOLERO, G. Efecto del consumo de cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶ y/o selenio en pollos de engorde expuestos a bajos niveles de aflatoxina B₁ en la dieta. 1: valores de proteínas séricas y actividad enzimática en suero. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XVI(6):613-621. 2006.
- [5] ARRIETA, D.; PÉREZ, M.L.; HERNÁNDEZ-FONSECA, J.; OVIEDO, M.G.; MIRANDA, S.; LUENGO, A. Efecto del consumo de cultivo de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y/o selenio en pollos de engorde expuestos a bajos niveles de aflatoxina B₁ en la dieta. 2: morfología hepática. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XVIII(1):93 – 102. 2008.
- [6] BINTVIHOK, A.; THIENGIN, S.; DOI, K.; KUMAGAI, S. Residues of aflatoxins in the liver, muscle and eggs of domestic fowls. **J. Vet. Med. Sci.** 64(11):1037-9. 2002.
- [7] BURGUERA, J. A.; EDDS, G. T.; OSUNA, O. Influence of selenium on aflatoxin B₁ or crotalaria toxicity in turkey poults. **Ame. J. of Vet. Res.** 44(9): 1714 -1717. 1983.
- [8] CAVALHEIRO, A.C.L. Aflatoxinas y Aflatoxicosis: Revisión. **Rev. Avic.** 27:77-81. 1983.

- [9] CHEN, J.; GOETCHIUS, M. P.; COMBS, G. F. JR.; CAMPBELL, T. C. Effects of dietary selenium and vitamin E on covalent binding of aflatoxin to chick liver cell macromolecules. **J. Nutr.** 112(2):350-355. 1982.
- [10] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Normas Venezolana Alimento Completo para Aves**. Ministerio de Fomento. Método de Ensayo para Determinar Aflatoxina (1603). Caracas, Venezuela. 1181-83pp. 1980.
- [11] CHURCHILL, R.; MOHAN, B.; VISWANATHAN, K. Effect of live yeast culture in alleviating the toxicity of aflatoxin in broiler chickens. **Indian Vet. J.** 78:116-18. 2001.
- [12] DAFALLA, R.; YAGI, A.; ADAM, S. E. Experimental aflatoxicosis in hybro-type chicks: sequential changes in growth and serum constituents and histopathological changes. **Vet. Hum. Toxicol.** 29(3):222-226. 1987.
- [13] DALVI, R. R.; ADEMOYERO, A. A. Toxic effects of aflatoxin B₁ in chickens given feed contaminated with *Aspergillus flavus* and reduction of the toxicity by activated charcoal and some chemical agents. **Avian Dis.** 28(1): 61-9. 1984.
- [14] DANIEL, W.W. Estadística no paramétrica y de libre distribución. En: **Bioestadística: Bases para el Análisis de las Ciencias de la Salud**. 5^{ta} Ed. Editorial Noriega Editores. 710-736 pp. 1995.
- [15] DEVEGOWDA, G.; ARAVIND, B. I. R.; RAJENDRA, K.; MORTON, M. G.; BABURATHNA, A.; SUDARSHAN, C. A biological approach to counteract aflatoxicosis in broiler chickens and ducklings by the use of *Saccharomyces cerevisiae* cultures added to feed. En: **Proc. Alltech's 10th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry**. T.P. Lyons y K. A. Jacques (Eds). Nottingham University Press, Loughborough, Leic Uk. 235-245pp.1994.
- [16] DEVEGOWDA, G.; ARAVIND, B. I. R.; MORTON, M. G.; RAJENDRA, K. A biotechnological approach to counteract aflatoxicosis in broiler chickens and ducklings by the use of *Saccharomyces cerevisiae*. En: **Proc. Feed Ingredients Asia 95**, Singapore. 161-171pp. 1995.
- [17] DEVEGOWDA, G.; ARAVIND, B. I. R.; MORTON, M. G. Immunosuppression in poultry caused by aflatoxins and its alleviation by *Saccharomyces cerevisiae* (Yea-Sacc¹⁰²⁶), and mannanoligosaccharides (Micosorb). **Biotechnology in the Feed Industry**. Nottingham University Press. Nottingham, United Kingdom: 205-215pp. 1997.
- [18] DOERR, J. A.; HUFF, W. E.; WABECK, C. J.; CHALLOUPKA, G. W.; MAY, J. D.; MERKLEY, J. W. Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. **Poult. Sci.** 62(10):1971-1977. 1983.
- [19] ESPADA, Y.; DOMINGO, M.; GÓMEZ, J.; CALVO, M. A. Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin B₁ in broiler chickens. **Res. Vet. Sci.** 53:275-279. 1992.
- [20] EWEL, E.; MADRIZ, A. **Zonas de Vida de Venezuela**. MAC, Caracas. 265pp.1968.
- [21] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) y ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Contaminantes: aflatoxinas. En: **El 49^{vo} Informe Técnico del Comité Mixto (FAO/OMS) de Expertos en Aditivos Alimentarios**. OMS-Ginebra. 73-87pp. 1999.
- [22] FERNÁNDEZ, G.; NEGRÓN, G.; ISEA, G.; SÁNCHEZ, E. Reporte de análisis cuantitativo de aflatoxinas por el método de ELISA en muestras de materias primas de alimento balanceado para aves provenientes de una planta ubicada en el municipio Mara del estado Zulia, Venezuela. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. X(1):63-68. 2000.
- [23] GÓMEZ, C. C. Influencia del cultivo de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*¹⁰²⁶ y selenio sobre la toxicidad de la aflatoxina B₁ en pollos de engorde. La Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias, División de Postgrado, Maestría en Medicina Veterinaria Preventiva. **Trabajo de Grado**. 25-59pp. 2003.
- [24] GREGORY, J. F. 3RD; EDDS, G. T. Effect of dietary selenium on the metabolism of aflatoxin B₁ in turkeys. **Food Chem. Toxicol.** 22(8):637-42. 1984.
- [25] HEGAZY, S. M.; ADACHI, Y. comparison of the effects of dietary selenium, zinc and selenium and zinc supplementation on growth and immune response between chick groups that were inoculated with *Salmonella* and aflatoxin or *Salmonella*. **Poult. Sci.** 79(3):331-335. 2000.
- [26] HUA, S. S.; BAKER, J. L.; ESPIRITU, M. F. Interactions of saprophytic yeasts with a *nor* mutant *Aspergillus flavus*. **Appl. Environ Microbiol.** 65(6):2738-3740. 1999.
- [27] KARAMAN, M.; BASMACIOGLU, H.; ORTATATLI, M.; OGUZ, H. Evaluation of the detoxifying effect of yeast glucomannan on aflatoxicosis in broilers as assessed by gross examination and histopathology. **Br. Poult. Sci.** 46(3):394-400. 2005.
- [28] KIRAN, M. M.; DEMET, O.; ORTATATH, M.; OGUZ, H. The effect of polyvinylpyrrolidone on aflatoxicosis in broilers. **Avian Path.** 27:250-255. 1998.
- [29] KUBENA, L. F.; HARVEY, R. B.; BAILEY, R. H.; BUCKLEY, S. A.; ROTTINGHAUS, G. E. Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens. **Poult. Sci.** 77(10):1502-1509. 1998.
- [30] LEESON, S.; DIAZ, G. J.; SUMMERS, J. D. Aflatoxins. In: **Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins**. University Books. Guelph, Ontario, Canada. 249-298pp. 1995.
- [31] NILSON, A. J.; PERALTA, M. F.; MIAZZO, R. D. Use of brewer's yeast (*S. cerevisiae*), replace part of the vitamin

- mineral premix in finisher broiler diets. **Memorias de XXII World's Poultry Congress**. Abstracts Book. Istanbul, Junio 8-13. Turkia. 495pp. 2004.
- [32] NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Poultry. 9th Ed. National Academy Press, Washington D.C. 11-15pp.1994.
- [33] OGUZ, H.; KURTOGLU, F.; KURTOGLU, V.; BIRDANE, YO. Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. **Res. Vet. Sci.** 73(1):101-3. 2002.
- [34] OGUZ, H. H.; HADIMLI, H.; KURTOGLU, V; ERGANIS, O. Evaluation of humoral immunity of broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure, **Rev. Med. Vet.** 154:483-486. 2003.
- [35] OGUZ, H.; KURTOGLU, V. Effect of clinoptilolite on performance of broiler chickens during experimental aflatoxicosis. **Br. Poult. Sci.** 41:512-517. 2000.
- [36] OGUZ, H.; KURTOGLU, V.; COSKUN, B. Preventive efficacy of clinoptilolite in broiler during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) exposure. **Res. Vet. Sci.** 69(1):197-201. 2000.
- [37] ORTATATLI, M.; OGUZ, H.; HATIOGLU, F.; KARAMAN, M. Evaluation of pathological changes in broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. **Res. Vet. Sci.** 78(1):61-8. 2005.
- [38] PÉREZ, M. L.; SOTO, B. J.; ROMÁN, R.; ANGULO, I.; ARRIETA, D.; VALERIS, R. Efectos de la aflatoxina B₁ sobre la producción de huevos de consumo. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XI(4):337-341. 2001.
- [39] QURESHI, M. A.; BRAKE, J.; HAMILTON, P. B.; HAGLER, W.M.; NESHEIM, S. Dietary exposure of broiler breeders to aflatoxin results in immune dysfunction in progeny chicken. **Poult. Sci.** 77(6):812-9.1998.
- [40] RAJU, M. V. L. N.; DEVEGOWDA, G. 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). **Br. Poult. Sci.** 41: 640-650. 2000.
- [41] STATISTICAL ANALISYS SYSTEM INSTITUTE (SAS). SAS user's guide. version 6.12. Cary, NC. 1994.
- [42] SHI, C.Y.; CHUA, S.C.; LEE, H.P.; ONG, C.N. Inhibition of aflatoxin B₁-DNA binding and adduct formation by selenium in rats. **Cancer Lett.** 82(2):203-8. 1994.
- [43] STANLEY, V.G.; OJO, R.; WOLDENSENBET, S.; HUTCHINSON, D. H; The use of *Saccharomyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. **Poult. Sci.** 72:1867-1872. 1993.
- [44] SURAI, F.P.; DVORSKA, E.J.; SPARKS, H.N.; JACQUES, A.K. Impact of mycotoxins on the body's antioxidant defense. In: **Proc. Alltech's 18th Annual Symposium on Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries**. T.P. Lyons y K. A. Jacques (Eds). 131-141pp. 2002.
- [45] VAAMONDE, G. Micotoxinas. En: **Toxicología de los Alimentos**. A. A. Silvestre (Ed.), 2^{da} Ed. Editorial Hemisferio Sur. Argentina. 153-193pp. 1996.
- [46] YU, S.Y.; ZHU, Y.J.; LI, W.G. Protective role of selenium against hepatitis B Virus and primary liver cancer in Qidong. **Biol. Trace Elem. Res.** 56(1):117-24. 1997.