



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

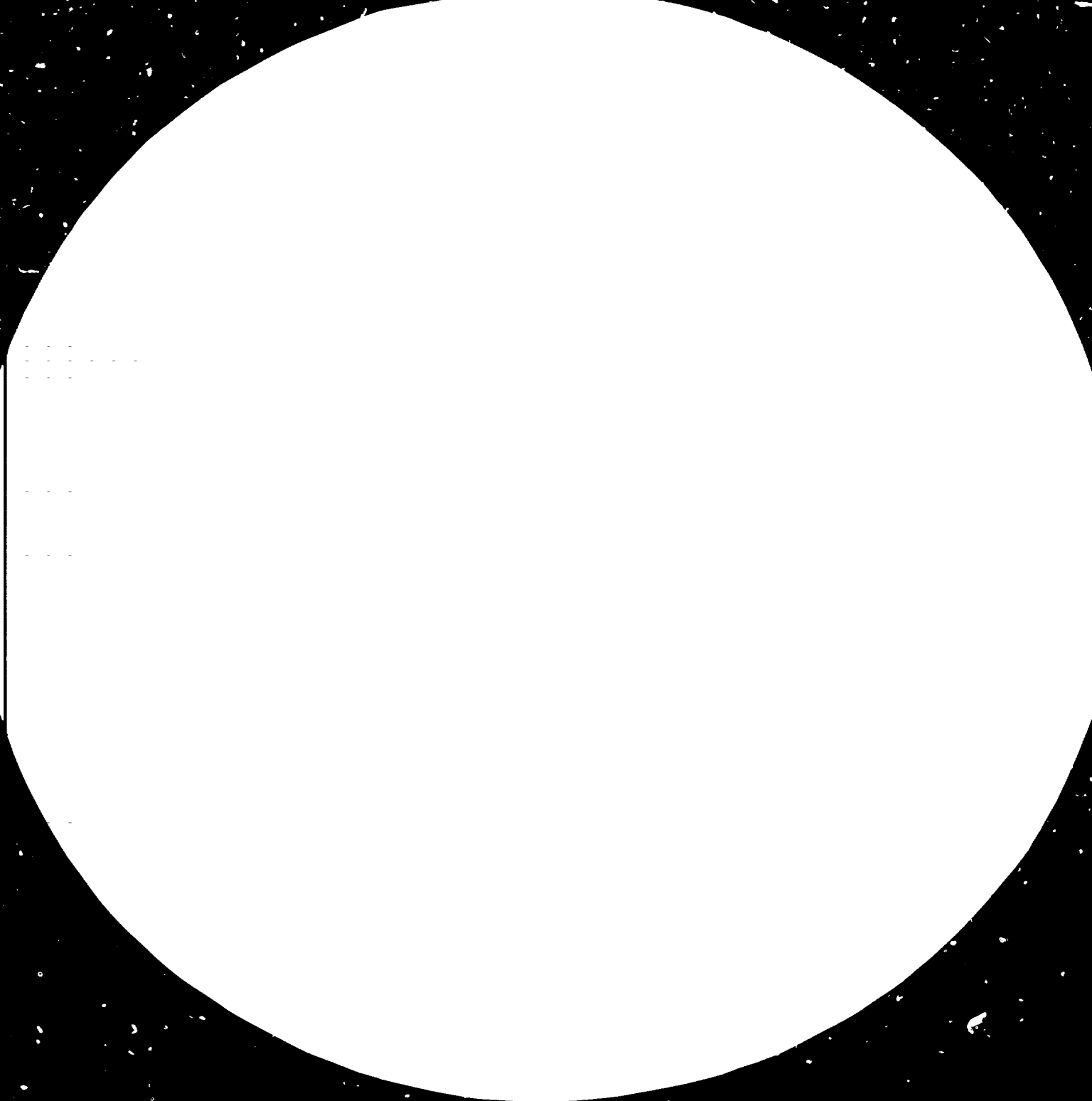
FAIR USE POLICY

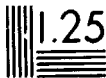
Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org





28



32



36



40



45

Resolution Test Chart
1.0 1.1 1.25 1.4 1.6 1.8 2.0 2.2 2.5 2.8 3.2 3.6 4.0 4.5 5.0 5.6 6.3 7.1 8.0 9.0 10 11.2 12.5 14 16 18 20 22.5 25 28 32 36 40 45 50 56 63 71 80 90 100 112 125 140 160 180 200 225 250 280 320 360 400 450 500 560 630 710 800 900 1000

Resolution Test Chart
1.0 1.1 1.25 1.4 1.6 1.8 2.0 2.2 2.5 2.8 3.2 3.6 4.0 4.5 5.0 5.6 6.3 7.1 8.0 9.0 10 11.2 12.5 14 16 18 20 22.5 25 28 32 36 40 45 50 56 63 71 80 90 100 112 125 140 160 180 200 225 250 280 320 360 400 450 500 560 630 710 800 900 1000

10174-S

Distr.
LIMITADA

UNIDO/IO.387
24 octubre 1980

ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS
PARA EL DESARROLLO INDUSTRIAL

ESPAÑOL

ESTUDIOS TOXICOLOGICOS DE ALGA SPTRULINA
PLANTA PILOTO PRODUCTORA DE PROTEINA DE ALGA
SPIRULINA DE SOSA TEXCOCO S.A.* .

UF/MEX/78/048 .

MEXICO

Basado en el trabajo del Sr. Germán Chamorro Cevallos

000000

* El presente informe se reproduce sin haber pasado por los servicios de edición de la Secretaría de la ONUDI.

80-45079

C O N T E N I D O :

INTRODUCCION	1
TOXICIDAD SUBCRONICA	10
TOXICIDAD CRONICA	26
REPRODUCCION Y LACTANCIA	48
MUTAGENICIDAD	74
TERATOGENICIDAD	80
DISCUSION GENERAL Y COMENTARIOS	193
BIBLIOGRAFIA	199

INTRODUCCION

Los microorganismos, comprendiendo levaduras, hongos, bacterias y algas unicelulares, ofrecen particularidades interesantes como fuentes no convencionales de proteínas (Dabbah, 1970); - - - Lipinsky y Litchfield, 1970), lo que puede contribuir en la solución de las necesidades que en materia de alimentos apremian más pronunciadamente a los países en desarrollo.

El uso de algas como alimento para humanos es conocido desde hace algunas centurias como parte de las dietas de los habitantes del Este del Asia, Africa Central (Venkartaram y col., 1977) y México (Farrar, 1966).

En las décadas que siguieron a la primera guerra mundial, investigadores de algunos países se interesaron por el cultivo de algas verdes eucarióticas tales como *Chlorella* y *Scenedesmus*, que eran capaces de desarrollarse en medios de cultivo simples (Eurelew, 1953; Richard y col., 1961; Powell y col., 1961).

Los diferentes estudios realizados con algas verdes microscópicas, así como con proteínas que utilizan los más diversos substratos para su cultivo, han permitido en algunos casos, seleccionar su potencial de adaptación como alimento humano y animal, basado en las características de su contenido en proteínas, buena digestibilidad y ausencia de toxicidad (Mendoza y col., 1971).

En el año de 1967, directivos y técnicos de la Compañía mexicana

Sosa Texcoco, redescubrieron que en las aguas minerales y alcalinas de un lago a cuyas márgenes se encuentra instalada su planta para la producción de hidróxido y carbonato de sodio, crecía naturalmente una variedad de alga. Identificada posteriormente se trató de Spirulina, alga azul verde perteneciente al grupo de las Cianofíceas (Santillán, 1979).

Desde entonces se ha construído tres plantas piloto con avances técnicos sucesivos y se han intensificado los cultivos con la ayuda de la metodología del Instituto Francés del Petróleo, que originalmente desarrolló un método para su cultivo (Bourges y col. 1971). Actualmente su capacidad de producción es de 25 ton./ha./año de biomasa seca en promedio, lo que representa 15 ton./ha./año de proteína.

La Spirulina, según descripciones encontradas en tratados de la historia de México, fue consumida desde tiempos del Imperio Azteca y presentada para ello en forma de queso, a la cual los aborígenes denominaron "Tecuitatl", que en lengua nahuatl significa "excremento de piedras" (Farrar, 1966; Durand-Chastell y David, 1977).

El alga que en México se ingirió hasta hace aproximadamente 40 años, sigue cultivándose y consumiéndose en forma rudimentaria por los nativos de Africa Central, lugar en el que se encuentra localizada en el lago Chad, cuyas aguas, como las del caracol de Texcoco, tienen las características de salinidad, pH, luz, tempe-

ratura etc. para su desarrollo (Clément y Durand Chastell, 1970).

A partir del redescubrimiento del alga Spirulina, la Compañía -- Sosa Texcoco emprendió los estudios pertinentes en colaboración -- con el Instituto Nacional de la Nutrición de México. A su vez la Organización de las Naciones Unidas, organismo que ha fijado un -- especial interés en el desarrollo del proyecto, ha apoyado la rea -- lización de algunos importantes estudios en instituciones naciona -- les y extranjeras. Como resultado de los mismos el Consejo Nacio -- nal de Ciencias y Tecnología y el Instituto Nacional de la Nutri -- ción organizaron reuniones científicas en París y México, con la -- concurrencia de expertos en el área de proteínas unicelulares -- (Santillán, 1979).

Esos diferentes estudios han arrojado datos muy interesantes so -- bre los aspectos de cultivo, procesamiento, calidad nutritiva, -- constitución química y características biológicas que permitieron la instalación de la actual planta piloto de Sosa Texcoco y el re -- querimiento de posteriores investigaciones.

El alga presenta una velocidad específica de crecimiento, superior a las plantas de los cultivos agrícolas y muy cercana a los micro -- organismos unicelulares. Lo anterior se logra gracias a que la -- Spirulina tiene una eficiencia de la energía solar entre 3 y 4.5% (Durand-Chastell y Santillán, 1975).

El proceso actual para la obtención del alga seca en polvo compren -- de las operaciones de preconcentrado, filtración por vacío, fluidi

zación, pasteurización, homogenización y secado (Santillán, 1974).

Con lo que respecta al aspecto nutricional, la Spirulina representa una buena fuente de proteínas por su alto contenido (65%) y su satisfactoria composición en aminoácidos (Mendoza y col., 1971).-- Se nota una pobreza relativa en aminoácidos azufrados pero la -- utilización metabólica es normal (Vermorel y col., 1975).

El PER tiene un valor de 2.61 ± 0.15 y el NPU, 56.6 ± 4.3 contra 2.97 y 61.5 de la caseína standard (Bourges y col., 1971).

Su digestibilidad en ratas un tanto baja según Vermorel y col. -- (1975) se mejora con la combinación del alga con proteínas intactas (Kim, 1978). La Spirulina no presenta sin embargo la rigidez -- de las paredes celulares de otras algas (Cronshaw y col., 1958; -- Northcote y col., 1958).

Se ha encontrado que el alga contiene del 6 a 7% de lípidos totales, cuyo 83% está constituido por ácidos grasos (Hudson y Karis, 1974). El contenido de carbohidratos es del 13 al 17%, con valor energético bajo.

Se han identificado alrededor de 10 vitaminas y cantidades substanciales de calcio, fósforo, potasio y otros oligoelementos que juegan un papel importante en la nutrición (TNO, 1970).

Desde el punto de vista de análisis toxicológicos, se han llevado a cabo las determinaciones de algunos elementos conforme a reco--

mendaciones que organismos como el PAG (1974_a), han sugerido para proteínas no convencionales, a fin de garantizar su seguridad en el consumo.

El contenido de ácidos nucleicos del alga varía de 4.2 a 4.5%. El PAG (1975), sugiere 2 g de ácido nucleico por día como límite máximo que las proteínas unicelulares deberán aportar en la dieta del adulto. De esta forma se puede establecer que 46 gramos de Spirulina constituyen el límite superior diario para consumo de un adulto (Bourges y col., 1971).

Por otra parte Tulliez y col. (1975) encontraron que las algas Spirulinas contienen de 0.1 a 0.3% de hidrocarburos, siendo el n-heptadecano el constituyente mayor (65%).

Se han realizado determinaciones de 3,4 benzopireno en Spirulina secada en cilindros o por atomización, obteniéndose respectivamente 2.6 y 3.8 ppb., concentraciones comparativamente bajas en relación a los niveles de algunos alimentos (Bories y Tulliez, 1975). Otros trabajos reportan concentraciones menores (Dainipponik and Chemicals, 1977).

En lo que respecta a la presencia de metales y no metales se han efectuado determinaciones en muestras de diferentes épocas. Boudene y col. (1976), encuentra principalmente contaminación por arsénico hasta de 8.5 ppm, en contraste con los valores de 0.7, 0.9, 1.1 y 2.4 detectados en otros estudios (Japan Food Research Laboratories, 1977; TNO, 1976; LANFI, 1976). El cadmio-

se ha encontrado en cantidades de 0.05 a 0.1 ppm; mercurio, -- 0.01 a 0.6; selenio, 0.4 ppm; 0.2 a 1.4 de cianuro. También se -- han realizado análisis de residuos de pesticidas indicando unica mente trazas de 1,2,3,4,5,6 - Hexaclorociclohexano (BHC), en sus formas (α , β , γ y δ) (Japan Food Research Laboratories (1975).

En otras determinaciones de organoclorados y organofósforados -- únicamente fueron detectados a nivel de trazas DDT y sus metabo- litos (D.G.S.V., 1978).

En lo que se refiere a análisis microbiológicos, en el cultivo -- existe una flora banal compuesta por bacterias y protozoarios -- halofíticos de vida libre; ocasionalmente se detectaron gérmenes de vida libre del grupo de coliformes. Así mismo están ausentes -- los patógenos como Salmonella, Shigella, E. Coli. (David y col., 1970). Esto es comprensible puesto que se trata de un medio de -- cultivo hipersalino con un pH francamente alcalino, que resulta inhóspito para la invasión y crecimiento de organismos que no -- pueden sobrevivir a un alto pH (González y col., 1976; Contreras y col., 1979). La instalación del equipo de pasteurización en la últimas etapas del proceso ha derivado en esta aspecto ventajas -- notables para el producto final. Algunos autores, han demostrado que diversas sustancias extraídas de las Spirulinas tenían una -- actividad antibacteriana (Jacquet, 1976).

La Spirulina se ha utilizado satisfactoriamente como fuente de -- proteína en cerdos (Février, 1976; Robles y col., 1975) y galli- nas (Bezares y col., 1976; Blum y Calet, 1976). y pollos (Blum y

Calet, 1975). De la misma forma la tolerancia por parte de ratas alimentadas durante un período de 100 días fue buena, no observándose anormalidades en el crecimiento, consumo de alimento, apariencia física, conducta, ni alteraciones histopatológicas en hígado, pulmones, riñones y otros órganos examinados (Bourges y col., 1971).

Till y Willems (1971) proporcionando el 10% de Spirulina en la dieta a ratas durante 90 días, no encontraron tampoco cambios en los parámetros anteriores ni en la hematología, análisis bioquímico del suero, análisis de orina e histopatología de 22 órganos.

Tulliez y col. (1975) administrando a ratas, dieta con el 25% de Spirulina que contenía 280 ppm de heptadecano, observaron su acumulación principalmente en el tejido adiposo. Otra dieta con 52 ppm del hidrocarburo administrada a cerdos fue ligeramente retenida y más bien excretada en la leche. En ninguno de los casos hubo manifestación de toxicidad aguda o crónica.

En el mismo experimento Boudene y col. (1976), alimentando las ratas durante 18 meses encontraron una cierta acumulación del arsénico aunque ningún signo de toxicidad manifestado por el aumento ponderal, consumo de alimento, mortalidad o histopatología de 18 órganos examinados.

En lo que respecta a humanos, un estudio realizado en sujetos desnutridos con el 15, 30 y 50 de la ración proteínica con Spirulina no causa modificaciones en el balance nutricional de nitró-

geno, sodio y potasio. El ácido úrico de la orina no varió, aunque sí aumentó ligeramente en el suero (9 mg/1000) (Sautier y -- Trémolieres, 1976).

Continuando con este tipo de estudios y con el fin de complementar el expediente toxicológico del alga se han efectuado una serie de ensayos a corto y largo plazo en animales de laboratorio, cuyos resultados se exponen en el presente reporte.

Estos ensayos comprenden: toxicidad subaguda, toxicidad crónica con pruebas funcionales, estudio multigeneracional de reproducción y lactancia, mutagénesis y teratogénesis.

En el estudio de toxicidad subaguda además del nivel del 10% -- utilizado por Till y Willems (1971), se emplean niveles del 20 y 30% con el objeto de detectar una eventual toxicidad de porcentajes más elevados sin desequilibrio en la nutrición.

En el ensayo de toxicidad crónica con pruebas funcionales se pretende estudiar el efecto a largo plazo de la administración de - Spirulina sobre la hematología, funcionamiento del riñón, bioquímica del suero, peso e histología de algunos órganos.

Con el fin de detectar las consecuencias de la alimentación con el alga de generaciones sucesivas se diseñó un estudio multigeneracional en rata que se extendió por un período aproximado de 2 años, complementado en su última generación por un estudio clásico de toxicidad subaguda.

Finalmente se investiga lo eventual mutagenicidad en rata y ratón, así como también la teratogenicidad en esas especies animales y - en hamster.

Algunos datos de determinaciones de metales, no metales y pesticidas que se efectuaron con el alga paralelamente a las investiga-- ciones en animales, se incluyeron ya en ésta introducción y no -- aparecen posteriormente.

ESTUDIO DE TOXICIDAD SUBCRONICA DE ALGA SPIRULINA EN RATAS.

RESUMEN

Ratas Wistar destetadas fueron alimentadas con niveles de 10, 20 y 30% de Spirulina durante 3 meses. Se efectuaron observaciones de la conducta, apariencia y se registró el aumento ponderal y consumo de alimento. Además se hicieron análisis hematológico y análisis de orina. Se sacrificaron los animales y en el suero se hicieron las determinaciones de transaminasa glutámico oxalacético, transaminasa glutámico pirúvica y fosfatasa alcalina. Se examinaron los órganos macroscópicamente y posteriormente se hizo el estudio histopatológico. No se observaron alteraciones que puedan ser atribuidas al consumo de Spirulina.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales.

La Spirulina empleada en este estudio fue proporcionada por la Compañía Sosa Texcoco, perteneciente a un lote común de producción.

Animales

Se emplearon ratas Wistar machos y hembras de destete, cuya pie de cría fue donado por el Instituto Miles de Terapéutica Experimental.

Dietas.

La Spirulina fue incorporada en las dietas experimentales a niveles de 10, 20 y 30%, sustituyendo gradualmente la harina de soya. Se utilizaron además dos dietas control, una de las cuales consistió en el alimento ordinario utilizado en el laboratorio y el otro a base de soya (tabla adjunta). Esta dieta se utilizó en todos los experimentos.

Conducta y Diseño experimental.

Cada una de las 5 dietas fue proporcionada a lotes constituidos por 10 machos y 10 hembras. Los animales fueron colocados en número de 5 por jaula, manteniendo en el local una temperatura de $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y ciclos de luz-obscuridad de 12 horas. La dietas y el agua les fueron suministradas "al libitum".

DIETA EXPERIMENTAL ADICIONADA DE SPIRULINA
UTILIZADA EN LOS ESTUDIOS.

INGREDIENTES	PORCENTAJE DE COMPOSICION			
Alga Spirulina	-	10.0	20.0	30.0
Harina de Pescado	8.0	8.0	8.0	8.0
Harina de Soya	44.4	29.6	14.0	-
Trigo Grano Molido	33.5	35.8	37.8	39.1
Mafz Amarillo Grano Molido	11.2	11.9	12.7	13.2
Harina de Alfalfa	-	2.0	5.0	6.6
Aceite de Mafz	1.6	1.6	1.6	1.6
Vits. y Mins.	0.7	0.7	0.7	0.7
Lisina	0.6	0.4	0.2	-
Metionina	-	-	-	0.1
Fosfato Monosódico	-	-	-	0.7

El aumento ponderal les fue registrado cada semana y el consumo de alimento también cada semana de las 4 primeras así como la 11^a y 12^a.

En la 12^a semana, mediante punción ocular se tomaron muestras de sangre en las que se efectuó el análisis hematológico consistente en la determinación de hemoglobina, hematocrito, eritrocitos y cuenta total y diferencial de leucocitos. Al final de las 13 semanas se recolectó la orina en jaulas metabólicas para efectuar el análisis correspondiente que incluyó: apariencia, pH, glucosa, proteína, sangre oculta, cetonas y microscopía de sedimento.

Posteriormente se sacrificaron los animales por decapitación y en el suero se hizo el análisis de transaminasa glutámico-oxalacética (GOT), transaminasa glutámico-pirúvica, fosfatasa alcalina (GPT) y proteína total (TSP) y examinaron macroscópicamente. Se examinaron los órganos macroscópicamente. A continuación se pesaron: corazón, cerebro, pulmón, riñón, hígado, bazo, testículos, ovarios, vesícula seminal, timo, tiroides, suprarrenales y pituitaria.

Se hizo el estudio histopatológico de estos órganos y además de: páncreas, tráquea, glándulas salivales, glándulas mamarias, glándulas lacrimales, útero, próstata, epidídimo, tracto gastrointestinal, vejiga urinaria, músculo esquelético, médula espinal, nervio femoral, esternón, aorta y piel.

Los resultados se sometieron a tratamiento estadístico para diferencia significativa por prueba de t o de Wilcoxon: * $P < 0.05$; - ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$, según el caso.

RESULTADOS

Condición general de los animales.

La condición general y conducta de los animales fue similar en el lote control y lotes tratados.

En todos los casos el aspecto de las heces de los animales experimentales fue de color oscuro pero sin ninguna otra alteración en lo que se refiere a forma y apariencia.

En el transcurso del experimento murió un animal del control ordinario.

Aumento ponderal.

Aunque ligeramente más bajo el peso corporal de los lotes experimentados, no se encontró diferencia significativa con el lote control de soya, ni en los machos ni en las hembras (tabla 1).

Consumo de alimento y eficiencia.

En la tabla 2 se nota que los lotes tratados con Spirulina ingirieron una cantidad ligeramente menor que los controles sin que ésta sea significativa. La diferencia en el consumo se refleja en la pequeña diferencia en el aumento ponderal.

La eficiencia por su parte también es similar respectivamente en los machos y en las hembras, calculada de la primera a la --

TABLA 1. AUMENTO PONDERAL DE RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Dieta	Peso corporal (g) a la semana							
	0	2	4	6	8	10	12	13
M A C H O S								
C. ordinario	58	124	194	253	288	323	339	352
C. soya	59	124	193	251	285	319	334	346
Spirulina 10%	57	122	192	248	282	317	331	344
Spirulina 20%	58	122	190	246	281	317	331	340
Spirulina 30%	57	121	188	244	280	316	330	340
H E M B R A S								
C. ordinario	56	105	140	166	182	197	205	211
C. soya	56	104	138	164	179	194	201	206
Spirulina 10%	55	104	138	163	178	193	199	204
Spirulina 20%	57	102	135	162	175	190	198	203
Spirulina 30%	56	100	135	162	176	192	199	202

TABLA 2. CONSUMO Y EFICIENCIA DE ALIMENTO EN RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Dieta	Consumo de alimento (g/rata/día) durante la semana						Eficiencia* 1 ^a - 4 ^a semana
	1	2	3	4	11	12	
MACHOS							
C. ordinario	8.8	11.8	14.9	16.2	16.8	17.2	0.57
C. soya	8.8	11.7	14.6	15.9	16.6	16.9	0.57
Spirulina 10%	8.7	11.7	14.5	15.6	16.3	16.5	0.38
Spirulina 20%	8.2	11.0	14.1	15.2	15.9	16.0	0.39
Spirulina 30%	8.2	10.9	13.9	15.0	15.8	16.1	0.39
HEMBRAS							
C. ordinario	3.0	10.8	11.5	12.0	12.4	12.6	0.28
C. soya	8.0	10.8	11.3	11.8	12.1	12.3	0.28
Spirulina 10%	7.8	10.6	11.1	11.5	11.9	12.0	0.29
Spirulina 20%	7.8	10.5	10.9	11.4	11.6	11.8	0.27
Spirulina 30%	7.6	10.4	10.6	11.0	11.4	11.6	0.28

* g peso ganado/g alimento consumido.

cuarta semana.

Análisis hematológico.

La evaluación de los parámetros hematológicos no revelan diferencias estadísticas de los valores del control a ninguno de los niveles de Spirulina, tal como se indica en la tabla 3.

Análisis del suero.

El análisis terminal de las muestras de suero con el objeto de determinar GOT, GPT, AP y TSP no mostró alteraciones que puedan atribuirse a la Spirulina como se observa en la tabla 4.

Análisis de orina.

La tabla 5 muestra que la orina de los animales controles y tratados no reveló cambios en ninguno de los parámetros analizados, al cabo de los 3 meses.

Peso de los órganos.

La autopsia terminal no muestra diferencias significativas en el peso relativo de los órganos con excepción de la vesícula seminal en los tratamientos del 20 y 30% de Spirulina (tabla 6).

Observaciones macroscópicas e histopatológicas.

La observación macroscópica de los órganos no reveló alteracio--

nes debidas al consumo de Spirulina. El estudio histopatológico tampoco muestra evidencia de anomalías pues como se observa en la tabla 7 estos existen tanto en los grupos alimentados con -- Spirulina como en el control de soya.

TABLA 3. VALORES HEMATOLOGICOS DE RATAS ALIMENTADAS CON SPI-
RULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Dieta	Hemo- globina (g/100 ml)	Hemato crito (%)	Eritro citos (10 ⁶ /mm ³)	Leucocitos				
				total (10 ⁶ /mm ³)	linf.	neut.	Diferencial eos. mono.	
M A C H O S								
C. ordinario	14.7	48.6	7.5	13.9	82.3	14.4	3.0	0.3
C. soya	14.6	49.9	7.0	13.7	81.9	15.8	2.1	0.2
Spirulina 10%	14.8	49.7	7.9	14.4	81.5	15.1	3.1	0.3
Spirulina 20%	13.9	50.1	7.2	14.1	82.2	15.0	2.6	0.2
Spirulina 30%	14.2	48.7	7.6	13.6	82.5	14.0	3.3	0.2
H E M B R A S								
C. ordinario	14.6	50.2	7.0	13.8	84.3	13.1	2.4	0.2
C. soya	14.3	49.0	6.7	13.2	86.0	12.3	1.6	0.1
Spirulina 10%	14.0	48.8	7.0	14.0	85.3	12.7	1.8	0.2
Spirulina 20%	14.1	48.7	6.9	13.9	84.8	13.6	1.4	0.2
Spirulina 30%	14.0	49.2	6.7	12.8	83.8	13.9	2.0	0.3

TABLA 4. ANALISIS DE SUERO DE RATAS ALIMENTADAS CON SPI-
RULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Dieta	MACHOS				HEMBRAS			
	GOT (RFU)	GPT (RFU)	AP (BLU)	TSP g/100 ml	GOT (RFU)	GPT (RFU)	AP (BLU)	TSP g/100 ml
C. ordinario	158	32.2	5.3	6.3	147	25.5	5.0	6.6
C. soya	162	29.4	6.1	6.2	158	30.2	3.9	6.9
Spirulina 10%	165	31.7	5.4	6.5	145	27.4	5.2	7.2
Spirulina 20%	171	28.2	5.9	6.4	168	31.1	3.6	6.7
Spirulina 30%	159	33.6	5.8	6.0	148	28.6	5.1	7.1

GOT = Transaminasa glutámico oxalacética
 GPT = Transaminasa glutámico pirúvica
 AP = Fosfatasa alcalina
 TSP = Proteína total
 RFU = Unidades Reitman-Frankel
 Blu = Unidades Bessey-Lowry

TABLA 5. ANÁLISIS DE ORINA DE RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Dieta	Apariencia	pH	glucosa	proteína	sangre oculta	cetonas	Análisis de sedimento					
							erit.	leuc.	epit.	amorf.	crist.	bact.
MACHOS												
C. ordinario	amarilla	6	-	+	-	-	-	-	+	++	+	+
C. soya	amarilla	6	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Spirulina 10%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	+	+
Spirulina 20%	amarilla	6	-	+	-	-	-	-	+	++	+	+
Spirulina 30%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+
HEMBRAS												
C. ordinario	amarilla	5	+	+	-	-	-	-	+	++	-	+
C. soya	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	+	+
Spirulina 10%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	-	+
Spirulina 20%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	-	+
Spirulina 30%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	+	+

TABLA 6. PESOS RELATIVOS DE LOS ORGANOS DE RATAS ALIMENTADAS CON SPIRU
LINA DURANTE 13 SEMANAS.

Dieta	Peso Corpo ral	Corazón	Cerebro	Pulmón	Riñón	Hígado	Bazo	Testí culo	Ovario	Vesícula seminal	Timo	Tiroi des	Adre- nales	Pitui- taria.
M A C H O S														
C. ordinario	352	0.411	0.52	0.36	0.76	3.52	0.171	0.82	-	0.314	0.100	0.0070	0.0187	0.0033
C. soya	346	0.420	0.48	0.38	0.79	3.41	0.182	0.90	-	0.323	0.105	0.0071	0.0203	0.0037
Spirulina 10%	344	0.408	0.50	0.41	0.81	3.49	0.193	0.86	-	0.364	0.096	0.0052	0.0186	0.0029
Spirulina 20%	340	0.407	0.49	0.40	0.77	3.32	0.194	0.88	-	0.394*	0.102	0.0067	0.0210	0.0041
Spirulina 30%	335	0.416	0.46	0.39	0.83	3.50	0.175	0.84	-	0.422*	0.090	0.0072	0.0168	0.0032
H E M B R A S														
C. ordinario	211	0.423	0.80	0.51	0.72	3.37	0.194	-	0.025	-	0.129	0.0079	0.0223	0.0042
C. soya	206	0.437	0.71	0.42	0.83	3.20	0.171	-	0.028	-	0.136	0.0073	0.0251	0.0033
Spirulina 10%	204	0.412	0.81	0.45	0.77	3.27	0.260**	-	0.031	-	0.128	0.0064	0.0218	0.0038
Spirulina 20%	203	0.431	0.73	0.46	0.74	3.13	0.207*	-	0.030	-	0.129	0.0077	0.0274	0.0036
Spirulina 30%	198	0.420	0.71	0.43	0.81	3.33	0.183	-	0.032	-	0.140	0.0075	0.0226	0.0040

TABLA 7. INCIDENCIA DE OBSERVACIONES HISTOPATOLOGICAS
EN RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE -
13 SEMANAS.

Lesión	Dieta*	Machos					Hembras				
		A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
	No. ratas examinadas	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Riñones											
Infiltrado linfoplasmocitario focal perivascular		1	2	1	0	1	1	0	1	1	0
Glomérulos edematosos		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Nefrosis lipóidicas		1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Depósitos minerales en pelvis		0	1	0	0	0	1	1	0	0	0
Hidronefrosis unilateral		1	2	1	2	2	1	0	1	1	0
Hígado											
Infiltrado de linfocitos y leucocitos neutrófilos		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Colestasis intra y citoplasmática		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Ergosamiento de membrana basal portal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Pulmones											
Infiltrado linfoplasmocitario focal		4	3	3	4	2	3	5	3	3	4
Infiltrado focal de macrófagos intralveolares		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Congestión vascular		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Edema		0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
Corazón											
Miocarditis focal		0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
Vejiga											
Infiltración linfoplasmocitario		0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
Abundantes leucocitos polimorfonucleares		1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Adrenales											
Hiperplasia de capa glomerular		1	0	0	0	0	0	0	0	0	1

* Dieta A, control ordinario; B, control soya; C, Spirulina 10%; D, Spirulina 20%; E, Spirulina 30%.

DISCUSION

Los resultados expuestos anteriormente indican que la Spirulina proporcionada a ratas durante 3 meses a niveles de 10, 20 y 30% en la dieta no altera los parámetros estudiados. El aumento ponderal de los machos y hembras alimentados con el alga es ligeramente menor que el de los controles, aunque no difiere significativamente.

Esto coincide con un consumo también ligeramente menor de alimento en el caso de los animales experimentales, que por otra parte muestran similar eficiencia.

Los análisis hematológicos, de suero y de orina muestran valores muy similares en los 5 lotes.

Finalmente, las escasas diferencias significativas en el peso de los órganos y los resultados de los cortes histopatológicos no acusan efectos nocivos de la Spirulina.

ESTUDIOS DE TOXICIDAD CRONICA EFECTUADOS EN RATAS ALIMENTADAS
CON SPIRULINA DURANTE 21 MESES.

RESUMEN

Se alimentaron ratas Wistar durante 21 meses con 10, 20 y 30% de Spirulina. Dos lotes controles recibieron respectivamente -- alimento ordinario y una dieta a base de soya. El aumento ponderal fue similar en los lotes que recibieron la Spirulina y la -- dieta de soya. Así mismo hubieron similitudes en los resultados del análisis hematológico y pruebas funcionales, como también en el análisis bioquímico del suero. El peso relativo de -- los órganos y el estudio histopatológico no revelaron diferencias de interés patológico ya sea en lesiones en los tejidos o en incidencia de tumores. Se concluye que la Spirulina no produce efectos tóxicos en los parámetros estudiados bajo las circunstancias del experimento.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales.

Se empleó Spirulina de la compañía Sosa Texcoco, obtenida por el procedimiento descrito anteriormente.

Animales.

Se utilizaron ratas Wistar machos y hembras, proporcionadas por el Instituto Miles de Terapéutica Experimental.

Dietas.

Como en los otros experimentos la Spirulina fue integrada a la dieta a niveles de 10, 20 y 30 % a expensas de la soya. Se utilizaron además dos lotes controles de los cuales uno fue elaborado a base de soya y el otro estuvo constituido por una dieta comercial, comunmente utilizada en el laboratorio. Las dietas se preparaban aproximadamente cada 3 o 4 semanas y se conservaban a temperatura del local.

Procedimiento.

Se formaron al azar 5 lotes de 20 machos y 20 hembras cada uno, que recibieron respectivamente las dietas indicadas.

Durante todo el experimento permanecieron en locales con condiciones ambientales controladas

Los animales se colocaron en número de 5 por jaula, teniendo libre acceso al alimento y al agua. Se controló su peso cada mes. Se hicieron determinaciones de los valores hematológicos a las 48, 64 y 80 semanas, comprendiendo hemoglobina, hematocrito, -- eritrocitos y cuenta total y diferencial de leucocitos.

Además se efectuaron pruebas de funcionamiento renal, consistiendo en medir la eliminación de rojo de fenol, determinación de -- la gravedad específica y transaminasa glutámico pirúvica en la orina, a los mismos intervalos de tiempo.

Los animales sobrevivientes se sacrificaron en la 84^a semana. -- Se tomaron muestras de sangre para el estudio bioquímico en el -- que se efectuaron las determinaciones de glucosa, nitrógeno -- ureico (BUN), transaminasa glutámica oxalacética (GOT), transaminasa glutámico pirúvica (GPT), fosfatasa alcalina (AP) y proteína total del suero (TSP).

Por otra parte se efectuó el análisis macroscópico de los órganos y peso de: corazón, cerebro, pulmones, riñones, hígado, bazo, testículos, ovarios, vesícula seminal, tiroides, adrenales y pituitaria.

Posteriormente se llevó a cabo el estudio histopatológico de -- esos órganos y además de: páncreas, tráquea, glándulas salivales, glándulas mamarias, útero, próstata, epidídimo, tracto gastrointestinal, vejiga urinaria, músculo esquelético, médula espinal, nervio femoral, aorta y piel.

Los resultados se sometieron a tratamiento estadístico para diferencia significativa por prueba de t o de Wilcoxon: *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001, según el caso.

RESULTADOS

Aumento ponderal.

Los pesos corporales eran casi idénticos en todos los lotes de animales hasta el cuarto mes. A partir de entonces los controles soya empezaron a ser gradualmente menores al control ordinario, llegando al final de los 21 meses a una diferencia de 5.8% para los machos y 7.6 % en las hembras (tabla 1). No hay diferencia de los tratados con el control soya en los dos sexos aunque con el 30% de Spirulina los pesos son consistentemente más altos.

Análisis hematológico.

Los valores hematológicos registrados a las 48 semanas no se ven afectados por el consumo de Spirulina a los diferentes niveles (tabla 2). En la 64^a semana se nota diferencia significativa en el valor del hematocrito con 10% de Spirulina (tabla 3). Por otra parte en la tabla 4 se nota que existe diferencia significativa para la concentración de hemoglobina y el número de eritrocitos en el caso de los machos con el 20 y 10% del alga respectivamente.

Pruebas funcionales riñón.

En la tabla 5 se observa que la ingestión de Spirulina no afecta la excreción de rojo de fenol, la gravedad específica o la

TABLA 1. PROMEDIO FINAL DE PESO CORPORAL DE RATAS SOBREVIVIENTES ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 21 MESES.

Dieta	No. de ratas sobrevivientes	Promedio de peso final	
		Peso (g)	Diferencia del control soya (%)
M A C H O S			
C. ordinario	13	653	+ 5.8
C. soya	12	617	
Spirulina 10%	12	613	- 0.6
Spirulina 20%	11	611	- 1.0
Spirulina 30%	12	631	+ 2.3
H E M B R A S			
C. ordinario	10	412	+ 7.6
C. soya	9	383	
Spirulina 10%	12	373	- 2.6
Spirulina 20%	11	376	- 1.8
Spirulina 30%	12	391	+ 2.1

TABLA 2. VALORES HEMATOLOGICOS DE RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 48 SEMANAS.

Dieta	Hemoglobina (g/100 ml)	Hemato crito (%)	Eritrocitos ($10^6/\text{mm}^3$)	Leucocitos				
				total ($10^3/\text{mm}^3$)	linf.	neut.	eos. mono.	
M A C H O S								
C. ordinario	14.5	49.2	7.7	15.7	81.2	15.8	2.8	0.2
C. soya	14.8	48.7	8.1	14.2	82.5	14.6	2.9	0.0
Spirulina 10%	15.1	49.5	7.8	15.9	82.4	15.9	3.4	0.3
Spirulina 20%	14.7	50.0	8.2	14.0	82.4	14.1	3.5	0.2
Spirulina 30%	14.9	50.1	7.9	14.1	85.1	11.3	3.4	0.2
H E M B R A S								
C. ordinario	15.0	48.3	7.0	13.2	82.7	14.6	2.6	0.1
C. soya	14.6	47.8	7.4	13.5	83.1	13.7	2.9	0.3
Spirulina 10%	14.8	48.2	7.2	12.8	84.1	12.4	3.3	0.2
Spirulina 20%	14.6	49.2	7.5	12.7	83.1	13.2	3.5	0.2
Spirulina 30%	14.7	48.6	7.3	13.4	86.2	10.7	3.0	0.1

TABLA 3. VALORES HEMATOLOGICOS DE RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA 64 SEMANAS.

Dieta	Hemo- globina (g/100 ml)	Hemato crito (%)	Eritro citos (10 ⁶ /mm ³)	Leucocitos				
				total (10 ³ /mm ³)	Diferencial linf. neut. eos. mono.			
M A C H O S								
C. ordinario	14.8	49.6	7.9	13.8	79.7	16.6	3.5	0.2
C. soya	14.6	49.8	8.4	14.8	80.7	16.0	2.9	0.4
Spirulina 10%	14.9	50.9*	7.9	14.6	80.9	15.4	3.3	0.4
Spirulina 20%	14.6	50.3	8.3	13.8	78.2	17.8	3.7	0.3
Spirulina 30%	14.7	49.7	8.1	14.5	79.9	17.2	2.8	0.1
H E M B R A S								
C. ordinario	14.6	47.5	7.3	13.2	78.8	17.5	3.4	0.3
C. soya	14.8	47.2	7.8	14.0	80.9	15.8	3.0	0.3
Spirulina 10%	14.8	48.8	7.6	13.9	82.3	14.7	2.6	0.4
Spirulina 20%	14.5	47.4	7.9	13.3	80.5	15.2	4.1	0.2
Spirulina 30%	15.1	47.3	7.7	13.8	80.7	13.9	3.2	0.2

- TABLA 4. VALORES HEMATOLOGICOS DE RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 80 SEMANAS.

Dieta	Hemo globina (g/100 ml)	Hemoto crito (%)	Eritro citos. (10 ⁶ /mm ³)	Leucocitos				
				total (10 ³ /mm ³)	Diferencial linf. neut. eos. mono.			
M A C H O S								
C. ordinario	14.6	49.7	8.0	16.5	78.5	18.8	3.0	0.2
C. soya	15.0	50.3	8.2	15.2	76.5	19.6	3.5	0.4
Spirulina 10%	14.8	50.0	9.1*	14.6	74.4	21.5	4.2	0.1
Spirulina 20%	14.2*	48.8	8.3	16.3	79.4	18.6	1.9	0.1
Spirulina 30%	14.7	50.2	8.4	14.8	75.3	22.5	2.0	0.2
H E M B R A S								
C. ordinario	15.3	47.6	7.0	13.1	78.5	18.6	2.6	0.3
C. soya	15.1	48.5	7.6	12.8	76.7	20.1	3.1	0.1
Spirulina 10%	14.8	47.2	7.3	13.4	77.3	20.5	2.0	0.2
Spirulina 20%	14.9	47.0	7.5	11.7	78.4	19.7	1.7	0.2
Spirulina 30%	14.7	48.4	7.2	12.5	78.8	19.4	1.7	0.1

actividad de la transaminasa glutámico oxalacética en la orina. Hay únicamente diferencia significativa en la gravedad específica en el caso del control ordinario de las hembras ($P = 0.01$) en relación al control soya.

La tabla 6 muestra resultados similares, aunque se nota diferencias significativas en la gravedad específica de orina de machos alimentados con el 20% de Spirulina y en la transaminasa glutámico oxalacético de hembras pertenecientes al control ordinario.

También se encuentran diferencias de esos mismos parámetros en las hembras tratadas durante 80 semanas con el alga al 10 y 20% y en el control ordinario respectivamente (tabla 7).

Análisis de suero.

Los valores bioquímicos del suero de muestras tomadas a las 84 semanas, no presentan diferencias significativas entre los grupos alimentados con Spirulina y los controles de soya (tabla 8). Sí se observa en cambio diferencia en el nitrógeno ureico del control ordinario en los machos, así como también en la fosfatasa alcalina en las hembras del mismo grupo.

Peso de órganos.

Los pesos relativos de los órganos se encuentran en la tabla 9. En los machos difieren significativamente los pesos relativos del corazón con el 10% de Spirulina, del pulmón con el 20% y del riñón en los animales del grupo control ordinario. En las hembras

TABLA 5. RESULTADOS DE PRUEBAS FUNCIONALES DE RIÑON EN RATAS
ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 48 SEMANAS.

Dieta	Excreción de rojo de fenol (% a la hora)	Gravedad específica	GOT (RFU)
M A C H O S			
C. ordinario	48.2	1.0513	10.1
C. soya	46.9	1.0636	9.6
Spirulina 10%	50.5	1.0549	10.4
Spirulina 20%	47.6	1.0654	8.8
Spirulina 30%	49.3	1.0627	9.5
H E M B R A S			
C. ordinario	67.7	1.0783**	10.4
C. soya	64.5	1.0600	10.7
Spirulina 10%	68.1	1.0642	9.8
Spirulina 20%	66.8	1.0562	10.2
Spirulina 30%	64.2	1.0691	11.1

TABLA 6. RESULTADOS DE PRUEBAS FUNCIONALES DE RIÑON EN RATAS
ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 64 SEMANAS.

Dieta	Excreción de rojo de fenol (% a la hora)	Gravedad específica	GOT (RFU)
M A C H O S			
C. ordinario	50.7	1.0661	11.4
C. soya	48.4	1.0546	11.6
Spirulina 10%	50.3	1.0678	10.7
Spirulina 20%	47.6	1.0750**	9.5
Spirulina 30%	51.1	1.0523	10.1
H E M B R A S			
C. ordinario	66.5	1.0543	8.1*
C. soya	65.2	1.0561	10.2
Spirulina 10%	67.8	1.0629	10.7
Spirulina 20%	63.4	1.0546	11.6
Spirulina 30%	63.6	1.0692	9.8

TABLA 7. RESULTADOS DE PRUEBAS FUNCIONALES DE RIÑON EN RATAS
ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 80 SEMANAS.

Dieta	Excreción de rojo de fenol (% a la hora)	Gravedad específica	GOT (RFU)
M A C H O S			
C. ordinario	47.8	1.0622	12.6
C. soya	49.5	1.0689	10.3
Spirulina 10%	49.5	1.0544	10.0
Spirulina 20%	51.7	1.0560	11.2
Spirulina 30%	47.3	1.0595	9.3
H E M B R A S			
C. ordinario	59.8	1.0646	14.6**
C. soya	64.4	1.0630	9.9
Spirulina 10%	66.3	1.0722*	9.6
Spirulina 20%	58.2	1.0754*	10.1
Spirulina 30%	63.7	1.0586	10.7

TAPLA 8. ANÁLISIS DE SUERO DE RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURAN
TE 84 SEMANAS.

Dieta	MACHOS						HEMBRAS					
	Glucosa (mg/100 ml)	BUN (mg/100 ml)	GOT (RFU)	GPT (RFU)	AP (BLU)	TSP g/100 ml	Glucosa (mg/100 ml)	BUN (mg/100 ml)	GOT (RFU)	GPT (RFU)	AP (BLU)	TSP g/100 ml
C. ordinario	71	9.3*	141	30.8	5.8	6.2	68	10.8	132	25.7	3.2*	6.8
C. soya	68	16.3	150	29.7	5.0	6.5	66	12.6	141	27.3	5.1	6.0
Spirulina 10%	72	14.8	147	25.5	3.8	5.9	71	11.5	145	24.6	4.2	4.9
Spirulina 20%	65	13.6	145	28.3	4.5	6.4	65	12.2	148	28.0	3.9	4.6
Spirulina 30%	68	14.1	153	31.6	3.6	6.7	67	10.7	142	26.4	4.4	4.1

BUN = Nitrógeno ureico.

GOT = Transaminasa glutámico oxalacética.

GPT = Transaminasa glutámico pirúvica.

AP = Fosfatasa alcalina.

TSP = Proteína total.

RFU = Unidades Reitman-Frankel.

BLU = Unidades Bessey-Lowry.

se encuentra diferencia en el peso relativo de las adrenales de los controles ordinarios.

Observaciones macroscópicas e histopatológicas.

La sobrevivencia de los animales alimentados con Spirulina fue ligeramente más alta que en los animales del control soya, razón por la que no se aplicó tratamiento de Peto (1974) a los resultados.

En el estudio llevado a cabo por Boudene y col. (1976) también se encontraron en glándulas mamarias útero, piel y peritoneo.

El examen macroscópico de los órganos no reveló alteraciones patológicas que puedan atribuirse a la Spirulina y fueron aquellos esperados en animales de edad avanzada. Por otra parte, no se encontraron diferencias histológicas entre los grupos en relación a lesiones no tumorales o tumorales (tablas 10 y 11). Todos los tumores fueron del tipo que comunmente se encuentran en esta raza de ratas.

TABLE 9. PESOS RELATIVOS DE LOS ORGANOS DE RATAS ALIMENTADAS CON -
SPIRULINA DURANTE 84 SEMANAS.

Dieta	Corazón	Cerebro	Pulmón	Riñón	Hígado	Bazo	Testí- culo	Ovario	Vesícula seminal	Tiroi- des	Adrena- les	Pitui- taria.
M A C H O S												
C. ordinario	0.398	0.46	0.37	0.98*	3.44	0.168	0.75	-	0.309	0.0061	0.0179	0.0030
C. soya	0.407	0.51	0.38	0.77	3.37	0.165	0.80	-	0.318	0.0074	0.0165	0.0034
Spirulina 10%	0.431*	0.48	0.35	0.82	3.49	0.166	0.78	-	0.349	0.0065	0.0174	0.0028
Spirulina 20%	0.388	0.47	0.56*	0.76	3.33	0.170	0.76	-	0.315	0.0068	0.0178	0.0038
Spirulina 30%	0.392	0.50	0.35	0.73	3.22	0.175	0.69	-	0.326	0.0071	0.0139	0.0029
H E M B R A S												
C. ordinario	0.382	0.74	0.41	0.70	3.39	0.180	-	0.026	-	0.0078	0.0250**	0.0047
C. soya	0.410	0.68	0.44	0.68	3.41	0.177	-	0.030	-	0.0082	0.0198	0.0040
Spirulina 10%	0.393	0.71	0.42	0.77	3.40	0.192*	-	0.024	-	0.0074	0.0223	0.0042
Spirulina 20%	0.387	0.70	0.48	0.74	3.37	0.179	-	0.031	-	0.0080	0.0230	0.0051
Spirulina 30%	0.412	0.67	0.46	0.73	3.32	0.188	-	0.033	-	0.0081	0.0184	0.0048

TABLA 10. INCIDENCIA DE OBSERVACIONES HISTOPATOLOGICAS
EN RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE -
21 MESES.

L e s i ó n	Dieta*	Machos					Hembras				
		A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
No. ratas examinadas		13	12	12	11	12	10	9	12	11	12
Riñones											
Moderada a severa enfermedad crónica		8	7	6	7	8	5	7	6	7	6
Depósito calcáreos		1	1	0	0	0	0	0	1	2	1
Hialinización de arterias		0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
Engrosamiento de basal de capilares glomerulares		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Hidronefrosis bilateral		1	1	0	1	0	1	0	0	0	0
Hígado											
Infiltrado de linfocitos y leucocitos neutrófilos		1	1	0	0	0	0	0	1	0	1
Vacualización celular		1	1	2	2	1	0	2	1	0	1
Hialinización de paredes arteriolas		0	1	0	1	1	1	1	0	0	1
Necrosis		0	0	1	0	1	0	1	0	1	1
Pulmones											
Enfermedad respiratoria crónica		3	3	2	4	4	3	5	4	5	4
Edema		1	0	1	1	0	0	1	0	1	0
Calcificación de arterias		0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Páncreas											
Periarteritis		0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
Utero											
Reacción inflamatoria		0	0	0	0	0	2	1	0	0	0
Testículos											
Atrofia		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Próstata											
Reacción inflamatoria		2	1	1	0	1	0	0	0	0	0

TABLA 10. (continuación..)

L e s i ó n	Dieta*	Machos					Hembras				
		A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
No. ratas examinadas		13	12	12	11	12	10	9	12	11	12
Vejiga											
Infiltración linfoplas linfoplasmocitaria		0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
Abundantes leucocitos polimorfonucleares		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Ovarios											
Atrofia parcial		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Adrenales											
Quistes hemorrágicos en corteza		0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Músculo											
Inclusiones hialinas granulares		0	0	1	1	0	0	0	0	0	0

* Dieta A, control ordinario; B, control soya; C, Spirulina 10%; D, Spirulina 20%; E, Spirulina 30%.

TABLA 11. INCIDENCIA Y TIPO DE TUMORES EN RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 84 SEMANAS.

Sito y tipo de tumor	Dieta*	No. de tumores									
		Machos					Hembras				
		A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
	No. ratas examinadas	13	12	12	11	12	10	9	12	11	12
	No. ratas con tumores	10	9	7	8	9	9	7	9	8	8
Pulmones											
	Adenoma pulmonar	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	Tumor linforetico	3	4	2	1	3	2	1	2	3	1
Glándula mamaria											
	Fibroadenoma	0	1	0	0	0	4	3	4	2	3
	Fibroma	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
	Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
Piel											
	Dermatofibroma	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	Queratoacantoma	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0
Tiroides											
	Carcinoma folicular	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Adenoma trabecular	2	2	2	2	3	1	2	1	1	1
Pituitaria											
	Adenoma del lóbulo anterior	2	1	1	1	0	2	1	0	0	0
	Adenocarcinoma	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
	Pequeño adenoma	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0
Suprarrenales											
	Adenoma cortical	3	1	1	2	2	0	1	0	1	0
	Feocromocitoma	2	1	0	2	1	0	0	0	0	1
Tejido subcutáneo											
	Fibroma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Fibrosarcoma	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0
Intestino grueso											
	Linfosarcoma	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0

DISCUSION

Los resultados anteriormente expuestos muestran que la Spirulina a niveles de 10, 20 y 30% en la dieta de ratas Wistar durante 21 meses no produce efectos nocivos en los parámetros estudiados.

El crecimiento de los animales en los grupos tratados sigue una trayectoria similar al control soya coincidiendo con los resultados de Boudène y col. (1976), en el sentido de no haber modificación en el crecimiento. Este autor encuentra inclusive que el crecimiento de los machos es ligeramente superior a los controles en los que se utilizó caseína como fuente de proteínas.

No se encontraron diferencias significativas en los valores hematológicos, que puedan ser atribuidas a la ingestión del alga, pues, las escasamente encontradas no tienen relación con el nivel de Spirulina proporcionado y no vuelven a encontrarse posteriormente.

Las pruebas funcionales efectuadas en el transcurso de diferentes semanas tampoco advierten de algún efecto nocivo, coincidiendo con los resultados del estudio efectuado en la generación F_{3b} del ensayo multigeneracional de reproducción y lactancia. La frecuencia con que se han realizado estas determinaciones se consideraron adecuadas para el período de 21 meses que duró el experimento, existiendo por otra parte los datos del estudio de toxicidad subaguda en el que se emplearon las mismas concentraciones del alga.

La sobrevivencia de los animales tratados con el alga fue igual o ligeramente superior al control soya, lo que excluye a la Spirulina de contener algún agente tóxico que durante un plazo prolongado interfiera con los procesos fisiológicos o bioquímicos-normales. Estos resultados se reflejan en el análisis bioquímico del suero efectuado al final del experimento en el que se nota únicamente alteración del nitrógeno ureico y fosfatasa alcalina del lote control ordinario.

Los resultados post-mortem, incluyendo peso relativo de los órganos y estudio histopatológico no sugieren algún efecto nocivo de la Spirulina.

ESTUDIO MULTIGENERACIONAL DE REPRODUCCION Y LACTANCIA EN
RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA.

RESUMEN

Se proporcionó Spirulina a niveles del 10, 20 y 20% a lotes de ratas Wistar en un estudio multigeneracional (tres generaciones en aproximadamente 2 años). Dos lotes control recibieron respectivamente alimento comercial y una dieta elaborada a base de soya. Se registraron los índices de fertilidad, gestación, viabilidad y lactación. En la generación F_{3b} se efectuó un estudio de toxicidad subaguda comprendiendo el estado general, aumento ponderal, consumo y eficiencia de alimento, hematología, análisis de suero, orina; peso y estudio histopatológico de órganos. El estudio multigeneracional no revela efectos sobre la fertilidad, tamaño de las camadas o mortalidad en el período previo al destete. Por otra parte el ensayo de toxicidad subaguda incluyendo el estudio histopatológico no pone de manifiesto anomalías relacionadas al tratamiento. En conclusión la Spirulina no causa efectos indeseables en los parámetros investigados.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales.

Para este estudio se empleó Spirulina proporcionada por la Compañía Sosa Texcoco, correspondiendo a un lote común de su producción.

Animales.

Se emplearon ratas Wistar machos y hembras destetados, donados por el Instituto Miles de Terapéutica, que se colocaron en jaulas por grupos de 5 animales. El local en el que permanecieron estuvo dotado de una temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, humedad controlada y ciclos de luz obscuridad de 12 horas (8:00 - 20:00 hrs.).

Dietas.

Se contó con 5 diferentes dietas de las cuales 3 se prepararon con el 10, 20 y 30% de Spirulina y las 2 restantes constituyeron los controles. Uno de los controles consistió en una dieta ordinaria utilizada comúnmente en el laboratorio y el otro estuvo preparado a base de harina de soya.

La Spirulina se agregó principalmente en detrimento de la soya.

Procedimiento.

Las ratas se distribuyeron al azar en 5 lotes de 20 hembras y --

10 machos cada uno, constituyendo la generación F_0 . La dieta y el agua les fueron proporcionadas "ad libitum" durante todo el estudio. Al final de la 12ª y 20ª semana se aparearon machos y hembras por espacio de 3 semanas, período al final del cual -- las hembras fueron colocadas en jaulas individuales para el nacimiento de las generaciones F_{1a} y f_{1b} (Fig. 1). Se contaron -- las crías vivas y muertas y se pesó la camada a los días 4º y 21º de edad, tiempo en el que se efectuó el destete. Esto permitió calcular los índices de fertilidad (I.F.); de gestación (I.G.); de viabilidad (I.V.) y de lactancia (I.L.), que respectivamente corresponden a porcentajes de apareamiento que dieron lugar a hembras gestantes; porcentajes de hembras gestantes que dieron lugar al nacimiento de crías, porcentaje de -- crías que sobrevivieron hasta los 4 días y porcentaje de crías vivas a los 4 días que sobrevivieron hasta los 21 del período de lactación.

La generación F_{1a} fue sacrificada y se practicó la autopsia. De la generación F_{1b} se seleccionaron al azar 10 machos y 20 hembras de cada lote que se sometieron al mismo tratamiento de sus padres. Llegados a los 3 meses de edad se acoplaron sucesivamente en dos oportunidades para obtener las generaciones F_{2a} y F_{2b} . El procedimiento seguido con las generaciones F_2 fue el mismo que para F_1 y las generaciones F_{3a} y F_{3b} resultantes se sacrificaron y practicó su autopsia al destete y a las 14 semanas respectivamente.

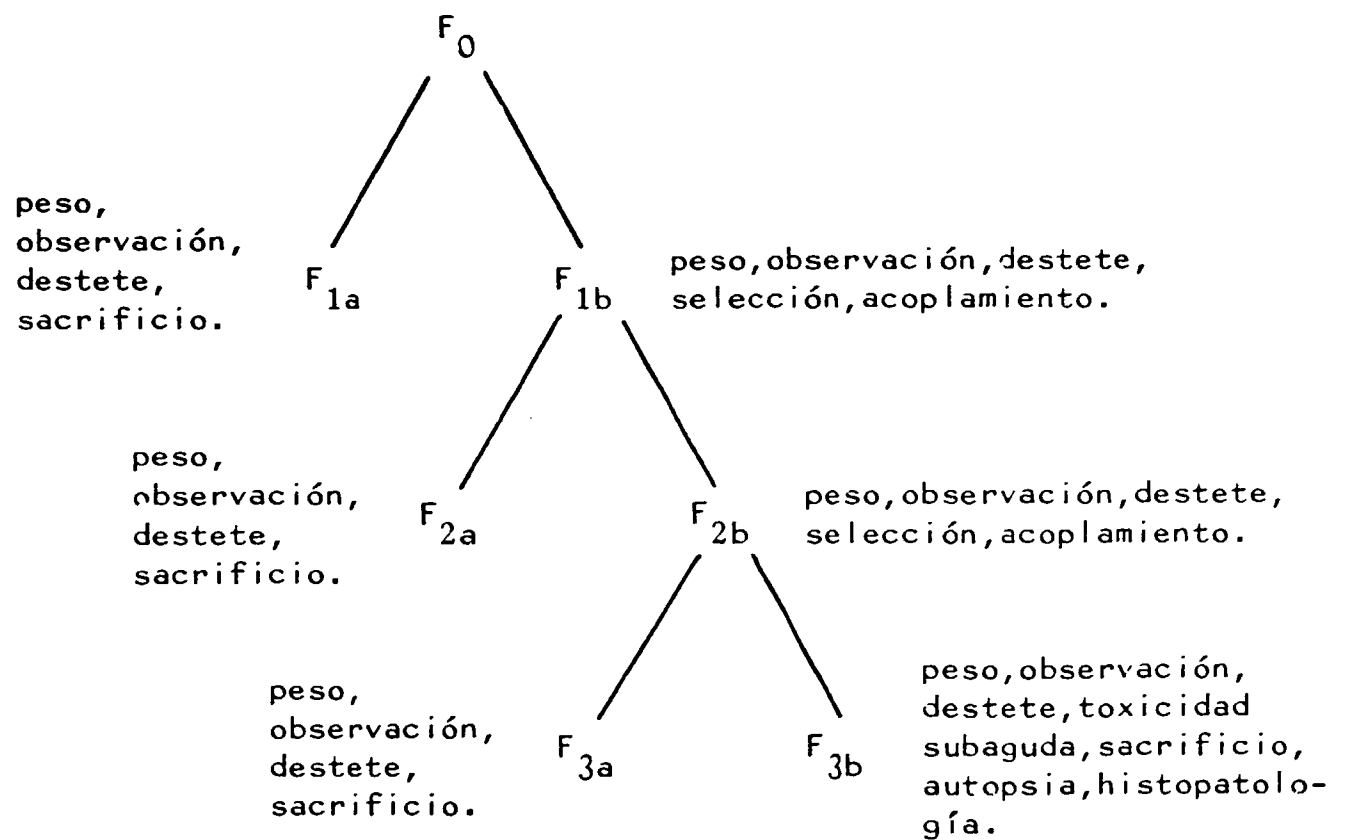


Fig.1. ESQUEMA DEL ESTUDIO MULTIGENERACIONAL DE REPRODUCCION Y LACTANCIA. (Según: Fitzhugh, O.G. (1968): Reproduction tests. En: "Modern Trends in Toxicology, I". (E. Boyland and R. Gouling, Editors), Butterworths, London.

Antes del sacrificio de F_{3b} se seleccionaron al azar 10 machos y 10 hembras para efectuar un estudio clásico de toxicidad subaguda. Para esto los animales se pesaron quincenalmente y se midió el consumo de alimento durante las 4 primeras semanas, así como a la 11^a y 12^a. Al final de la 13^a, se tomaron muestras de sangre para estudio hematológico que comprendió determinaciones de hemoglobina, hematocrito, eritrocitos y cuenta total y diferencial de leucocitos. Se efectuó además el análisis de orina comprendiendo apariencia, pH, glucosa, proteína, sangre oculta, cetonas y estudio macroscópico de sedimento. -- Así mismo se efectuaron pruebas funcionales de riñón consistentes en la determinación de la excreción de rojo de fenol en la orina y en la medida de la densidad y de la actividad de la -- transaminasa glutámico oxalacética. Al término del estudio se sacrificaron los animales por decapitación, tomando muestras de sangre para analizar el suero transaminasa glutámico pirúvica (GPT); transaminasa glutámico oxalacética (GOT), fosfatasa alcalina (AP) y proteína total. Se les practicó la autopsia y se analizaron los órganos macroscopicamente y pesaron: corazón, cerebro, pulmón, riñón, hígado, bazo, testículos, ovario, vesícula seminal, timo, tiroides, adrenales y pituitaria.

Posteriormente se hizo el estudio histopatológico de esos órganos y además de: páncreas, tráquea, glándulas salivales, glándulas mamarias, glándulas lacrimales, útero, próstata, epidídimo, tracto gastrointestinal, vejiga urinaria, músculo esquelético, médula espinal, nervio femoral, esternón, aorta y piel.

RESULTADOS

Las tablas 1 a 6 presentan los resultados del estudio de reproducción y lactancia en el que se obtuvieron 100 camadas para el control ordinario, 114 para el control de soya, 97 para Spirulina al 10%, 95 para Spirulina al 20% y 99 para Spirulina al 30%.

En la tabla 1, relativa al primer acoplamiento de la generación F_0 se observa que el índice de fertilidad es similar tanto en los lotes controles como en los tratados con Spirulina a diferentes niveles. Se nota que casi todos los acoplamientos dieron lugar a preñeces.

Por otra parte el índice de gestación muestra que los animales preñados llegaron a término en porcentajes que oscilan del 94 al 100% en los diversos lotes, no observándose así efecto negativo del alga en este parámetro.

En lo que se refiere a las crías en sí, no se encuentra modificado ni el índice de viabilidad, ni el de lactación. En ellos el porcentaje sobrepasa el 90%.

El peso promedio de las crías registrado en los días 4 y 21, tampoco experimenta cambios, en relación al control.

Los resultados correspondientes al segundo acoplamiento de esta generación se indican en la tabla 2. Si bien los diferentes índices se encuentran disminuídos en relación a los resultados --

del primer acoplamiento, comparados con el control soya, son similares.

De la misma forma el peso promedio de las crías procedentes de madres tratadas con Spirulina no difiere mayormente de los controles.

En la tabla 3 se observa que los índices no se encuentran afectados en relación a sus respectivos controles de soya.

En el caso del índice de lactancia los valores fluctúan entre 77 y 87, es decir, ligeramente disminuídos con respecto a los correspondientes del primer acoplamiento.

Por otra parte el crecimiento de las crías durante el período de predestete no varía entre los diferentes grupos.

La tabla 4 muestra los resultados del segundo acoplamiento de la generación F_{1b} , los que indican que los índices no se encuentran modificados por la alimentación con Spirulina. El peso de las crías tampoco señala algún efecto anormal del alga.

Los datos de la generación F_{2b} se presentan en las tablas 5 y 6. En la tabla referente al primer acoplamiento se nota que los 4 índices considerados, no acusan variación entre control y tratados con Spirulina, indicando que no se produjo alteración en la función reproductiva.

Como en casos anteriores, el peso promedio de las crías tampo-

TABLA 1. LA SPIRULINA EN LA REPRODUCCION Y LACTANCIA DE LA GENERACION F₀ DE RATAS: PRIMER ACOPLAMIENTO.

Tratamiento	No. acoplas. das.	No. pre- ñadas.	No. ges- tantes.	Crías promedio/hembra			Peso promedio de crías en los días		I.F.	I.G.	I.V.	I.L.
				Naci- miento	4 días	des- tete	4	21				
C. ordinario	20	18	18	8.5	8.5	8.0	8.2	40.0	90	100	100	94
C. soya	21	20	20	8.0	8.0	7.5	8.0	41.3	95	100	100	94
Spirulina 10%	20	18	17	8.3	8.0	8.0	8.1	40.9	90	94	96	100
Spirulina 20%	18	16	15	7.9	7.8	7.0	8.3	41.0	89	94	99	90
Spirulina 30%	20	19	18	8.8	8.3	8.1	7.8	41.4	95	95	94	94

I.F. = Índice de fertilidad

I.G. = Índice de gestación

I.V. = Índice de viabilidad

I.L. = Índice de lactación

TABLA 2. LA SPIRULINA EN LA REPRODUCCION Y LACTANCIA DE LA GENERACION F₀ DE RATAS: SEGUNDO ACOPLAMIENTO.

Tratamiento	No. acoplas.	No. preñadas	No. gestantes.	Crías promedio/hembra			Peso promedio de crías en los días		I.F.	I.G.	I.V.	I.L.
				Nacimiento	4 días	des-tete	4	21				
C. ordinario	20	20	18	9.6	8.4	7.4	8.3	41.3	100	90	87	88
C. soya	20	20	19	8.6	7.2	6.3	8.0	39.8	100	95	84	87
Spirulina 10%	20	19	19	9.8	8.8	8.1	8.4	40.7	95	100	90	92
Spirulina 20%	20	18	18	8.3	7.8	7.0	7.8	40.4	90	100	94	90
Spirulina 30%	20	18	16	8.7	8.0	7.4	8.5	41.0	90	89	92	92

I.F. = Indice de fertilidad

I.G. = Indice de gestación

I.V. = Indice de viabilidad

I.L. = Indice de lactación

TABLA 3. LA SPIRULINA EN LA REPRODUCCION Y LACTANCIA DE LA GENERACION F_{1b}
DE RATAS: PRIMER ACOPLAMIENTO.

Tratamiento	No. acoplas.	No. preñadas	No. gestantes.	Crías promedio/hembra			Peso promedio de crías en los días		I.F.	I.G.	I.V.	I.L.
				Nacimiento	4 días	destete	4	21				
C. ordinario	20	18	17	9.1	8.0	6.4	8.4	41.3	90	94	88	80
C. soya	20	17	17	9.3	8.3	6.7	8.5	40.8	85	100	89	81
Spirulina 10%	19	16	15	8.8	7.5	5.9	8.2	38.6	84	94	85	77
Spirulina 20%	18	15	15	8.5	7.3	6.0	8.3	40.0	83	100	86	82
Spirulina 30%	19	18	17	8.7	7.8	6.8	7.9	40.5	95	94	90	87

I.F. = Índice de fertilidad

I.G. = Índice de gestación

I.V. = Índice de viabilidad

I.L. = Índice de lactancia

TABLA 4. LA SPIRULINA EN LA REPRODUCCION Y LACTANCIA DE LA GENERACION F_{1b}
DE RATAS: SEGUNDO ACOPLAMIENTO.

Tratamiento	No. acopla das.	No. pre- ñadas	No. ges tantes.	Crías promedio/hembra			Peso promedio de crías en los días		I.F.	I.G.	I.V.	I.L.
				Naci- miento	4 días	des- tete	4	21				
C. ordinario	19	16	15	8.8	7.3	6.2	8.6	40.8	84	94	83	85
C. soya	20	18	16	8.4	7.3	5.5	8.6	41.4	90	89	82	87
Spirulina 10%	19	17	15	9.2	7.6	6.6	8.2	39.1	89	88	83	87
Spirulina 20%	18	15	14	9.0	8.0	6.2	8.4	41.2	83	93	89	85
Spirulina 30%	18	18	17	8.7	8.1	7.5	8.1	40.3	100	94	93	92

I.F. = Índice de fertilidad.

I.G. = Índice de gestación

I.V. = Índice de viabilidad

I.L. = Índice de lactancia

TABLA 5. LA SPIRULINA EN LA REPRODUCCION Y LACTANCIA DE LA GENERACION F_{2b}
DE RATAS: PRIMER ACOPLAMIENTO.

Tratamiento	No. acoplas.	No. preñadas.	No. gestantes.	Crías promedio/hembra			Peso promedio de crías en los días		I.F.	I.G.	I.V.	I.L.
				Nacimiento	4 días	destete	4	21				
C. ordinario	20	18	16	8.9	8.4	7.8	8.1	40.0	90	89	94	93
C. soya	18	17	16	9.0	8.4	7.6	8.2	40.6	94	94	93	90
Spirulina 10%	20	18	16	8.8	8.2	7.3	8.4	41.1	90	89	93	89
Spirulina 20%	19	18	17	9.3	8.6	7.7	8.0	41.4	95	94	92	89
Spirulina 30%	19	18	16	9.5	8.9	8.2	8.5	40.9	95	89	94	92

I.F. = Índice de fertilidad.

I.G. = Índice de gestación

I.V. = Índice de viabilidad

I.L. = Índice de lactancia

TABLA 6. LA SPIRULINA EN LA REPRODUCCION Y LACTANCIA DE LA GENERACION F_{2b}
DE LA RATAS: SEGUNDO ACOPLAMIENTO.

Tratamiento	No. acoplas. das.	No. pre- ñadas.	No. ges- tantes.	Crías promedio/hembra			Peso promedio de crías en los días		I.F.	I.G.	I.V.	I.L.
				Naci- miento	4 días	des- tete	4	21				
C. ordinario	20	18	16	9.1	7.9	7.1	8.2	41.0	90	89	87	90
C. soya	20	18	16	9.0	8.0	6.9	8.4	40.5	90	89	89	86
Spirulina 10%	19	17	15	8.8	7.7	7.0	7.9	40.2	89	88	88	91
Spirulina 20%	20	18	16	8.8	7.8	7.0	8.0	41.4	90	89	87	90
Spirulina 30%	20	17	15	9.2	8.4	7.6	8.3	40.6	85	88	91	90

I.F. = Indice de fertilidad

I.G. = Indice de gestación

I.V. = Indice de viabilidad

I.L. = Indice de Lactacia

co es afectado ni a los 4 días, ni el día del destete.

En la tabla correspondiente al segundo acoplamiento (tabla 6), ninguno de los índices muestra algún efecto negativo de la Spirulina, en relación al control de soya. Los pesos de las crías por su parte no son diferentes entre los grupos tratados y el control.

Estudio de toxicidad subaguda en la generación F_{3b}:

Todos los lotes de animales presentaron similar condición general y conducta. Las heces fueron en todos los casos de color oscuro sin cambios en forma y consistencia.

El aumento ponderal de las ratas tratadas con Spirulina como se observa en la tabla 7, fue ligeramente más bajo que el control de soya, hecho que se observó desde la segunda semana. Sin embargo, dicha diferencia no fue significativa y más bien consistente en los machos y las hembras.

La tabla 8 muestra que las ratas machos y hembras que ingirieron la Spirulina, lo hicieron en menor cantidad que el control de soya. Sin embargo la eficiencia del alimento es muy similar, variando en el caso de los machos de 0.37 a 0.38 y en las hembras de 0.27 a 0.28.

Los valores hematológicos como se observan en la tabla 9, no se encuentran modificados con respecto al control, tanto en las ratas machos como en las hembras.

TABLA 7. AUMENTO PONDERAL DE RATAS DE LA GENERACION F_{3b}
ALIMENTADAS CON SPIRULINA.

Dieta	Peso corporal (g) a la semana							
	0	2	4	6	8	10	12	13
M A C H O S								
C. ordinario	56	122	193	250	284	321	336	349
C. soya	57	121	190	248	282	315	332	344
Spirulina 10%	56	119	186	245	279	311	336	358
Spirulina 20%	57	118	185	243	276	308	333	335
Spirulina 30%	57	119	185	244	275	308	332	356
H E M B R A S								
C. ordinario	53	103	135	162	175	194	204	206
C. soya	54	102	133	159	171	189	196	202
Spirulina 10%	53	102	131	157	169	186	194	197
Spirulina 20%	53	101	129	154	167	182	193	195
Spirulina 30%	53	102	130	153	166	181	191	193

TABLA 8. CONSUMO Y EFICIENCIA DE ALIMENTO DE RATAS
DE LA GENERACION F_{3b} ALIMENTADAS CON SPI-
RULINA.

Dieta	Consumo de alimento (g/rata/día durante la semana)						Eficiencia g ganados/g alimento consumido 1 ^a - 4 ^a semana
	1	2	3	4	11	12	
MACHOS							
C. ordinario	8.7	11.7	14.6	15.9	16.8	17.3	0.38
C. soya	8.7	11.6	14.4	15.7	16.5	17.0	0.38
Spirulina 10%	8.6	11.5	14.2	15.2	16.2	16.6	0.37
Spirulina 20%	8.1	11.1	13.8	14.7	15.8	16.1	0.38
Spirulina 30%	8.2	11.1	13.7	14.8	15.9	16.3	0.38
HEMBRAS							
C. ordinario	7.7	10.6	11.1	11.7	12.3	12.6	0.28
C. soya	7.6	10.5	10.9	11.6	12.2	12.4	0.28
Spirulina 10%	7.6	10.4	10.7	11.4	11.8	12.1	0.28
Spirulina 20%	7.5	10.4	10.7	11.2	11.6	12.0	0.27
Spirulina 30%	7.5	10.5	10.9	11.1	11.5	11.8	0.27

TABLA 9. VALORES HEMATOLOGICOS DE RATAS DE LA GENERACION F_{3b}
ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Tratamiento	Hemo- globina (g/100 ml)	Hemato crito (%)	Eritro citos (10 ⁶ /mm ³)	Leucocitos				
				total (10 ³ /mm ³)	linf.	neut.	Diferencial eos. mono.	
M A C H O S								
C. ordinario	14.5	48.4	7.3	13.7	82.8	14.3	2.7	0.2
C. soya	14.3	48.9	7.0	13.9	82.0	14.7	3.1	0.2
Spirulina 10%	14.4	48.6	7.2	14.3	81.3	15.6	2.8	0.3
Spirulina 20%	14.7	49.2	7.4	14.0	82.5	14.5	2.8	0.2
Spirulina 30%	14.6	49.4	7.1	14.3	82.9	14.2	2.6	0.3
H E M B R A S								
C. ordinario	14.2	48.2	7.0	13.6	84.3	12.5	2.9	0.3
C. soya	14.2	48.5	6.8	13.2	84.0	12.9	2.8	0.3
Spirulina 10%	14.1	48.1	6.9	13.8	84.2	13.1	2.4	0.3
Spirulina 20%	14.3	48.3	7.1	12.7	83.7	13.7	2.4	0.2
Spirulina 30%	14.3	48.8	6.7	13.6	84.7	12.4	2.6	0.3

Igualmente el análisis bioquímico del suero no indica alguna alteración debida a la Spirulina como se desprende del examen de la tabla 10.

En la tabla 11 se presentan los resultados del análisis de orina, que tampoco acusa diferencias en los diversos grupos.

En la tabla 12 constan los datos de las pruebas funcionales de riñón, determinadas por la excreción de rojo de fenol, gravedad específica y la actividad de la transaminasa glutámico oxalacética. Se nota diferencia significativa en la gravedad específica de las ratas machos que ingirieron el 20% de Spirulina y en las hembras del control ordinario. Así mismo, en la transaminasa glutámico oxalacética del control ordinario de los machos.

Por otra parte el peso relativo de los órganos, cuyos resultados se indican en la tabla 13, muestra diferencia significativa en el peso del corazón, riñón y vesícula seminal en el caso de los machos. Para las hembras se nota alguna diferencia para el peso del pulmón y del bazo. En ambos casos las diferencias no muestran una relación dosis efecto, ni se encuentran acompañadas de alguna patología, por lo que se descarta un eventual efecto tóxico del alga.

El estudio macroscópico de los órganos reveló casos de hidronefrosis en todos los lotes y el estudio histopatológico, no indicó lesiones particulares que puedan atribuirse a la Spirulina por cuanto cualitativamente y cuantitativamente se encuentran

en controles y tratados (tabla 14). Muchas de estas lesiones --
son las mismas que se encontraron en el estudio de toxicidad --
subaguda no multigeneracional.

TABLA 10. ANALISIS DE SUERO DE RATAS DE LA GENERACION F_{3b}
ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Tratamiento	M A C H O S				H E M B R A S			
	GOT (RFU)	GPT (RFU)	AP (BLU)	TSP g/100 ml	GOT (RFU)	GPT (RFU)	AP (BLU)	TSP g/100 ml
C. ordinario	161	31.6	5.6	6.2	152	23.2	4.3	6.8
C. soya	157	34.7	6.5	6.2	145	23.7	4.8	6.6
Spirulina 10%	143	33.2	5.9	6.4	138	25.3	5.1	7.0
Spirulina 20%	149	32.8	6.1	6.6	141	24.8	4.4	6.2
Spirulina 30%	154	34.5	5.7	6.3	147	22.1	4.5	6.9

GOT = Transaminasa glutámico oxalacética

GPT = Transaminasa glutámico pirúvica

AP = Fosfatasa alcalina

TSP = Proteína total

RFU = Unidades Reitman-Frankel

BLU = Unidades Bessey-Lowry

TABLA 11. ANALISIS DE ORINA DE RATAS DE LA GENERACION F_{3b} ALIMENTADAS
CON SPIRULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Tratamiento	Apariencia	pH	glucosa	proteína	sangre oculta	cetonas	Análisis de sedimento					
							erit.	leuc.	epit.	amorf.	crist.	bact.
M A C H O S												
C. ordinario	amarilla	6	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+
C. soya	amarilla	6	-	+	-	-	-	-	+	++	-	+
Spirulina 10%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Spirulina 20%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	+	+
Spirulina 30%	amarilla	6	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+
H E M B R A S												
C. ordinario	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	-	+
C. soya	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Spirulina 10%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	+	+
Spirulina 20%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+
Spirulina 30%	amarilla	5	-	+	-	-	-	-	+	++	-	+

TABLA 12. RESULTADOS DE PRUEBAS FUNCIONALES DE RIÑON EN
RATAS DE LA GENERACION F_{3b} ALIMENTADAS CON --
SPIRULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Dieta	Excreción de rojo de fenol (% a la hora)	Gravedad específica	GOT (RFU)
M A C H O S			
C. ordinario	54.2	1.0552	15.6*
C. soya	56.3	1.0648	11.4
Spirulina 10%	52.7	1.0656	10.9
Spirulina 20%	55.5	1.0839**	11.2
Spirulina 30%	57.4	1.0627	10.8
H E M B R A S			
C. ordinario	62.8	1.0749*	12.6
C. soya	62.1	1.0537	9.2
Spirulina 10%	60.9	1.0561	9.8
Spirulina 20%	62.2	1.0653	11.4
Spirulina 30%	64.0	1.0644	10.7

* P 0.05; ** P 0.01; según prueba de Student.

TABLA 13. PESOS RELATIVOS DE LOS ORGANOS DE RATAS DE LA GENERACION F_{3b}
 ALIMENTADAS CON SPIRULINA DURANTE 13 SEMANAS.

Tratamiento	Peso Corporal	Corazón	Cerebro	Pulmón	Riñón	Hígado	Bazo	Testículo	Ovario	Vesícula seminal	Timo	Tiroi-des	Adre-nales	Pitui-taria.
M A C H O S														
C. ordinario	349	0.388	0.47	0.38	0.80	3.47	0.174	0.93	-	0.318	0.096	0.0067	0.0192	0.0034
C. soya	344	0.402	0.52	0.35	0.76	3.42	0.170	0.84	-	0.325	0.098	0.0070	0.0195	0.0031
Spirulina 10%	338	0.385	0.51	0.40	0.77	3.44	0.168	0.90	-	0.334	0.105	0.0069	0.0188	0.0036
Spirulina 20%	335	0.431**	0.55	0.37	0.82	3.37	0.176	0.88	-	0.372**	0.087	0.0074	0.0207	0.0029
Spirulina 30%	329	0.407	0.49	0.41	0.93*	3.44	0.173	0.86	-	0.386**	0.093	0.0072	0.0197	0.0035
H E M B R A S														
C. ordinario	206	0.414	0.76	0.41	0.75	3.28	0.190	-	0.027	-	0.122	0.0071	0.0238	0.0040
C. soya	202	0.422	0.74	0.43	0.72	3.33	0.202	-	0.033	-	0.111	0.0074	0.0236	0.0038
Spirulina 10%	197	0.408	0.75	0.47	0.68	3.15	0.213	-	0.030	-	0.118	0.0070	0.0255	0.0036
Spirulina 20%	195	0.429	0.82	0.40	0.69	3.27	0.237**	-	0.032	-	0.124	0.0078	0.0242	0.0041
Spirulina 30%	191	0.436	0.80	0.55*	0.74	3.12	0.199	-	0.029	-	0.128	0.0080	0.0263	0.0035

* P < 0.05; ** P < 0.01; según prueba de Student.

TABLA 14. INCIDENCIA DE OBSERVACIONES HISTOPATOLÓGICAS
EN RATAS DE LA GENERACION F_{3b} ALIMENTADAS --
CON SPIRULINA.

Lesión	Dieta*	Machos					Hembras				
		A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
	No. ratas examinadas	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Riñones											
Infiltrado linfoplasmocitario focal perivas-		1	1	1	0	0	0	0	1	1	0
cular											
Hialinización de paredes arteriales		0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
Hidronefrosis bilateral		0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Cilindros hialinos intratubulares		1	0	1	1	0	1	1	1	0	0
Hígado											
Infiltrado linfoplasmocitario periportal		0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
Hialinización de paredes arteriolas		1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
Pulmones											
Infiltrado linfoplasmocitario focal		2	4	3	3	5	4	5	3	3	2
Congestión vascular		0	1	1	1	0	0	1	0	1	1
Depósitos calcáreos		0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Pituitaria											
Quistes		0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
Vejiga											
Infiltración linfoplasmocitaria		0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Testículos											
Periarteritis		0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Suprarrenales											
Hiperplasia cortical		1	0	0	1	0	0	0	1	0	0
Corazón											
Dilatación de ventrículo		1	0	1	0	0	0	0	0	0	0

* Dieta A, control ordinario; B, control soya; C, Spirulina 10%; D, Spirulina 20%; E, Spirulina 30%.

DISCUSION

El análisis de los resultados del estudio de reproducción y lactancia muestra que no se produce ningún efecto adverso sobre la fertilidad o la gestación de las ratas que se alimentaron con Spirulina a los niveles de 10, 20 y 30%, en relación al control soya.

Aunque los índices correspondientes reflejan una ligera disminución a partir del primer acoplamiento de la generación F_{1b} , esto es común también a los grupos controles de soya y ordinario, razón por la que no se puede atribuir a acción particular del producto.

Esta disminución vuelve a recobrase en el primero y segundo acoplamientos de la generación F_{2b} .

El valor de los índices de viabilidad y lactancia disminuyen desde el segundo acoplamiento de la generación F_0 y en el caso del primer acoplamiento de la generación F_{1b} el índice de lactación alcanza un valor de 77. Los dos índices sinembargo se recuperan en las dos últimas generaciones. En cada uno de los casos no se puede adjudicar a efecto del alga por cuanto esta disminución no se encuentra relacionada al nivel de Spirulina; tal es el caso del valor de esos índices a través de todas las generaciones que mostraron un ligero incremento en relación al control de soya.

Por otra parte el peso de las crías registrado a los 4 o 21 -- días después del nacimiento, no experimenta disminución, indicando que la Spirulina no ocasiona un efecto indeseable en este parámetro.

En lo que respecta al estudio de toxicidad subaguda llevado a cabo sobre la generación F_{3b} no se encontraron cambios en la conducta, aumento ponderal, consumo y eficiencia del alimento, valores hematológicos, análisis de suero y de orina. Se encuentran algunas diferencias estadísticamente significativas en la gravedad específica de la orina y transaminasa glutámico oxalacético. También algunos de los pesos de los órganos difieren significativamente del control de soya. En ambos casos no se encuentran relacionadas al nivel de alimentación del alga por lo que no pueden ser atribuidos a esta.

La ausencia de efectos indeseables en la reproducción y lactancia de ratas alimentadas con Spirulina a diferentes niveles se suman a otros resultados de estudios de toxicidad efectuados con el alga.

ESTUDIOS DE MUTAGENICIDAD CON SPIRULINA EFECTUADOS EN --
RATAS Y RATONES.

RESUMFN

Ratas Sprague Dawley y ratones CD-1 se alimentaron con Spirulina al 30% 5 días de la semana, durante 3 meses. Al final de ese - - tiempo los machos se aparearon durante una semana con 2 hembras, que fueron sustituidas por otras dos a la siguiente. Este esquema se conservó por un período de 4 semanas. A los 15 o 16 días - de haber introducido los machos en la jaula de las hembras se -- sacrificaron estas últimas. Se analizó el útero para recuento de implantaciones vivas, implantaciones muertas y cuerpos lúteos. - Estos últimos no se contaron en el ratón.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales.

Se empleó la Spirulina procesada en la Compañía Sosa Texcoco, - perteneciendo a un lote común de producción.

Animales.

Se utilizaron ratas Sprague Dawley del bioterio del Centro Médico Nacional y ratones CD-1 del Instituto Miles de Terapéutica.

Dietas.

Se proporcionó una dieta con el 30% de Spirulina y como control, una dieta a base de soya, similares en los dos casos a las utilizadas en los otros experimentos.

Procedimiento.

Las ratas y ratones machos de aproximadamente 10 semanas de edad, de fertilidad comprobada se constituyeron respectivamente en 2 lotes de 10 animales cada uno y recibieron las dietas 5 días a la semana durante 12 semanas.

Transcurrido ese tiempo cada macho se apareó con 2 hembras por un lapso de una semana. Al final de este tiempo las hembras se reemplazaron por otras dos y así sucesivamente hasta completar 4 semanas de acoplamiento. Las hembras se sacrificaron por dislo-

camiento cervical a los 15 o 16 días después de la introducción de los machos y se examinó el útero, contando el número de --- implantaciones vivas, implantaciones muertas y cuerpos lúteos.- Estos últimos no se contaron en el caso del ratón.

RESULTADOS Y DISCUSION.

En las tablas 1 y 2 se presentan los resultados para la rata y ratón, en los que se puede observar que la Spirulina no provoca cambios en los parámetros considerados.

Estos resultados concuerdan con los del estudio multigeneracional de reproducción y lactancia del cual también se puede obtener válida información al respecto.

Los datos negativos del presente estudio son considerados como evidencia de que la Spirulina carece de efecto mutagénico.

TABLA 1. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE DOMINANTES LETALES EN RATAS ALIMENTADAS CON SPIRULINA.

P a r á m e t r o	Control soya				Spirulina 30%			
	Semanas							
	1	2	3	4	1	2	3	4
Número de:								
Hembras apareadas	18	18	19	18	20	20	20	18
Hembras preñadas	16	15	17	16	18	17	19	19
Implantaciones/preñez	11.7	10.6	11.5	10.7	10.4	11.2	10.6	11.1
Implantaciones vivas/preñez	10.8	9.6	10.7	9.8	9.6	10.5	10.0	10.2
Implantaciones muertas/preñez	0.9	1.0	0.8	0.9	0.8	0.7	0.6	0.9

TABLA 2. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE DOMINANTES LETALES EN RATONES ALI
MENTADOS CON SPIRULINA.

P a r á m e t r o	Control soya				Spirulina 30%			
	Semanas							
	1	2	3	4	1	2	3	4
Número de:								
Hembras apareadas	20	20	19	20	20	20	19	19
Hembras peñadas	17	18	17	19	18	18	19	18
Implantaciones/preñez	11.1	10.4	10.9	10.3	10.9	10.2	10.8	10.4
Implantaciones vivas/preñez	10.3	9.7	9.9	9.5	10.5	9.6	9.9	9.3
Implantaciones muertas/preñez	0.8	0.7	1.0	0.8	0.4	0.6	0.9	1.1

ESTUDIOS DE TERATOGENICIDAD EFECTUADOS CON SPIRULINA EN RATAS,
RATONES Y HAMSTERS.

RESUMEN

Se emplearon ratas Wistar, ratones CD-1 y hamsters Dorado gestantes a los que se proporcionó la Spirulina a niveles del 10, 20 y 30%. Dos lotes sirvieron como controles, a uno de los cuales se le proporcionó una dieta comunmente utilizada en el laboratorio y al otro una a base de soya. A las ratas se les alimentó del 7° al 9°, 7° al 14°, 1° al 14° y del 1° al 21° día de la gestación. Los ratones por su parte recibieron las dietas del 7° al 9°, 7° al 13°, 1° al 13° y del 1°, al 19°. Finalmente los hamsters se trataron del 7° al 9°, 7° al 11°, 1° al 11° y 1° al 14°. En las hembras se controló la evolución ponderal y se hizo el recuento de reabsorciones embrionarias el día del sacrificio. Los fetos fueron analizados para la detección de malformaciones externas e internas. El grado de teratogenicidad se expresa mediante un "índice teratógeno". La Spirulina no causó malformaciones o reabsorciones embrionarias en ninguna de las especies, con los niveles y períodos de gestación empleados.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales.

La Spirulina empleada en este estudio fue obtenida en la planta Piloto de la Compañía Sosa Texcoco S.A. por el procedimiento -- descrito anteriormente.

Animales.

Se emplearon ratas adultas machos y hembras vírgenes Wistar donadas por el Instituto Miles de Terapéutica, ratones CD₁, facilitados por el Instituto de Higiene de la Secretaría de Salubridad y Asistencia y hamsters de la raza Dorada proporcionados -- por el Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dietas.

Para el estudio de teratogénesis se emplearon 5 tipos de dietas. Dos servían como controles y estaban constituidas una de ellas a base de soya y la otra era una dieta comercial, utilizada comúnmente en el laboratorio. Las dietas experimentales contenían el 10, 20 y 30% de la Spirulina que sustituyó gradualmente a la soya. Las dietas se preparaban aproximadamente cada 3 o 4 semanas y se conservaban a temperatura del cuarto.

Procedimiento.

Antes de iniciarse el experimento y durante él los animales per

manecieron en locales con temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, con ciclos de luz y humedad controlada.

El alimento y el agua se les proporcionó "ad libitum". Las ratas se repartieron al azar en harems de 5 hembras con las que se dejaba un macho durante la noche. El acoplamiento fue verificado al día siguiente por la presencia de espermatozoides en el frotis vaginal. En caso de encontrar espermatozoides se consideró ese día como el 1° de la gestación.

En el caso de los ratones en los que también se constituyeron harems de cinco hembras, el acoplamiento se verificó por la presencia del tapón espermático en la vagina de las hembras, observado también al día siguiente de haber puesto en contacto machos y hembras, que fue considerado como el 1°.

Para el acoplamiento de los hamsters, a las 20 horas las hembras se llevaban a la jaula en la que permanecía un macho. Si la hembra presentaba lordosis era cubierta por el macho y se dejaba toda la noche. El día siguiente era considerado como el 1° de la gestación.

La ratas, ratones y hamsters acoplados se repartieron respectivamente al azar en los 5 lotes que recibieron cada uno de las dietas indicadas.

En el caso de las ratas, las dietas les fueron suministradas del 7°-9°, 7°-14°, 1°-14° y del 1°-21° día de la gestación. Los

ratones por su parte recibieron las dietas del 7°-9°, 7°-13°, - 1°-13° y del 1°-19° día; los hamsters finalmente del 7°-9°, -- 7°-11°, 1°-11° y 1°-14' día de la gestación.

En las hembras se efectuaron dos tipos de control, relativos a la evolución ponderal en el curso de la gestación y al recuento de los puntos de implantación en los cuernos uterinos el -- día del sacrificio que en el caso de las ratas fue el 21° de -- la gestación, en los ratones el 19° y en los hamsters el 14°; - en cada caso por inhalación clorofórmica.

Las hembras se pesaron el día 1° de la gestación y el día del sacrificio. Además se efectuaron pesadas intermedias que en el caso de la rata se llevaron a cabo el 7° y 14°; en el ratón el 6° y 13° y en el hamster el 6° y 10° día de la gestación.

Inmediatamente después de sacrificar los animales, se practicó una cesárea para extraer los fetos, que se contaron, pesaron y anotaron si estaban vivos o muertos. A continuación se sometieron a un minucioso examen con el fin de detectar malformaciones externas. Para el estudio de las malformaciones internas se procedió según la técnica de cortes seriados de Wilson -- (1964) comprendiendo la cabeza, tórax y abdomen. A este procedimiento se destinó aproximadamente 1/3 del número total de -- fetos. Para el estudio de esqueleto se recurrió al método de -- coloración con Alizarina según Dawson (1926) modificado por -- Staples (1964), destinándose 2/3 del total.

El recuento de las implantaciones en los cuernos uterinos, a fin de determinar las reabsorciones embrionarias se hizo por la técnica de Salewski (1964).

Para el tratamiento e interpretación de los resultados se tomó en cuenta por una parte el número de madres que presentaron fetos anormales o reabsorciones embrionarias y por otra el número de fetos anormales y reabsorciones en relación al número de implantaciones.

Con este criterio de control se presenta para cada especie grupos de tablas que corresponden respectivamente a: aumento ponderal, valores absolutos para las madres, valores absolutos para los fetos, porcentajes para las madres, porcentajes para los fetos, índice teratógeno y descripción de anormalidades.

En las tablas de porcentajes para los fetos se incluyen independientemente el promedio de peso fetal, el número de implantaciones por hembra fecundada y el número de fetos por hembra gestante. Estos tres parámetros fueron tratados estadísticamente para diferencia significativa por prueba de t.

El índice teratógeno para las madres y para los fetos se calculó a partir de los porcentajes mediante la fórmula siguiente (Chamorro, 1972):

$$\frac{\text{Afectados control} - \text{afectados experimental}}{100 - \text{normales control.}} \times 100$$

RESULTADOS

Ratas

Aumento ponderal.

Los resultados del consumo de Spirulina sobre el aumento ponderal de ratas gestantes, ingerida en los diferentes períodos, se indican en las figuras 1 - 4.

En la fig. 1, relativa al tratamiento de los animales en el período comprendido entre el 7° y 9° día de la gestación, se observa que la Spirulina no causa variación ponderal en relación a los animales controles, ya sea durante el tratamiento o una vez terminado éste. La curva correspondiente al nivel de 30% -- presenta un incremento ligeramente menos acelerado que en los -- otros grupos, que desde luego no tiene significancia.

El aumento ponderal de las ratas tratadas durante la organogénesis, cuyos resultados se indican en el fig. 2, no muestra estar afectado por la Spirulina. Después de iniciado el tratamiento -- el 7° día, el crecimiento sigue una trayectoria similar en todos los grupos.

Los animales que recibieron el alga del 1° al 14° día de la gestación (fig. 3), no muestran tampoco diferencia con el control de soya. El lote que recibió el 20%, aumentó ligeramente más rápido que los restantes desde el inicio de tratamiento, pero, -- una vez terminado, tiende a ser similar a los otros lotes.

Las ratas que se alimentaron durante toda la gestación (fig. 4) no modifican su crecimiento. Se observa sin embargo que el grupo del 10%, después del 7° día crece a una velocidad ligeramente inferior a la del control soya, que, como en el caso anterior, se recupera al final del tratamiento.

Por otra parte el nivel del 30% produce un aumento escasamente más rápido. Este aumento se manifiesta desde el primer tercio de la gestación hasta el final de la misma. Sin embargo la diferencia con el control de soya no sobrepasa del 10%.

FIG.1 AUMENTO PONDERAL DE RATAS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 7º al 9º DIA DE LA GESTACION

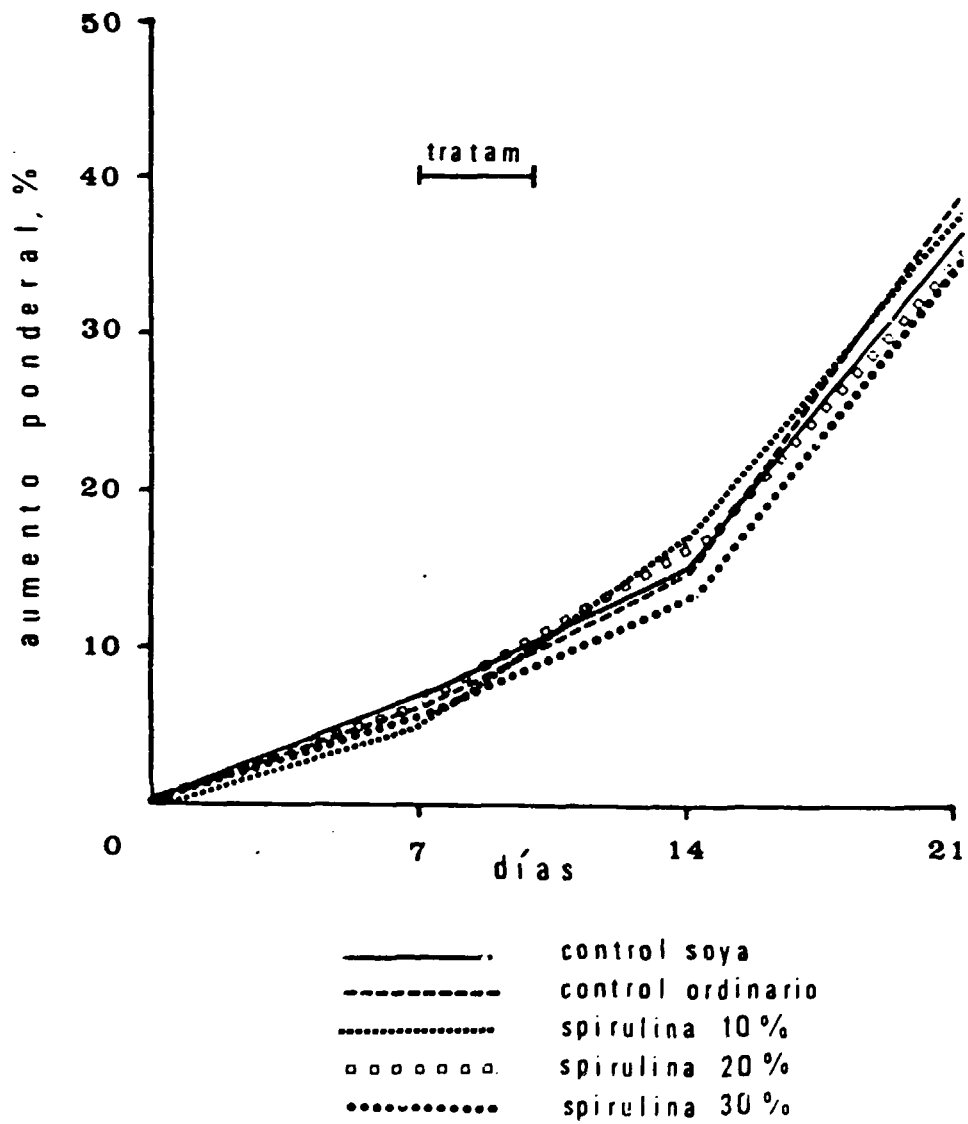


FIG.2 AUMENTO PONDERAL DE RATAS TRATADAS
CON SPIRULINA DEL 7º al 14º DIA
DE LA GESTACION

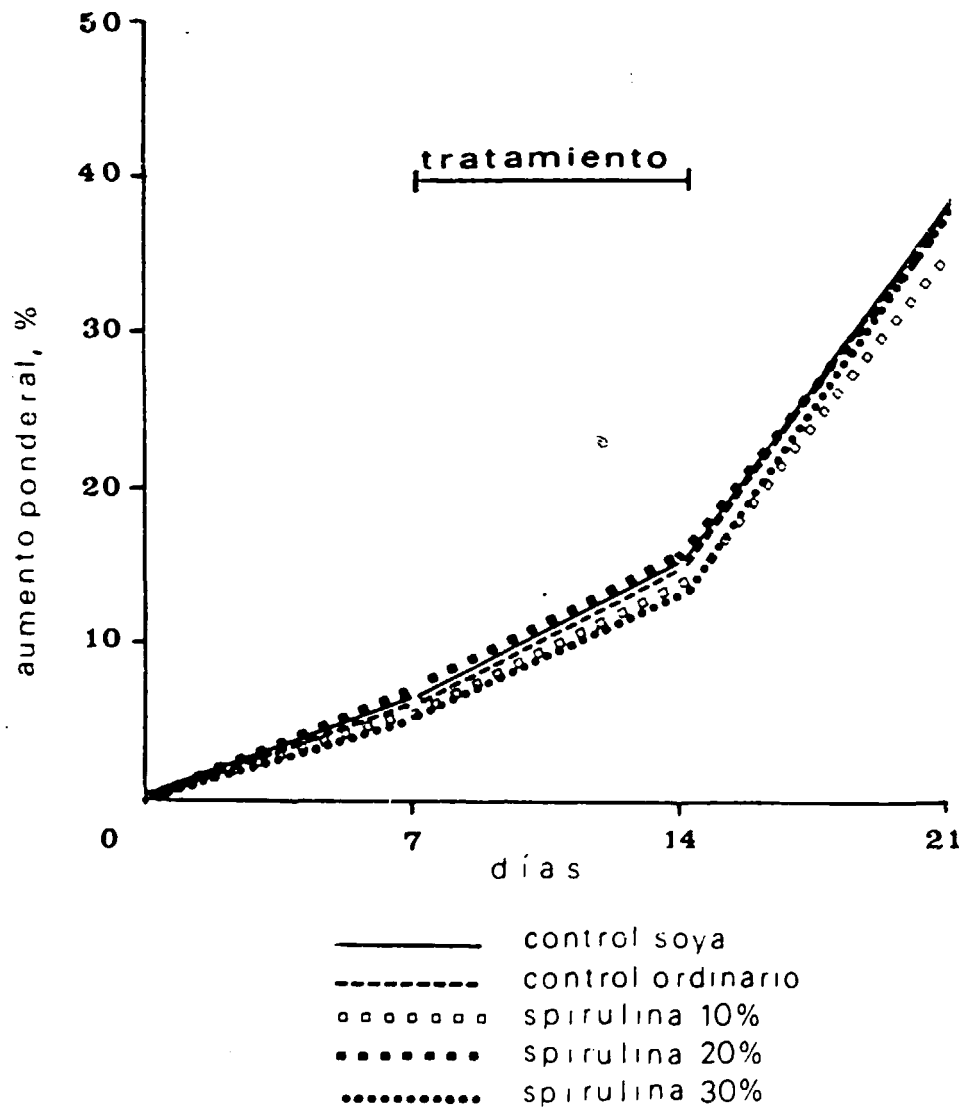


FIG. 3 AUMENTO PONDERAL DE RATAS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 1º al 14º DIA DE LA GESTACION

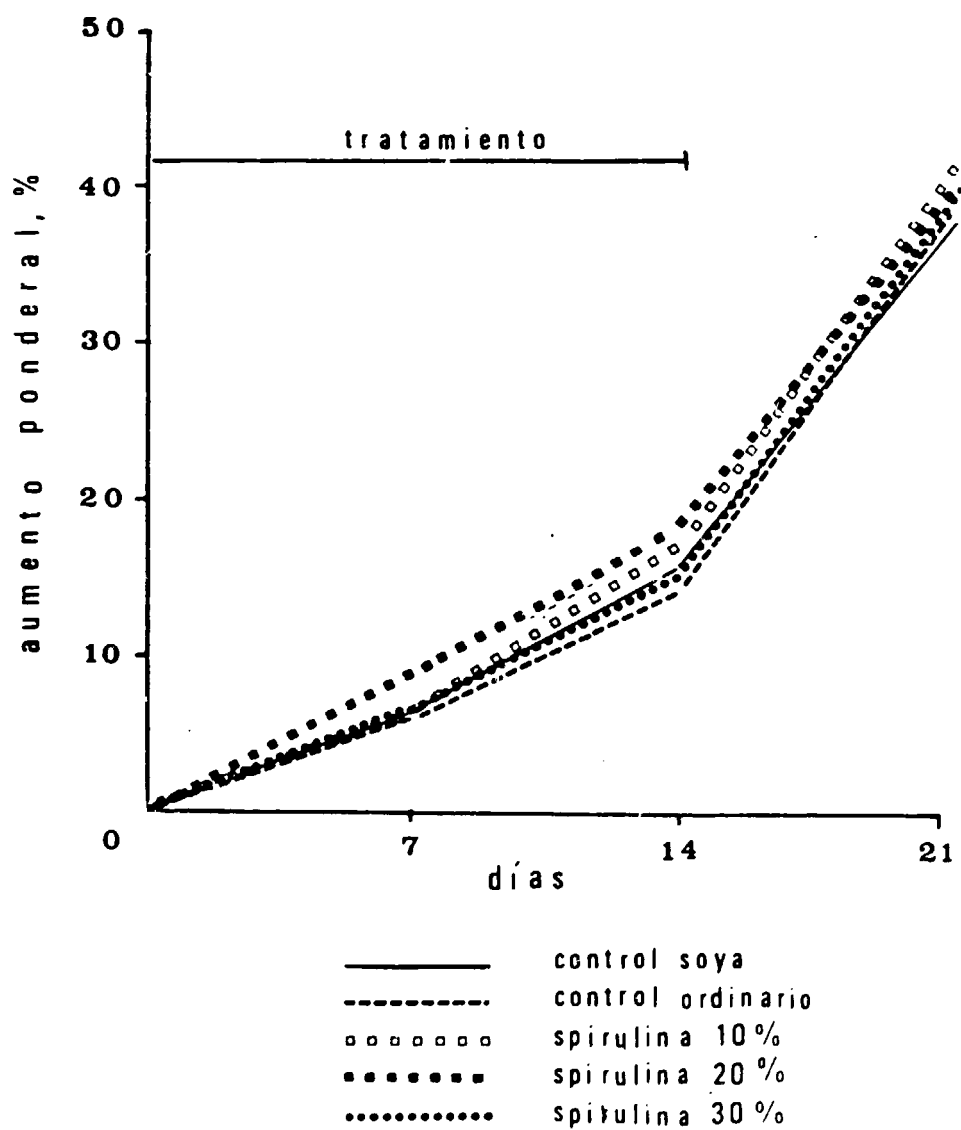
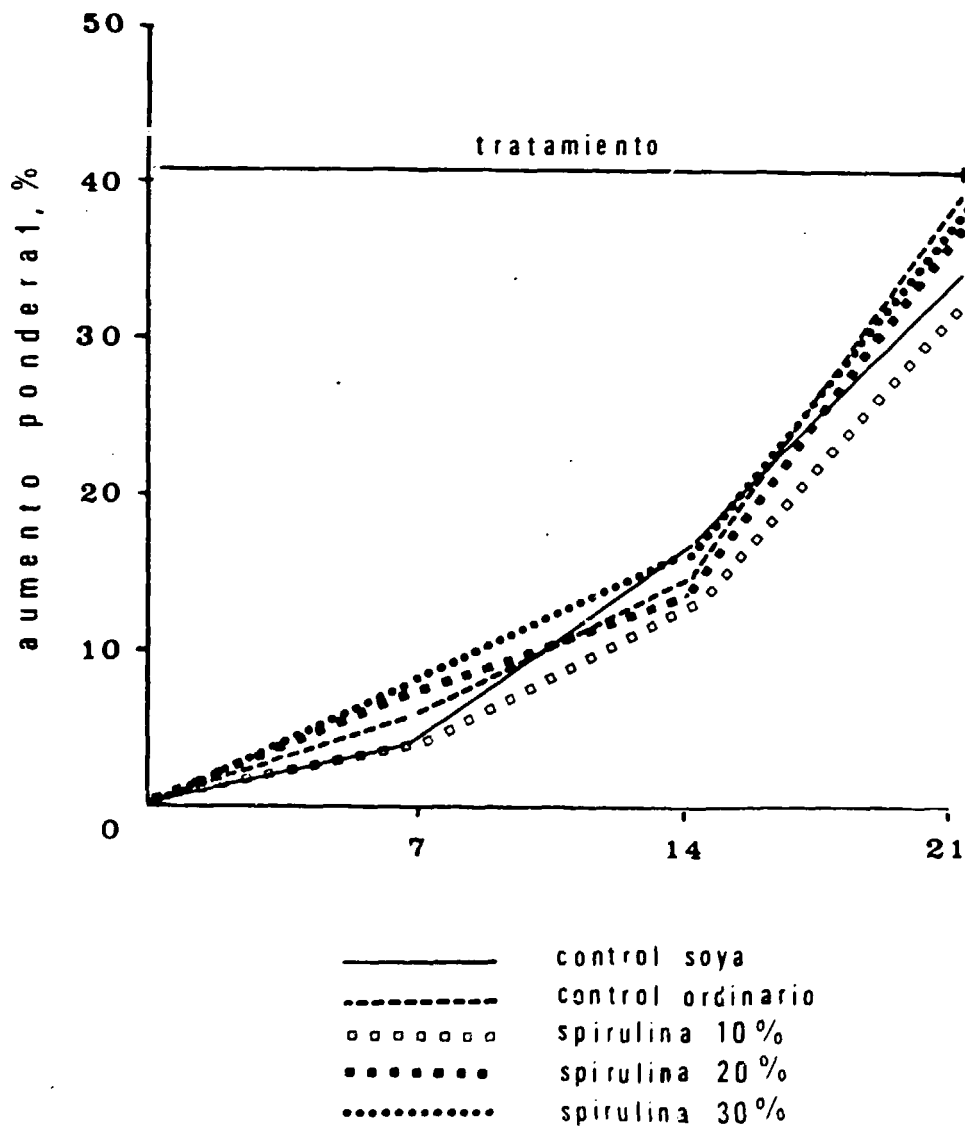


FIG.4 AUMENTO PONDERAL DE RATAS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 1º al 21º DIA DE LA GESTACION



Efecto teratógeno.

En las tablas 1 a 4, se presentan las cifras absolutas para las madres, que se han denominado "bases de cálculo". En ellas se precisa en primer lugar el número de hembras acopladas (1), es decir aquellas hembras en las cuales el acoplamiento fue comprobado por la presencia de espermatozoides en el frotis vaginal. (En el caso de los ratones por el tapón espermático y en los hamsters por apreciación visual). Después se considera el caso de las hembras fecundadas (2), es decir aquellas en las que se ha producido la nidación, indicada por la presencia de fetos o por la existencia de implantaciones en los cuernos uterinos, reveladas por coloración según el método de Salewski.

Entre las hembras fecundadas se diferencian las hembras con camada normal (2.1) y las hembras con camada afectada (2.2). Las madres con camada normal son aquellas que no presentan ningún feto malforme y tienen como máximo una reabsorción embrionaria. Las hembras con camada afectada (2.2) se subdividen a su vez en hembras que presentaron únicamente fetos reabsorbidos o muertos en número superior a 1 (2.2.1); hembras que presentaron únicamente fetos anormales (2.2.2) y hembras que presentaron simultáneamente fetos reabsorbidos, muertos y anormales (2.2.3). En el punto 3 se consideran las que el momento del sacrificio tuvieron al menos un feto.

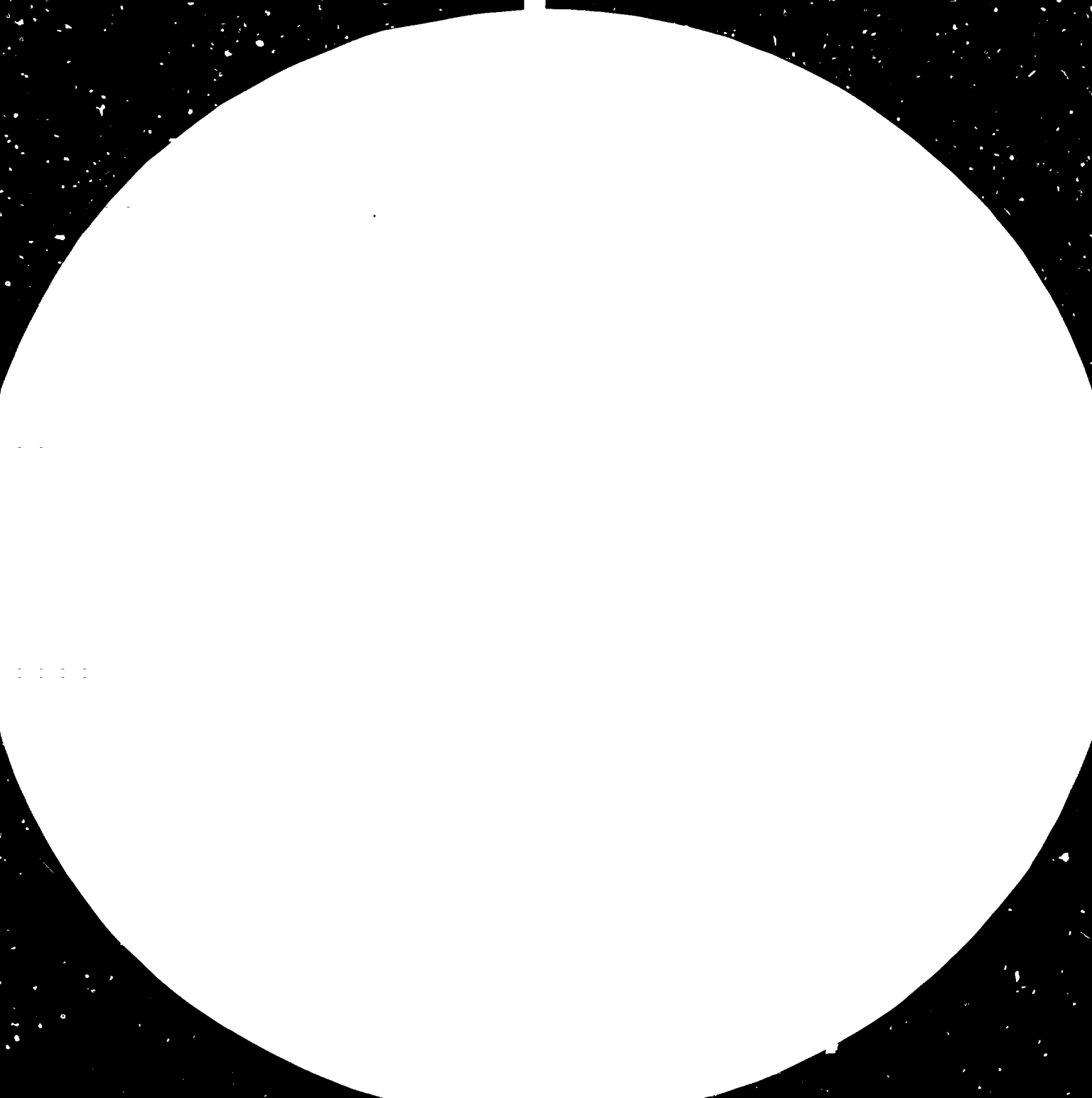
En las tablas 5 a 8 se presentan las "bases de cálculo" para los fetos. Allí se contempla el número de implantaciones (1),

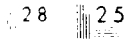
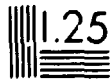
el número de fetos (2), que se dividen en normales (2.1) y --
afectados (2.2), ya sea porque presentaron anomalías - --
(2.2.1) o porque fueron reabsorbidos o muertos (2.2.2).

TABLA 1. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 7° AL 9° DIA DE LA GESTACION. BASES DE CALCULO.

"MADRES"

Dieta	Control	Control	% Spirulina		
	ordinario	soya	10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	27	27	22	29	26
2.- Fecundadas, con:	24	26	19	27	23
2.1 Camada normal.	17	20	13	21	19
2.2 Camada afectada por:	7	6	6	6	4
2.2.1 Fetos reabsorbidos o muertos.	4	0	1	1	0
2.2.2 Fetos anormales.	1	3	1	1	1
2.2.3 Fetos reabsorbidos o muertos y anormales.	2	3	4	4	3
3.- Gestantes al sacrificio.	23	26	18	26	23





Resolution Test Chart
1.0 1.1 1.25 1.4 1.6 1.8 2.0 2.2 2.5 2.8

TABLA 2. EFECTO DE LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 7°
AL 14° DIA DE LA GESTACION. BASES DE CALCULO.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	27	22	21	24	22
2.- Fecundadas, con:	24	19	20	22	21
2.1 Camada normal.	17	15	15	16	16
2.2 Camada afectada por:	7	4	5	6	5
2.2.1 Fetos reabsor- bidos o muer- tos.	4	1	2	1	2
2.2.2 Fetos anormales.	1	2	2	2	1
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	2	1	1	3	2
3.- Gestantes al sacrificio.	23	19	19	20	20

TABLA 3. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL
1° AL 14° DIA DE LA GESTACION. BASES DE CALCULO.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	27	26	25	25	25
2.- Fecundadas, con:	24	25	20	24	22
2.1 Camada normal.	17	16	15	17	16
2.2 Camada afectada por:	7	9	5	7	6
2.2.1 Fetos reabsor- bidos o muer- tos.	4	8	3	3	1
2.2.2 Fetos anormales.	1	1	1	4	5
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	2	0	1	0	0
3.- Gestantes al sacrificio.	23	25	20	24	22

TABLA 4. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL
1° AL 21° DIA DE LA GESTACION. BASES DE CALCULO.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	27	25	26	28	23
2.- Fecundadas, con:	24	22	23	25	23
2.1 Camada normal.	17	15	16	16	15
2.2 Camada afectada por:	7	7	7	9	8
2.2.1 Fetos reabsor- bidos o muer- tos.	4	3	3	6	5
2.2.2 Fetos anormales.	1	3	3	2	2
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	2	1	1	1	1
3.- Gestantes al sacrificio.	23	22	21	23	21

TABLA 5. EFECTO DE LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA -
DEL 7° AL 9° DIA DE LA GESTACION. BASES DE-
CALCULO.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	244	270	202	267	219
2. Fetos.	212	243	178	235	198
2.1 Normales.	209	235	172	230	194
2.2 Afectados por:	35	35	30	37	25
2.2.1 Anormalidades.	3	8	6	5	4
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	32	27	24	32	21

TABLA 6. EFECTO DE LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL
 7° AL 14° DIA DE LA GESTACION. BASES DE CALCULO.
LO.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	244	195	210	218	223
2. Fetos.	212	175	187	195	195
2.1 Normales.	209	169	180	190	190
2.2 Afectados por:	35	26	30	28	33
2.2.1 Anormalidades.	3	6	7	5	5
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	32	20	23	23	28

TABLA 7. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL
1° AL 14° DIA DE LA GESTACION. BASES DE CALCULO.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	224	284	201	241	219
2. Fetos.	212	240	178	224	209
2.1 Normales.	209	239	176	219	203
2.2 Afectados por:	35	45	25	22	16
2.2.1 Anormalidades.	3	1	2	5	6
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	32	44	23	17	10

TABLA 8. EFECTO DE LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL
1° AL 21° DIA DE LA GESTACION. BASES DE CALCULO.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	244	230	211	244	217
2. Fetos.	212	193	180	182	177
2.1 Normales.	209	189	176	179	175
2.2 Afectados por:	35	41	35	65	42
2.2.1 Anormalidades.	3	4	4	3	2
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	32	37	31	62	40

En las tablas 9 a 12 se muestran los datos anteriores transformados a porcentajes, en lo que respecta a las madres.

En la tabla 9, se observa que los porcentajes de las madres afectadas, es similar en los lotes tratados con Spirulina y el control de soya. Tampoco hay diferencia mayor entre los dos controles en sí. Las madres que presentaron camada afectada se encuentran distribuidas indiferentemente en aquellas que presentaron únicamente fetos reabsorbidos o muertos, malformes o simultáneamente fetos reabsorbidos o muertes y malformes.

La tabla 10 indica también que el porcentaje de camada afectada es muy similar al control de soya. Como en el caso anterior los accidentes se encuentran repartidos indiferentemente en las tres clasificaciones.

En la tabla 11 se observa que los porcentajes de las afectadas por la Spirulina son en todos los casos menores al lote control soya. Estas hembras en el caso de soya están representadas principalmente por hembras con fetos reabsorbidos. Este también es el caso del control ordinario y del lote de 10% de Spirulina.- En cambio, con los niveles del 20 y 30%, las madres afectadas son debidas a que presentaron principalmente fetos anormales y en segundo lugar a que tuvieron fetos reabsorbidos.

En la tabla 12, nuevamente se registran porcentajes muy similares de madres afectadas en tratadas y no tratadas con el alga. En el control ordinario así como con el nivel del 20 y 30%, --

las madres afectadas se caracterizan principalmente por aquellas que presentan unicamente fetos reabsorbidos o muertos.

TABLA 9. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 7° AL
9° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	88.8	96.2	86.3	93.1	86.6
2.1 Camada normal.	70.8	77.0	68.4	77.8	82.6
2.2 Camada afectada por:	29.2	23.0	31.6	22.2	17.4
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	16.7	0.0	5.3	3.7	0.0
2.2.2 Fetos anormales.	4.2	11.5	5.3	3.7	4.3
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	8.3	11.5	21.0	14.8	13.0
3. Gestantes al sacrificio.	95.8	100.0	94.7	96.3	100.0

TABLA 10. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 7° AL
14° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	88.9	86.3	95.2	91.7	95.4
2.1 Camada normal.	70.8	78.9	75.0	72.7	76.2
2.2 Camada afectada por:	29.2	21.0	25.0	27.3	23.8
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	16.7	5.2	10.0	4.5	9.5
2.2.2 Fetos anormales.	4.2	10.5	10.0	9.1	4.8
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	8.3	5.2	5.0	13.6	9.5
3. Gestantes al sacrificio.	95.8	100.0	95.0	90.9	95.2

TABLA 11. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 1° AL 14° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	88.8	96.1	80.0	96.0	88.0
2.1 Camada normal.	70.8	64.0	75.0	70.8	72.7
2.2 Camada afectada por:	29.2	36.0	25.0	29.2	27.3
2.2.1 Fetos reabsorbidos o muertos.	16.7	32.0	15.0	12.5	4.5
2.2.2 Fetos anormales.	4.2	4.0	5.0	16.7	22.7
2.2.3 Fetos reabsorbidos o muertos y anormales.	8.3	0.0	5.0	0.0	0.0
3. Gestantes al sacrificio.	95.8	100.0	100.0	100.0	100.0

TABLA 12. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 1° AL
21° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	88.8	88.0	88.5	89.3	100.0
2.1 Camada normal.	70.8	68.2	69.6	64.0	65.2
2.2 Camada afectada por:	29.2	31.8	30.4	36.0	34.8
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	16.7	13.6	13.0	24.0	21.7
2.2.2 Fetos anormales.	4.2	13.6	13.0	8.0	8.7
2.2.3 Fetos reabsorbi- s o muertos y anormales.	8.3	4.5	4.3	4.0	4.3
3. Gestantes al sacrificio.	95.8	100.0	91.3	92.0	91.3

Los datos relativos a los fetos se presentan en las tablas 13 a 16. En la primera de ellas se observa que no hay diferencia de fetos afectados entre el lote control de soya y los alimentados con Spirulina. Los afectados están caracterizados primordialmente por reabsorbidos.

En lo que respecta al peso promedio de las crías se encontró diferencia significativa con el 10 y 20% de Spirulina.

La tabla 14, tampoco acusa mayor diferencia del control con los tratados y los fetos afectados también se deben sobre todo a -- reabsorciones.

En la tabla 15 la incidencia de fetos afectados por la inges- - tión de Spirulina es en todos los casos menor que la encontrada en el lote de soya. Se advierte diferencia significativa en el número de implantaciones por hembra fecundada con los tres niveles de Spirulina y también se acusa diferencia en el peso promedio de los fetos correspondientes a madres tratadas con Spirulina al 30%.

La tabla 16 indica que los accidentes son esencialmente reab- - sorciones embrionarias que en el caso del 20% llegó a 25.4. Sinembargo el conjunto de los fetos afectados, ya sea por anomalías o por reabsorciones no difiere radicalmente. Se nota sinembargo que existe diferencia significativa en el promedio de - peso de los fetos cuyas madres recibieron el 10 y 30% de alga, - así como también entre los controles.

TABLA 13. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 7° AL
9° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	85.	87.0	85.1	86.1	88.6
2.2. Afectados por:	14.3	13.0	14.8	13.8	11.4
2.2.1 Anormalidades.	1.2	3.0	3.0	1.9	1.8
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	13.1	10.0	11.8	11.9	9.6
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	3.2	3.4	3.0*	3.0*	3.5
- implantaciones/hembra fecun- dada.	10.1	10.3	10.6	9.9	9.5
- fetos/hembra gestante	9.2	9.3	9.8	9.0	8.6

TABLA 14. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 7° AL
14° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	85.6	86.7	85.7	87.1	85.2
2.2. Afectados por:	14.3	13.3	14.5	12.8	14.8
2.2.1 Anormalidades.	1.2	3.1	3.3	2.5	2.2
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	13.1	10.2	10.9	10.5	12.5
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	3.21	3.20	3.20	3.32	3.28
- implantaciones/hembra fecun- dada.	10.1	10.2	10.5	9.9	10.6
- fetos/hembra gestante.	9.2	9.2	9.8	9.7	9.7

TABLA 15. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 1° AL
14° DÍA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	85.6	84.1	87.6	90.9	92.7
2.2. Afectados por:	14.3	15.8	12.4	9.1	7.3
2.2.1 Anormalidades.	1.2	0.3	1.0	2.0	2.7
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	13.1	15.5	11.4	7.0	4.6
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	3.21	3.14	3.18	3.12	3.28*
- implantaciones/hembra fecun- dada.	10.1	11.3	10.0*	10.0*	9.9*
- fetos/hembra gestante.	9.2	9.6	8.9	9.3	9.2

TABLA 16. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 1° AL
21° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	85.6	82.2	83.4	73.4	80.6
2.2. Afectados por:	14.3	17.8	16.6	26.6	19.3
2.2.1 Anormalidades.	1.2	1.7	1.9	1.2	0.9
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	13.1	16.1	14.7	25.4	18.4
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	3.21*	3.04	3.20*	2.90	3.20*
- implantaciones/hembra fecun- dada.	10.1	9.5	9.1	9.7	9.4
- fetos/hembra gestante.	9.2	8.7	8.5	7.9	8.4

Las tablas 17 a 20 se refieren a los valores del índice terat_ogeno, obtenido a partir de los porcentajes anteriores.

Como se observa en la tabla 17 ese índice es negativo para el caso de las madres en relación al control de soya, que a su vez lo es negativo con respecto al control ordinario que no se encuentra en esta tabla.

Los resultados de los fetos en la misma tabla, indican igualmente que no hubo efecto terat_ogeno del alga a ningún nivel.

La tabla 18 que muestra los resultados del tratamiento durante la organogénesis, tampoco acusa algún efecto terat_ogeno de la Spirulina ni en el caso de las madres ni en los fetos.

El mismo tipo de resultados se observan en la tabla 19 en la que con excepción de los datos del control de soya todos son negativos.

La tabla 20 muestra índices negativos para el caso del 10% y positivos para los otros niveles de Spirulina, aunque entre estos últimos apenas se alcanza el 10.7 con el 20% del alga.

TABLA 17. LA SPIRULINA EN RATAS, INGERIDA DEL 7° AL
9° DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATOGENO.

<u>% Spirulina</u>	<u>En las madres</u>	<u>En los fetos</u>
10	- 11.2	2.0
20	- 1.3	0.9
30	- 7.3	- 1.8
Control soya	- 8.7	- 1.5

TABLA 18. LA SPIRULINA EN RATAS INGERIDA DEL 7° AL 14°
DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATOGENO.

% Spirulina	En las madres	En los fetos
10	5.0	1.1
20	8.0	- 5.8
30	3.5	1.7
Control soya	- 11.6	- .1.2

TABLA 19. LA SPIRULINA EN RATAS INGERIDA DEL 1° AL 14°
DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATOGENO.

% Spirulina	En las madres	En los fetos
10	- 17.2	- 4.0
20	- 10.6	- 8.0
30	- 13.6	- 10.1
Control soya	9.6	1.7

TABLA 20. LA SPIRULINA EN RATAS INGERIDA DEL 1° AL 21°
DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATOGENO.

% Spirulina	En las madres	En los fetos
10	- 2.0	- 1.4
20	6.1	10.7
30	4.4	1.8
Control soya	3.7	4.1

En las tablas 21 a 24 se describen los fetos malformes debidos a los diferentes tratamientos en el examen exterior, análisis del esqueleto y vísceras.

En la tabla 21 se observan casos de fetos macerados en todos los lotes, fetos que presentaron hematomas y un feto con edema generalizado con la dieta del 20%.

Por otra parte el análisis del esqueleto por coloración con alizarina revela un escaso número de fetos con defectos en las costillas en casi todos los grupos y con el 30% de Spirulina, un caso osificación general retardado.

Los cortes seriados de Wilson informan en cambio de casos de hidronefrosis, malformación bastante frecuente en la raza de animal utilizada, que se ha manifestado desde experimentos anteriores.

En la tabla 22 se observa que las anomalías externas son casos de hematomas y los niveles de 10 y 20% provocaron respectivamente un caso de edema generalizado.

El análisis del esqueleto muestra diferentes malformaciones algunas de las cuales se encuentran también en el control de soya; tal es el caso de los fetos que revelan costillas malformes y pobre osificación craneal, que se repiten también en el caso de los tratamientos con 10 y 20% de Spirulina.

Los cortes de Wilson muestran casos de hidronefrosis y desplazamiento de testículos.

La tabla 23 señala las lesiones encontradas en los fetos provenientes de madres tratadas del 1° a 14° día de la gestación. -- Los fetos anormales encontrados con el tratamiento de Spirulina se refieren a casos aislados de celosomía y edema con micrognatia, no encontradas en el control de soya. Por otra parte las malformaciones esqueléticas, atacan las costillas en los controles y tratados y en el caso de malformaciones viscerales, la hidronefrosis sigue siendo común en los lotes experimentales y control de soya.

La tabla 24 presenta las anormalidades de los fetos cuyas madres se trataron durante toda la gestación. Se observa que algunas malformaciones son similares a las encontradas en los controles como son las reveladas a nivel de esqueleto y también casos de hidrocefalia e hidronefrosis. Como malformación distinta de los controles se encuentran 2 casos de celosomía y un feto con edema generalizado. El número y frecuencia de los fetos anormales sin embargo, es semejante en lotes controles y experimentales.

TABLA 21. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATAS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 7° AL 9° DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina	30
				20	
EXTERIOR	1f. macerado	2f. macerados	2f. macerados	2f. macerados	1f. macerado
		1f. hematoma		1f. edema-generalizado 1f. falta-desarrollo	1f. hematoma
+	212	243	178	235	198
ALIZARINA	1f. costillas malformas	1f. costillas malformas.	3f. costillas malformas		1f. osificación general retardada
		2f. reducción 13° costillas		1f. reducción 13° costillas	
+	141	154	118	152	127
WILSON	1f. hidronefrosis unilateral	2f. hidronefrosis unilateral	1f. hidronefrosis unilateral		1f. hidronefrosis unilateral
+	71	79	60	83	71

+ Número de fetos examinados.

TABLA 22. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATAS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 7° AL 14° DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya		% Spirulina	
		10	20	20	30
EXTERIOR	1f. macerado	2f. hematoma	2f. hematoma		1f. hematoma*
			1f. edema generalizado	1f. edema generalizado	
+	212	174	179	180	176
ALIZARINA	1f. costillas malformas	2f. costillas malformas	2f. osificación general retardada	1f. costillas malformas	2f. osificación general retardada
		1f. pobre osificación craneal	* 1f. pobre osificación craneal	2f. reducción 13° costillas	2f. costillas extras.
+	141	113	121	125	114
WILSON	1f. hidronefrosis unilateral	1f. desplazamiento de testículos	1f. hidronefrosis bilateral	1f. hidronefrosis bilateral	* 1f. desplazamiento de testículos
			* 1f. hidrocefalia unilateral		
+	71	61	58	55	62

+ Número de fetos examinados.

* Mismo feto.

TABLA 23. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATAS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 1° AL 14° DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	lf. macerado		lf. celosomía	lf. hemato ma	lf. edema y micrognatia
+	212	240	178	224	200
ALIZARINA	lf. costillas mal-- formes	lf. costillas fu-- sión		2f. costillas ex-- tras lf. costillas defor-- mes	2f. costillas defor-- mes lf. costillas fusi-- ón
+	141	162	120	148	139
WILSON	lf. hidronefrosis - unilateral			lf. hidronefrosis - bilateral	lf. hidronefrosis bila-- teral lf. hidronefrosis bila-- teral e hi-- drocefalia-- unilateral.
+	71	78	58	76	70

+ Número de fetos examinados.

TABLA 24. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATAS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 1° AL 21° DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	lf. macerado		lf. celosomía	2f. celosomía	lf. edema generalizado
			lf. extremidades deformes		
+	212	223	180	182	177
ALIZARINA		2f. reducción 13° costillas		lf. costillas extras	
	lf. costillas malformas	lf. costillas malformas	lf. costillas malformas		
+	140	148	119	122	121
WILSON	lf. hidronefrosis unilateral	lf. hidrocefalia bilateral	lf. hidrocefalia unilateral		lf. hidronefrosis unilateral
+	72	75	61	60	56

* Número de fetos examinados.

Ratones

Aumento ponderal.

Las figuras y tablas presentadas a continuación para los resultados de los ratones mantienen la misma secuencia que para las ratas.

Las figuras 5 a 8 muestran las curvas de aumento ponderal cuando se les proporcionó la Spirulina en 4 diferentes períodos.

En las figuras 5 y 6 se observa que la Spirulina no modifica el crecimiento de los ratones en el período de tratamiento respectivo o una vez terminado éste.

En el caso de la ingestión el 1° al 13° día (fig. 7) se nota -- que los pesos de todos los grupos de animales son ligeramente - inferiores al control soya durante el período de tratamiento, - habiendo sin embargo a continuación una franca recuperación.

En la figura 8 también se observa durante los dos primeros tercios de la gestación una leve disminución de los pesos con respecto al control de soya, pero en el último tercio los grupos - de 10, 20 y 30% acusan inclusive un pequeño incremento.

FIG. 5 AUMENTO PONDERAL DE RATONES TRATADOS CON SPIRULINA DEL 7° al 9° DIA DE LA GESTACION

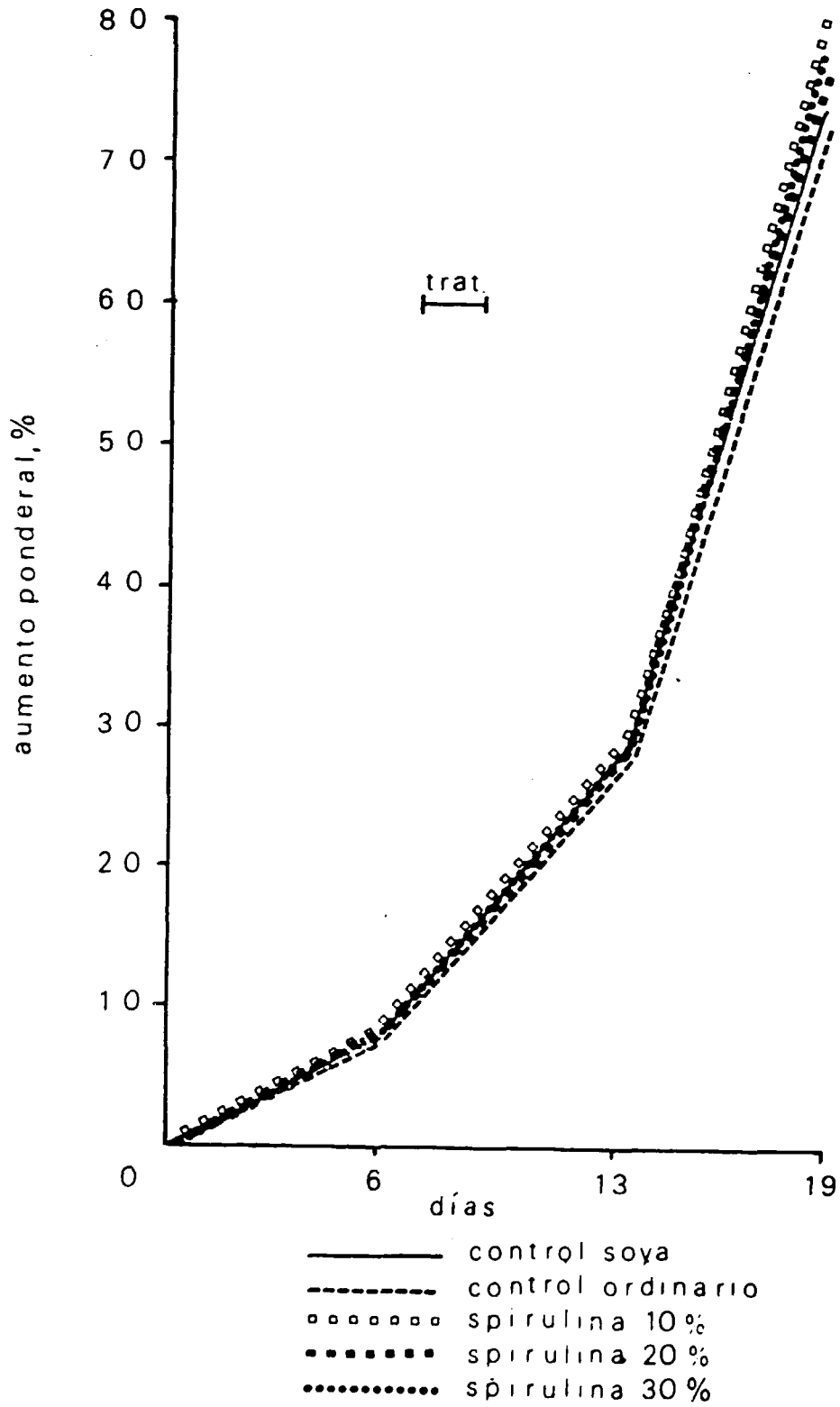


FIG. AUMENTO PONDERAL DE RATONES TRATADOS CON SPIRULINA DEL 7° al 13° DIA DE LA GESTACION

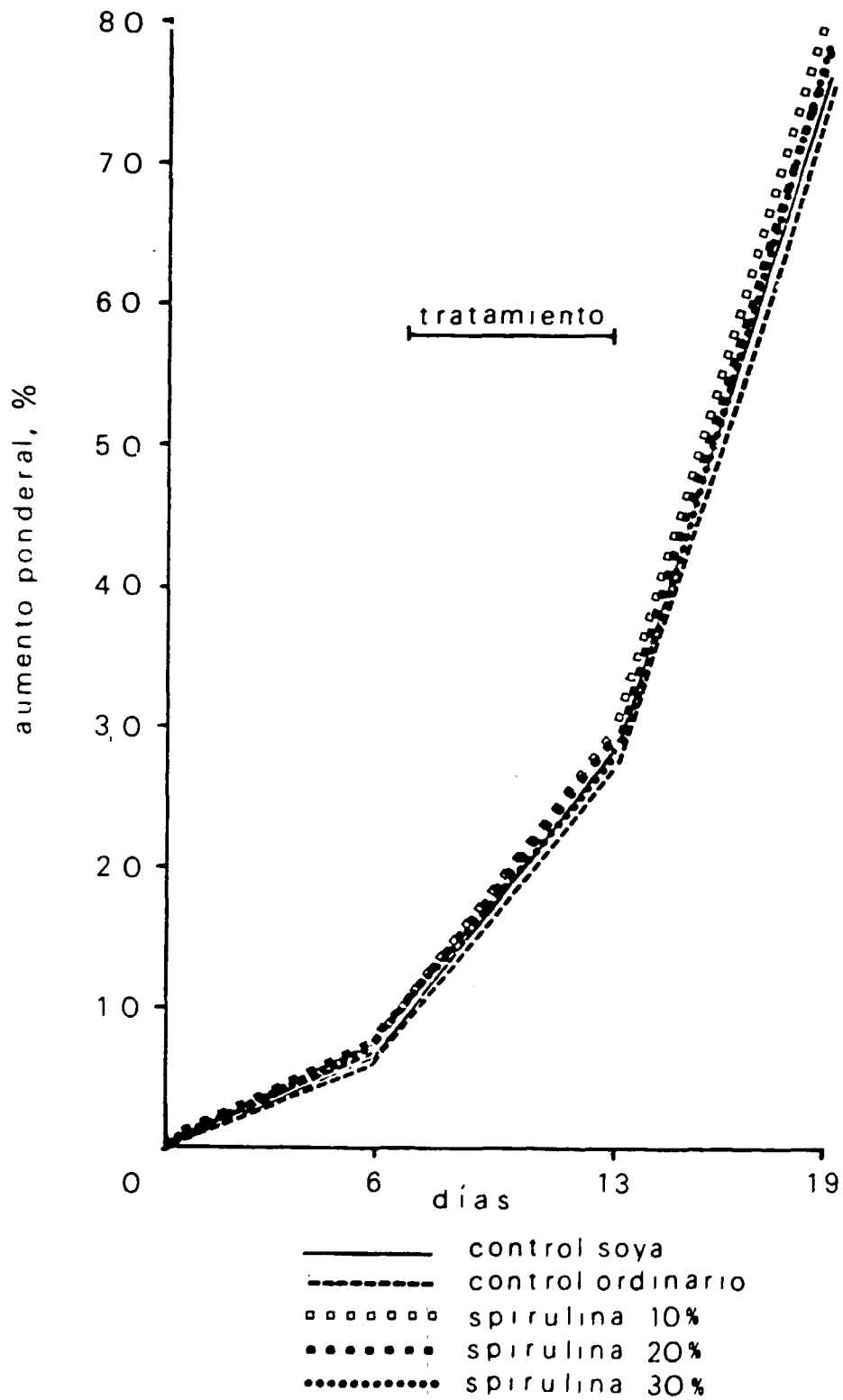


FIG. 7 AUMENTO PONDERAL DE RATONES TRATADOS CON SPIRULINA DEL 1º al 13º DIA DE LA GESTACION

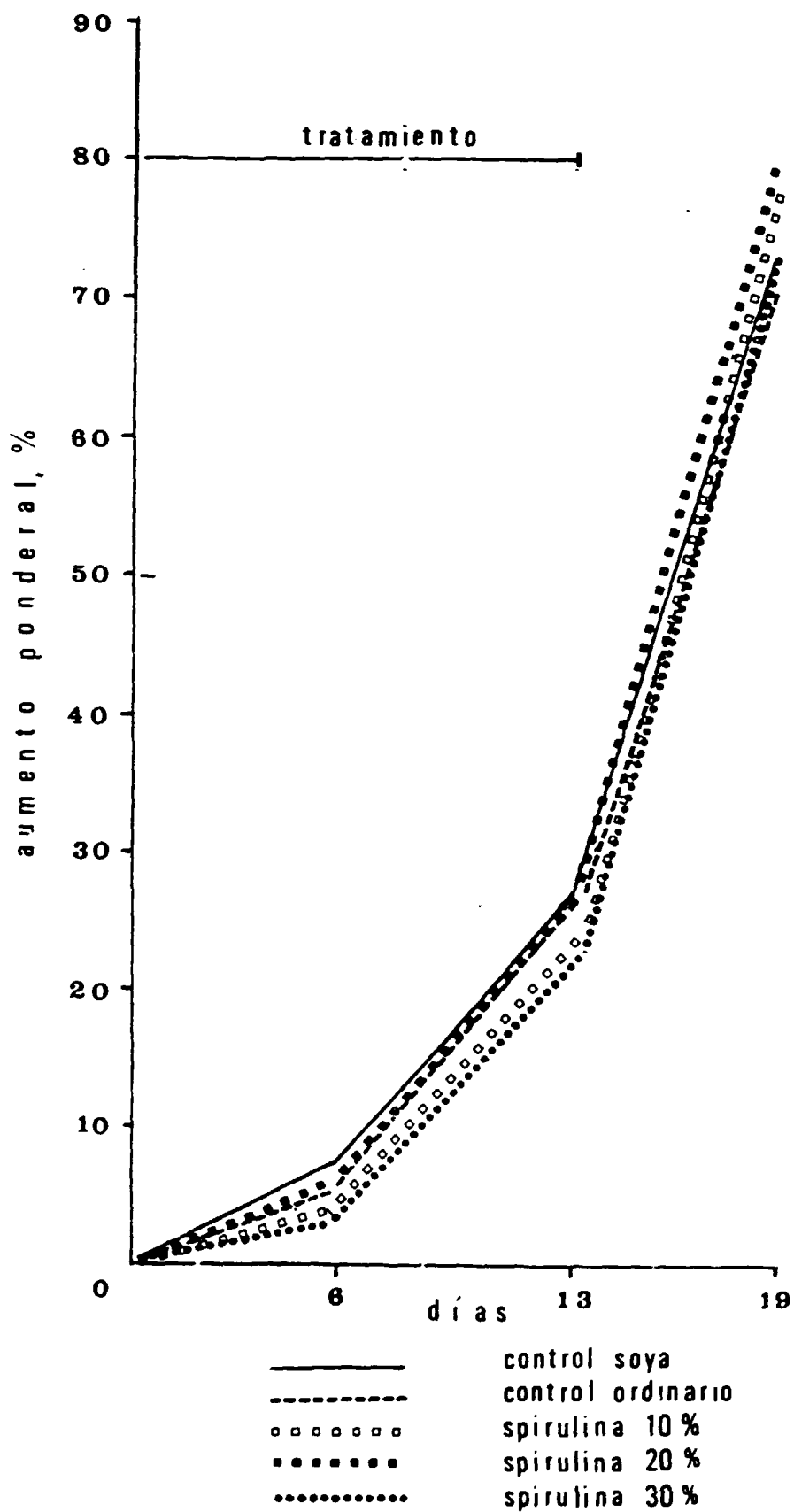
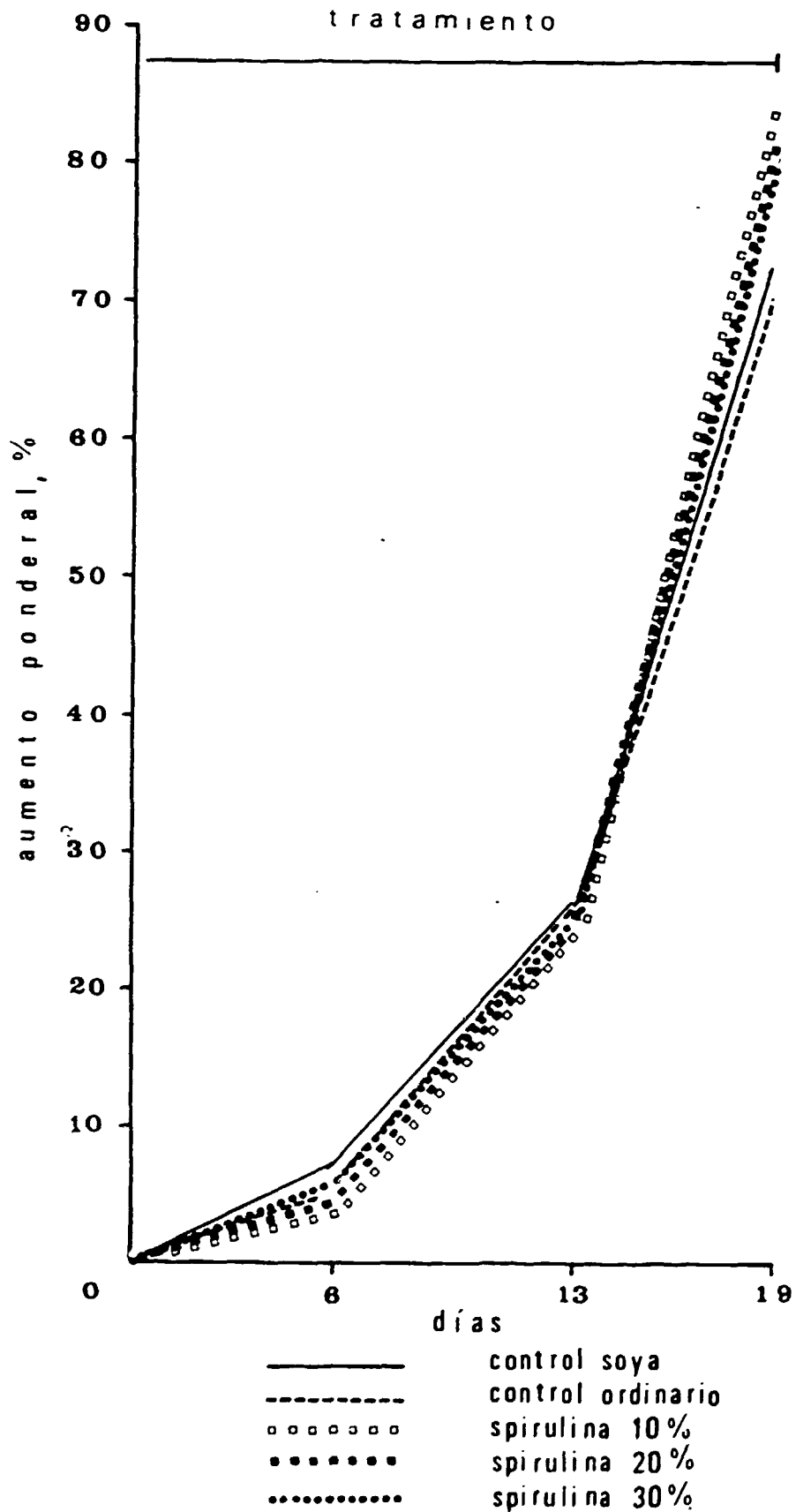


FIG. 8 AUMENTO PONDERAL DE RATONES TRATADOS CON SPIRULINA DEL 1º al 19º DIA DE LA GESTACION



Efecto teratógeno.

Las tablas 25 a 32 nuevamente muestran los datos absolutos de las madres y los fetos y las siguientes los porcentajes, índice teratógeno y descripción de anormalidades respectivamente.

En la tabla 33 relativa a las madres se observa que la frecuencia de afectadas por el tratamiento con Spirulina es inferior a la del control soya. Esas madres se deben sobre todo a que dieron lugar a reabsorciones, a diferencia del control que presenta incidencia igual de éstas con fetos anormales.

Resultados similares se encuentran en las hembras alimentadas durante la organogénesis (tabla 34), aunque en el caso del 30% hay igual frecuencia de madres con fetos reabsorbidos y muertos (2.2.1), que madres con fetos reabsorbidos, muertos y anormales.

En la tabla 35 se nota que el control soya alcanza un valor de 37.5 de madres con camada afectada y el correspondiente a los lotes experimentales es menor conforme aumenta el nivel de Spirulina. En el lote control soya y el de Spirulina 10%, los accidentes correspondientes a madres con reabsorciones y fetos malformes son superiores a las madres que presentaron sólo reabsorciones.

El tratamiento de los ratones del día 1° al 19° (tabla 36) revela que se producen más madres afectadas, que en los otros pe-

ríodos de tratamiento, sinembargo este incremento es caracterís-
tico de todos los lotes, incluido los controles soya y ordina-
rio.

En cada caso se nota que la mayoría de estas hembras es debida-
a la presencia de reabsorciones o fetos muertos, llegando con -
el nivel más alto de Spirulina a 33.3.

TABLA 25. EFECTO DE LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL
7° AL 9° DIA DE LA GESTACION.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	20	21	22	19	21
2.- Fecundadas, con:	18	19	18	17	19
2.1 Camada normal.	10	10	11	11	12
2.2 Camada afectada por:	8	9	7	6	7
2.2.1 Fetos reabsor- hidos o muer- tos.	4	4	5	4	4
2.2.2 Fetos anormales.	3	4	1	1	1
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	1	1	1	1	2
3.- Gestantes al sacrificio.	16	16	15	14	17

TABLA 26. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL
7° AL 13° DIA DE LA GESTACION.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	20	20	23	24	22
2.- Fecundadas, con:	18	19	22	21	20
2.1 Camada normal.	10	13	15	15	15
2.2 Camada afectada por:	8	6	7	6	5
2.2.1 Fetos reabsor- bidos o muer- tos.	4	4	5	3	2
2.2.2 Fetos anormales.	3	1	0	2	1
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	1	1	2	1	2
3.- Gestantes al sacrificio.	16	17	20	20	19

TABLA 27. EFECTO DE LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL
1° AL 13° DIA DE LA GESTACION.

"MADRES"

Dieta	Control	Control	% Spirulina		
	ordinario	soya	10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	20	20	22	20	21
2.- Fecundadas, con:	18	16	19	17	15
2.1 Camada normal.	10	10	13	13	11
2.2 Camada afectada por:	8	6	6	4	4
2.2.1 Fetos reabsor- bidos o muer- tos.	4	2	1	2	1
2.2.2 Fetos anormales.	3	1	1	0	2
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	1	3	4	2	1
3.- Gestantes al sacrificio.	16	14	18	16	14

TABLA 28. EFECTO DE LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL
1° AL 19° DIA DE LA GESTACION.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	20	20	21	19	20
2.- Fecundadas, con:	18	16	17	16	18
2.1 Camada normal.	10	8	8	9	9
2.2 Camada afectada por:	8	8	9	7	9
2.2.1 Fetos reabsor- hidos o muer- tos.	4	4	5	4	6
2.2.2 Fetos anormales.	3	1	3	1	0
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	1	3	1	2	3
3.- Gestantes al sacrificio.	16	14	15	14	15

TABLA 29. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL
7° AL 9° DIA DE LA GESTACION.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	182	192	202	169	190
2. Fetos.	138	146	162	124	159
2.1 Normales.	133	141	157	121	153
2.2 Afectados por:	49	51	45	48	37
2.2.1 Anormalidades.	5	5	5	3	6
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	44	46	40	45	31

TABLA 30. EFEECTO DE LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL
7° AL 13° DIA DE LA GESTACION.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	182	189	229	223	206
2. Fetos.	138	152	184	188	175
2.1 Normales.	133	146	181	183	171
2.2 Afectados por:	49	43	48	40	35
2.2.1 Anormalidades.	5	6	3	5	4
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	44	37	45	35	31

TABLA 31. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL
1° AL 13° DIA DE LA GESTACION.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	182	156	181	179	130
2. Fetos.	138	119	158	147	124
2.1 Normales.	133	115	152	145	120
2.2 Afectados por:	49	41	29	34	18
2.2.1 Anormalidades.	5	4	6	2	4
2.2.2 Reabsorciones o muertés.	44	37	23	32	14

TABLA 32. EFECTO DE LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL
1° AL 19° DIA DE LA GESTACION.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	182	159	165	159	164
2. Fetos.	138	113	123	118	124
2.1 Normales.	133	110	116	113	108
2.2 Afectados por:	49	49	49	46	56
2.2.1 Anormalidades.	5	4	7	5	6
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	44	45	42	41	50

TABLA 33. LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL 7°
AL 9° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
♀ de hembras:					
2. Fecundadas con:	90.0	90.5	81.8	89.5	90.5
2.1 Camada normal.	55.5	52.6	61.1	64.7	63.1
2.2 Camada afectada por:	44.4	47.3	38.9	35.3	36.8
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	22.2	21.0	27.8	23.5	21.0
2.2.2 Fetos anormales.	16.7	21.0	5.5	5.9	5.3
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	5.5	5.3	5.5	5.9	10.5
3. Gestantes al sacrificio.	88.9	84.2	83.3	82.3	89.5

TABLA 34. LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL 7°
AL 13° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	90.0	95.0	95.6	87.5	90.9
2.1 Camada normal.	55.5	68.4	68.2	71.4	75.0
2.2 Camada afectada por:	44.4	31.6	31.8	28.6	25.0
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	22.2	21.0	22.7	14.3	10.0
2.2.2 Fetos anormales.	16.7	5.3	0.0	9.5	5.0
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	5.5	5.3	9.1	4.8	10.0
3. Gestantes al sacrificio.	88.9	89.5	90.9 -	95.2	95.0

TABLA 35. LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL 1°
AL 13° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES.

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	90.0	80.0	86.4	85.0	71.4
2.1 Camada normal.	55.5	62.5	68.4	76.5	73.3
2.2 Camada afectada por:	44.4	37.5	31.6	23.5	26.7
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	22.2	12.5	5.3	11.8	6.7
2.2.2 Fetos anormales.	16.7	6.2	5.3	0.0	13.3
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	5.5	18.7	21.0	11.8	6.7
3. Gestantes al sacrificio.	88.9	87.5	94.7	94.0	93.3

TABLA 36. LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL 1°
AL 19° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	90.0	30.0	80.9	84.2	90.0
2.1 Camada normal.	55.5	50.0	47.0	56.2	50.0
2.2 Camada afectada por:	44.4	50.0	52.9	43.7	50.0
2.2.1 Fetos reabsorbi dos o muertos.	22.2	25.0	29.4	25.0	33.3
2.2.2 Fetos anormales.	16.7	6.2	17.6	6.2	0.0
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	5.5	18.7	5.9	12.5	16.7
3. Gestantes al sacrificio.	88.9	87.5	88.2	87.5	83.3

En todas las tablas referentes a los fetos (37 - 40) se observan similares frecuencias de afectados en el lote control soya y los de Spirulina. Así también los fetos reabsorbidos o muertos representan la mayoría de tales accidentes en todos los períodos de tratamiento.

En las tablas 37 y 38 se notan además algunas diferencias significativas en el peso promedio de los fetos y en el promedio de fetos por hembra gestante.

TABLA 37. LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL 7º AL
9º DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	73.1	75.7	77.7	71.6	80.5
2.2. Afectados por:	26.9	26.5	22.3	28.4	19.5
2.2.1 Anormalidades.	2.7	2.6	2.5	1.8	3.1
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	24.2	23.9	19.8	26.6	16.3
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	1.40	1.33	1.38	1.43*	1.36
- implantaciones/hembra fecun- dada.	10.1	10.1	11.2*	9.9	10.0
- fetos/hembra gestante.	8.6*	10.2	10.8	8.8	9.3

TABLA 38. LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL 7° AL 13° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	73.1	77.2	79.0	82.0	83.0
2.2. Afectados por:	26.9	22.7	21.0	17.9	17.0
2.2.1 Anormalidades.	2.7	3.2	1.3	2.2	1.9
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	24.2	19.6	19.6	15.7	15.0
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	1.40	1.33	1.38	1.30	1.36
- implantaciones/hembra fecundada.	10.1	9.9	10.4	10.6	10.3
- fetos/hembra gestante.	8.6*	8.9	9.2	9.9*	9.7

..TABLA 39. LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL 1° AL
13° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	73.1	73.7	84.0	81.0	86.9
2.2. Afectados por:	26.9	26.3	16.0	19.0	13.0
2.2.1 Anormalidades.	2.7	2.6	3.3	1.1	2.9
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	24.2	23.7	12.7	17.9	10.1
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	1.40	1.37	1.41	1.36	1.42
- implantaciones/hembra fecun- dada.	10.1	9.7	9.5	10.5	9.2
- fetos/hembra gestante.	8.6*	8.5	8.7	9.1	8.8

TABLA 40. LA SPIRULINA EN RATONES, INGERIDA DEL 1°
AL 19° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	73.1	69.2	70.3	71.1	65.8
2.2. Afectados por:	26.9	30.8	29.7	28.9	34.1
2.2.1 Anormalidades.	2.7	2.5	4.2	3.1	3.6
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	24.2	28.3	25.4	25.8	30.5
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	1.40	1.34	1.36	1.40	1.38
- implantaciones/hembra fecun- dada.	10.1	9.9	9.7	9.9	9.1
- fetos/hembra gestante.	8.6*	8.1	8.2	8.4	8.2

Como resultado de los datos anteriores, en las tablas siguientes (41 - 44), el índice teratógeno es negativo en casi todos los casos, alcanzando valores bastante bajos como el de - 22.8 en la ingestión del 6° a 8° día (tabla 41); - 23 con el tratamiento del 7° al 13° y de - 22.4 del 1° al 13°. Estos índices son inferiores a los encontrados anteriormente con rata y muestran que la Spirulina no provoca efectos teratógenos.

TABLA 41. LA SPIRULINA EN RATONES INGERIDA DEL 7° al 9°
DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATOGENO.

% Spirulina	En las madres	En los fetos
10	- 16.0	- 2.6
20	- 22.8	5.4
30	- 20.0	- 6.3
Control soya	5.2	- 3.6

TABLA 42. LA SPIRULINA EN RATONES INGERIDA DEL 7°al 13°
DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATOGENO.

% Spirulina	En las madres	En los fetos
10	- 0.3	- 2.2
20	- 4.4	- 6.2
30	- 9.6	- 7.3
Control soya	- 23.0	- 5.7

TABLA 43. LA SPIRULINA EN RATONES INGERIDA DEL 1° al 13°
DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATOGENO.

% Spirulina	En las madres	En los fetos
10	- 9.4	- 14.0
20	- 22.4	- 9.9
30	- 17.3	- 18.0
Control soya	- 12.4	0.8

TABLA 44. LA SPIRULINA EN RATONES INGERIDA DEL 1° al 19°
DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATOGENO.

<u>% Spirulina</u>	<u>En las madres</u>	<u>En los fetos</u>
10	5.8	- 1.6
20	- 12.6	- 2.7
30	0.0	4.8
Control soya	10.1	- 5.3

El tipo de anormalidades encontradas en los ratones se indican en las tablas que siguen (45 - 48).

El examen exterior de los fetos provenientes de madres que ingirieron las dietas del 6° al 8° día de la gestación (tabla -- 45), indica que las anomalías son cualitativamente muy comparables a las encontradas en rata. Se trata de fetos macerados y fetos con hematomas. De la misma forma, por medio del análisis del esqueleto se notan casos de defectos en las costillas y de falta de osificación y por medio de cortes de Wilson malformaciones tales como hidronefrosis. Se observa además un caso aislado de paladar hendido con el 30% de Spirulina.

En la tabla 46 se distingue un caso de exencefalia con Spirulina al 10%. Siguen presentes los defectos en costillas, pobre osificación y defectos en las vértebras que son observados en lotes tratados y controles.

La tabla 47 registra malformaciones o anomalías leves y se encuentran repartidas indistintamente todos los lotes. Lo mismo se puede observar en la tabla 48, en la que como malformación particular se nota nuevamente un caso aislado de exencefalia con el 10%. Otras malformaciones menores aparecen con la técnica de Wilson.

TABLA 45. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATONES TRATADOS CON SPIRULINA DEL 7° AL 9° DIA DE LA - GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	1f. macerado	1f. macerado	2f. macerados	1f. edema generalizado	
		1f. exencefalia			
	1f. hematoma	1f. hematoma			2f. hematoma
		1f. falta - desarrollo			
+	138	164	162	124	159
ALIZARINA	1f. falta - osificación cráneo		2f. fusión costillas		2f. reducción 13° - costillas
				1f. osificación general retardada.	1f. osificación general retardada
+	80	108	110	81	101
WILSON	1f. hipoplasia pulmonar	1f. hidronefrosis unilateral	1f. ectopía renal	1f. hidronefrosis bilateral	1f. paladar hendido
	1f. edema - subcutáneo				
+	58	56	52	43	58

+ Número de fetos examinados.

TABLA 46. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATONES TRATADOS CON SPIRULINA DEL 7° AL 13° DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	1f. macerado 1f. hematoma	3f. hematomas	1f. exencefalia*	2f. edema generalizado	
+	138	152	216	202	185
ALIZARINA	1f. falta osificación cráneo	2f. costillas malformes 1f. falta general de osificación	1f. pobre osificación craneal 1f. fusión costillas*	2f. sin vertebral presacral 1f. falta general de osificación	2f. costillas malformes 2f. falta general de osificación
+	80	93	142	138	121
WILSON	1f. hipoplasia pulmonar 1f. edema subcutáneo		1f. hidrocefalia bilateral		1f. edema subcutáneo.
+	58	59	74	64	64

+ Número de fetos examinados.

* Mismo feto.

TABLA 47. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATONES TRATADOS CON SPIRULINA DEL 1° AL 13° DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	‡ Spirulina 20	30
EXTERIOR	1f. macerado	2f. edema generalizado	3f. macerados	1f. macerado	
	1f. hematoma	1f. hematoma			2f. hematomas
			1f. falta - desarrollo	1f. falta - desarrollo	
+	138	119	158	147	124
ALIZARINA	1f. falta - osificación cráneo				
+	80	82	99	98	82
WILSON	1f. hipoplasia pulmonar	1f. hemorragia intracranial	1f. hemorragia intrabdominal		1f. hidronefrosis - unilateral
	1f. edema - subcutáneo		1f. hipoplasia pulmonar		1f. ectopía renal
+	58	37	59	49	42

+ Número de fetos examinados.

TABLA 48. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE RATONES TRATADOS CON SPIRULINA DEL 1° AL 19° DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	lf. macerado			2f. macerados	2f. macerados
				lf. exencefalia	
	lf. hematoma			lf. edema generalizado	2f. edema generalizado
+	138	114	123	118	114
ALIZARINA	lf. falta osificación craneo	lf. costillas fusionadas		lf. osificación craneal retardada	lf. osificación general retardada
		lf. vértebra presacral extra			lf. costilla cervical grande
+	80	79	75	81	81
WILSON	lf. hipoplasia pulmonar	lf. hemorragia intracranial		2f. hipertrofia pulmonar	lf. hemorragia intrabdominal
	lf. edema subcutáneo	lf. alargamiento riñón			lf. edema subcutáneo
+	58	35	48	37	33

+ Número de fetos examinados.

Hamsters.

Aumento ponderal.

El porcentaje de aumento ponderal de las hembras alimentadas con las diferentes dietas de Spirulina del 7° al 9° día de la gestación, no se ve afectado según se observa en la figura 9.

En las figuras 10, 11 y 12 correspondientes a los otros periodos de tratamiento, tampoco se observan diferencias notables con el control de soya.

En forma general se nota que la variación de crecimiento de los hamsters con las dietas experimentales y controles es menor que en el caso de la rata y ratón.

FIG.9 AUMENTO PONDERAL DE HAMSTERS TRATADOS CON SPIRULINA DEL 7° al 9° DIA DE LA GESTACION

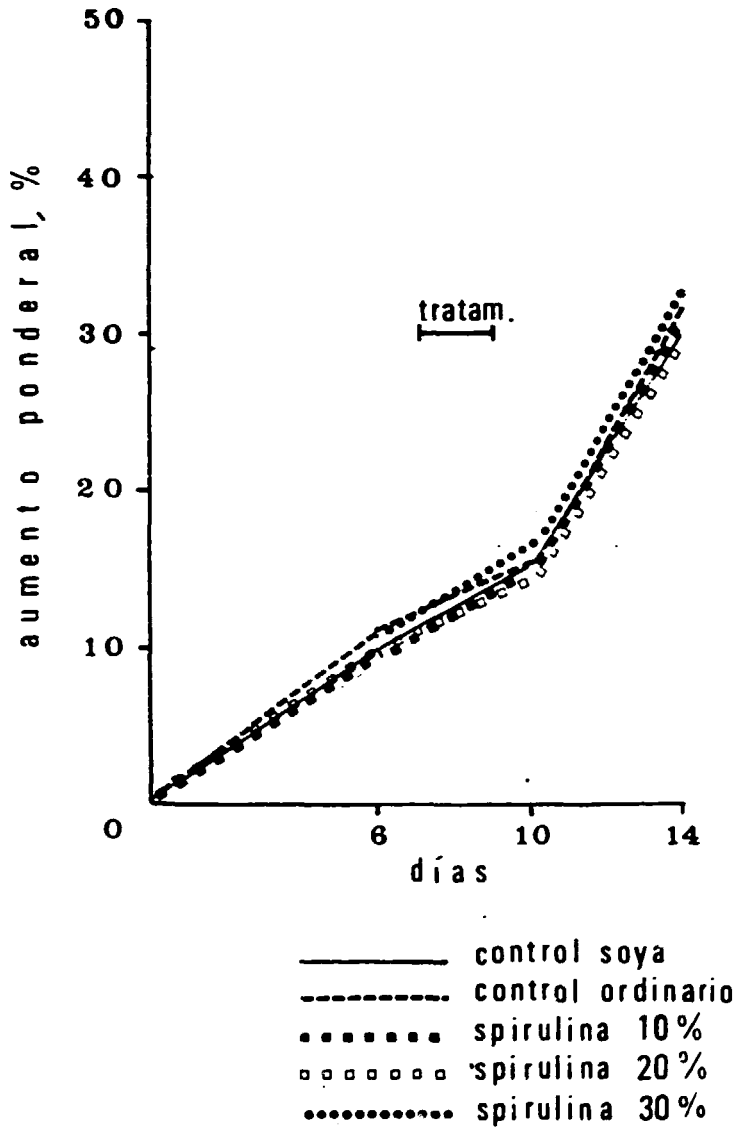


FIG.10 AUMENTO PONDERAL DE HAMSTERS TRATADOS CON SPIRULINA DEL 7º al 11º DIA DE LA GESTACION

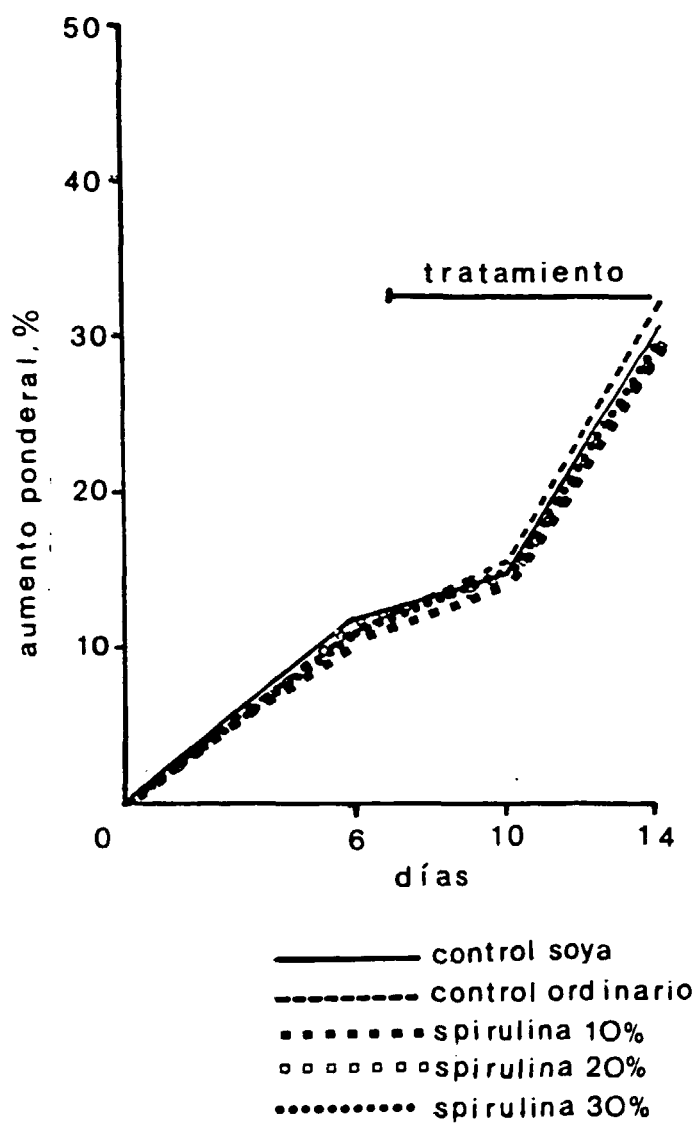


FIG.11 AUMENTO PONDERAL DE HAMSTERS TRATADOS CON SPIRULINA DEL 1º al 11º DIA DE LA GESTACION

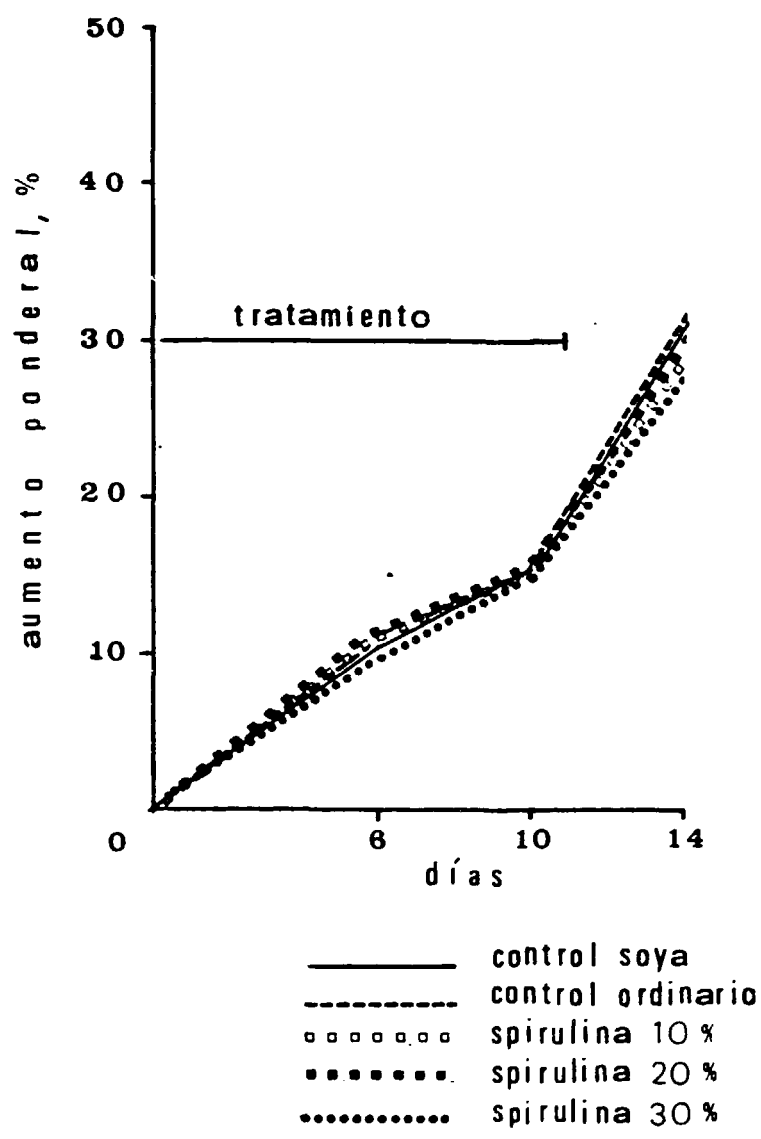
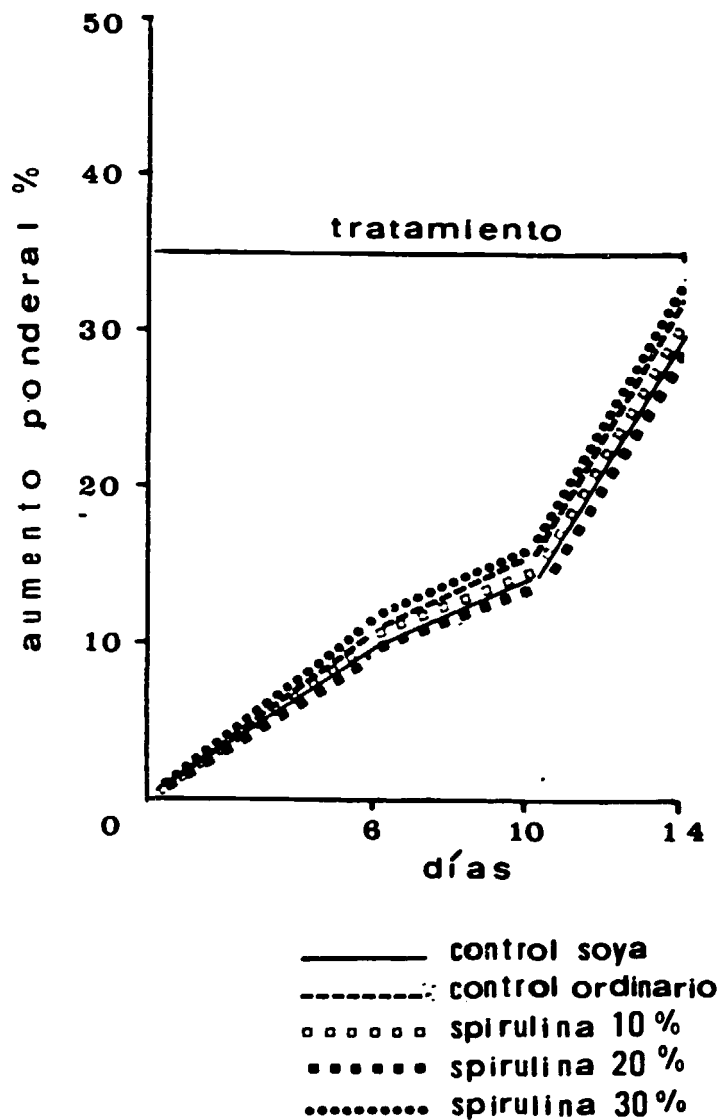


FIG.12 AUMENTO PONDERAL DE HAMSTERS TRATADOS CON SPIRULINA DEL 1º al 14º DIA DE LA GESTACION



Efecto teratógeno.

En las tablas 49 - 56 se presentan los valores absolutos y en las siguientes, porcentajes, índices y descripción de anomalías como para las ratas y ratones.

La tabla 57 muestra los resultados de la ingestión de Spirulina del 7° al 9° día de la gestación. Se puede observar que la camada afectada no registra diferencias con respecto al control y comprende indistintamente madres con fetos reabsorbidos o muertos y madres presentando simultáneamente fetos reabsorbidos o muertos y anormales. Las madres con fetos anormales tienen el valor de 0 para el control soya y Spirulina al 10 y 30%.

Por otra parte en la tabla 58 los valores correspondientes al 10 y 30% de Spirulina muestran disminución con respecto al control soya. En este control y con el nivel del 20% los accidentes son debidos sobre todo a madres con fetos reabsorbidos o muertos.

Los resultados presentados en la tabla 59 no indican diferencia con el control. Es notable que la concentración del 30% da lugar sobre todo a madres con reabsorciones embrionarias y que en ninguno de los tratamientos con Spirulina hay madres que únicamente presenten fetos con anomalías. Estas siempre están acompañadas de reabsorciones.

El efecto global de los accidentes no es diferente en el lote -

control y tratados en la tabla 60. En el control soya la camada afectada es debida en una gran proporción a madres que unicamente presentaron fetos reabsorbidos; en menor forma lo es lo ocasionado por el 30%. Con los niveles de 10 y 20% el resultado es inverso, por cuanto son las hembras con fetos reabsorbidos y -- anormales las que forman la mayoría de los accidentes.

TABLA 49. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN HAMSTERS INGERIDA DEL
7° AL 9° DIA DE LA GESTACION.

"MADRES"

Dieta	Control	Control	% Spirulina		
	ordinario	soya	10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	20	19	19	18	21
2.- Fecundadas, con:	18	17	17	17	19
2.1 Camada normal.	14	14	13	13	15
2.2 Camada afectada por:	4	3	4	4	4
2.2.1 Fetos reabsor- hidos o muer- tos.	1	1	2	2	2
2.2.2 Fetos anormales.	1	0	0	1	0
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	2	2	2	1	2
3.- Gestantes al sacrificio.	18	16	17	16	18

TABLA 50. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL
7° AL 11° DIA DE LA GESTACION.

"MADRES"

Dieta	Control	Control	% Spirulina		
	ordinario	soya	10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	20	19	22	20	18
2.- Fecundadas, con:	18	18	19	17	17
2.1 Camada normal.	14	12	14	11	14
2.2 Camada afectada por:	4	6	5	6	3
2.2.1 Fetos reabsor- hidos o muer- tos.	1	3	2	4	1
2.2.2 Fetos anormales.	1	1	1	0	1
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	2	2	2	2	1
3.- Gestantes al sacrificio.	18	17	17	16	16

TABLA 51. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL
1° AL 11° DIA DE LA GESTACION.

"MADRES"

Dieta	Control	Control	% Spirulina		
	ordinario	soya	10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	20	19	21	18	17
2.- Fecundadas, con:	18	18	20	18	17
2.1 Camada normal.	14	13	16	14	12
2.2 Camada afectada por:	4	5	4	4	5
2.2.1 Fetos reabsor- bidos o muer- tos.	1	2	1	2	4
2.2.2 Fetos anormales.	1	1	0	0	0
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	2	2	3	2	1
3.- Gestantes al sacrificio.	18	17	19	17	16

TABLA 52. EFECTO DE LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL
1° AL 14° DIA DE LA GESTACION.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de hembras:					
1.- Acopladas.	20	22	18	20	21
2.- Fecundadas, con:	18	21	16	19	9
2.1 Camada normal.	14	16	13	15	14
2.2 Camada afectada por:	4	5	3	4	5
2.2.1 Fetos reabsor- bidos o muer- tos.	1	4	1	1	3
2.2.2 Fetos anormales.	1	1	0	1	0
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y anormales.	2	0	2	2	2
3.- Gestantes al sacrificio.	18	19	15	18	19

TABLA 53. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL
7° AL 9° DIA DE LA GESTACION.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	207	189	204	201	217
2. Fctos.	197	173	182	178	198
2.1 Normales.	191	170	178	173	196
2.2 Afectados por:	16	19	26	28	21
2.2.1 Anormalidades.	6	3	4	5	2
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	10	16	22	23	19

TABLA 54. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 7° AL 11° DIA DE LA GESTACION.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	207	202	204	198	189
2. Fetos.	197	181	177	173	170
2.1 Normales.	191	176	173	169	167
2.2 Afectados por:	16	26	31	29	22
2.2.1 Anormalidades.	6	5	4	4	3
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	10	21	27	25	19

TABLA 55. EFFECTO DE LA SPIRULINA EN HAMSTER, INGERIDA -
DEL 1° AL 11° DIA DE LA GESTACION.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	207	204	242	197	187
2. Fetos.	197	137	227	176	168
2.1 Normales.	191	182	220	172	166
2.2 Afectados por:	16	22	22	25	21
2.2.1 Anormalidades.	6	5	7	4	2
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	10	17	15	21	19

TABLA 56. EFEECTO DE LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 1° AL 14° DIA DE LA GESTACION.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
Número de:					
1. Implantaciones.	207	227	178	221	215
2. Fetos.	197	198	159	193	200
2.1 Normales.	191	194	156	190	195
2.2 Afectados por:	16	33	22	31	20
2.2.1 Anormalidades.	6	4	3	3	5
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	10	29	19	28	15

TABLA 57. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 7° AL 9° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	90.0	89.5	89.5	94.4	90.5
2.1 Camada normal.	77.8	82.3	76.5	76.5	78.9
2.2 Camada afectada por:	22.2	17.6	23.5	23.5	21.0
2.2.1 Fetos reabsorbidos o muertos.	5.5	5.9	11.7	11.8	10.5
2.2.2 Fetos anormales.	5.5	0.0	0.0	5.8	0.0
2.2.3 Fetos reabsorbidos o muertos y anormales.	11.1	11.7	11.7	5.8	10.5
3. Gestantes al sacrificio.	100.0	94.1	100.0	94.1	94.7

TABLA 58. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 7° -
AL 11° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	90.0	94.7	86.4	85.0	94.0
2.1 Camada normal.	77.8	66.7	73.7	64.7	82.3
2.2 Camada afectada por:	22.2	33.3	26.3	35.3	17.7
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	5.5	16.7	10.5	23.5	5.9
2.2.2 Fetos anormales.	5.5	5.5	5.3	0.0	5.9
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	11.1	11.1	10.5	11.8	5.9
3. Gestantes al sacrificio.	100.0	94.4	89.5	94.1	94.1

TABLA 59. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 1°-
AL 11° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	90.0	94.7	95.2	100.0	100.0
2.1 Camada normal.	77.8	72.2	80.0	77.8	70.6
2.2 Camada afectada por:	22.2	27.8	20.0	22.2	29.4
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	5.5	11.1	5.0	11.1	23.5
2.2.2 Fetos anormales.	5.5	5.5	0.0	0.0	0.0
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	11.1	11.1	15.0	11.1	5.9
3. Gestantes al sacrificio.	100.0	94.4	95.0	94.4	94.1

TABLA 60. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 1° -
AL 14° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"MADRES"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de hembras:					
2. Fecundadas con:	90.0	95.4	88.9	95.0	90.5
2.1 Camada normal.	77.8	76.2	81.2	78.9	73.7
2.2 Camada afectada por:	22.2	23.8	18.8	21.0	26.3
2.2.1 Fetos reabsorbi- dos o muertos.	5.5	19.0	6.2	5.2	15.8
2.2.2 Fetos anormales.	5.5	4.8	0.0	5.2	0.0
2.2.3 Fetos reabsorbi- dos o muertos y- anormales.	11.1	0.0	12.5	10.5	10.5
3. Gestantes al sacrificio.	100.0	90.5	93.7	94.7	100.0

Los resultados de los fetos que se presentan en la tabla 61 --
indican que no hay diferencia aparente en la incidencia de --
afectados en relación al control.

Como en casos anteriores, son las reabsorciones embrionarias --
las principales causas de los accidentes.

Este también es el caso de los fetos provenientes de madres --
tratadas durante la organogénesis como se muestra en las ta --
blas 62 y en el caso de otros períodos de tratamiento como se --
nota en las tablas subsiguientes (63 y 64).

En lo que respecta al promedio de peso fetal y al número de fe --
tos por hembra gestante se acusan diferencias significativas --
con el 20 y 10% de Spirulina respectivamente.

TABLA 61. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 7° AL 9° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	92.3	89.9	87.2	86.1	90.3
2.2. Afectados por:	7.7	10.0	12.7	13.9	9.7
2.2.1 Anormalidades.	2.9	1.6	1.9	2.5	0.9
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	4.8	8.4	10.8	11.4	8.7
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	1.57	1.62	1.64	1.56	1.60
- implantaciones/hembra fecun- dada.	11.5	11.1	12.0	11.8	11.4
- fetos/hembra gestante.	10.9	10.8	10.7	11.1	11.0

TABLA 62. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 7° AL
11° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	92.3	87.1	84.8	85.3	88.3
2.2. Afectados por:	7.7	12.9	15.2	14.6	11.6
2.2.1 Anormalidades.	2.9	2.5	2.0	2.0	1.6
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	4.8	10.4	13.2	12.6	10.0
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	1.57	1.60	1.53	1.64	1.55
- implantaciones/hembra fecun- dada.	11.5	11.2	10.7	11.6	11.1
- fetos/hembra gestante.	10.9	10.6	10.4	10.8	10.6

TABLA 63. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 1° AL
11° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	92.3	89.2	90.9	87.3	88.8
2.2. Afectados por:	7.7	10.8	9.1	12.7	11.2
2.2.1 Anormalidades.	2.9	2.4	2.9	2.0	1.0
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	4.8	8.3	6.2	10.6	10.2
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	1.57	1.59	1.53	1.51*	1.60
- implantaciones/hembra fecun- dada.	11.5	11.3	12.1	10.9	11.0
- fetos/hembra gestante.	10.9	11.0	11.9*	10.3	10.5

TABLA 64. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 1° AL
14° DIA DE LA GESTACION. PORCENTAJES.

"FETOS"

Dieta	Control ordinario	Control soya	% Spirulina		
			10	20	30
% de fetos:					
2.1. Normales.	92.3	85.5	87.6	86.0	90.7
2.2. Afectados por:	7.7	14.5	12.3	14.0	9.3
2.2.1 Anormalidades.	2.9	1.7	1.7	1.3	2.3
2.2.2 Reabsorciones o muertes.	4.8	12.8	10.6	12.7	7.0
Promedio de:					
- peso fetal (g.)	1.57	1.52	1.49	1.56	1.58
- implantaciones/hembra fecun dada.	11.5	10.8	11.1	11.6	11.3
- fetos/hembra gestante.	10.9	10.4	10.6	10.7	10.5

Los índices calculados en las tablas 65 a 68 muestran una vez - más que la Spirulina no provoca efectos teratógenos ya sea considerando las madres que dieron lugar a fetos afectados o a los fetos afectados en sí.

TABLA 65. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 7°
AL 9° DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATO-
GENO.

% Spirulina	En las madres	En los fetos
10	7.1	3.0
20	7.1	4.3
30	4.1	0.3
Control soya	- 5.9	2.5

TABLA 66. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 7°
AL 11° DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATO
GENO.

<u>% Spirulina</u>	<u>En las madres</u>	<u>En los fetos</u>
10	- 10.5	2.6
20	- 0.3	1.9
30	- 23.4	- 1.5
Control soya	14.3	5.6

TABLA 67. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 1°-
AL 11° DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATO-
GENO.

‡ Spirulina	En las madres	En los fetos
10	- 10.8	- 1.9
20	- 7.7	2.1
30	2.2	0.4
Control soya	7.2	3.3

TABLA 68. LA SPIRULINA EN HAMSTERS, INGERIDA DEL 1°-
AL 14° DIA DE LA GESTACION. INDICE TERATO-
GENO.

<u>% Spirulina</u>	<u>En las madres</u>	<u>En los fetos</u>
10	- 6.6	- 2.6
20	- 3.7	- 0.6
30	3.3	- 6.1
Control soya	2.0	7.4

Las malformaciones y anomalías encontradas en los hamsters del lote control se repiten en muchas ocasiones en los lotes tratados.

Este es el caso de las hemorragias observadas en el examen exterior y en el de cortes seriados de Wilson en la tabla 69. En el esqueleto las anomalías interesan la esternebra, en el caso de los controles y las costillas en los experimentales, principalmente.

En la tabla 70 se notan anomalías similares. Como malformación particular no encontrada en el control se tiene un caso de celosomía y 2 hidrocefalias bilaterales, casos que también se -- han reportado para la rata y ratón en los grupos controles y - tratados.

Según se observa en la tabla 71 hay ausencia de anomalías ex-- ternas con el nivel del 20 y 30% en el tratamiento del 1° al - 11° día. Las anomalías esqueiéticas son en cambio comunes a todos los lotes, tratándose de cráneo, esternebra, pubis y costillas.

Finalmente en la tabla 72 vuelven a notarse casos esporádicos de malformaciones y anomalías, que al encontrarse en escaso número y repartidas en todos los lotes, excluyen a la Spirulina como eventual causa.

TABLA 69. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE -
HAMSTERS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 7° AL 9° DIA
DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	1f. hematomas.	1f. hemorragia	1f. hematoma	1f. exencefalia	* 1f. hemorragia
+	197	173	182	178	198
ALIZARINA	1f. pobreosificación craneal	1f. esternebra incompleta.	1f. pobreosificación craneal	2f. costillas malformadas	1f. extra costillas
	1f. esternebra bipartita	1f. fusión costillas		1f. extra costillas	
+	131	118	119	122	134
WILSON	1f. alargamiento pelvis renal	1f. hemorragia interna	1f. hidrocefalia	1f. hemorragia interna	
+	66	55	63	56	64

+ Número de fetos examinados.

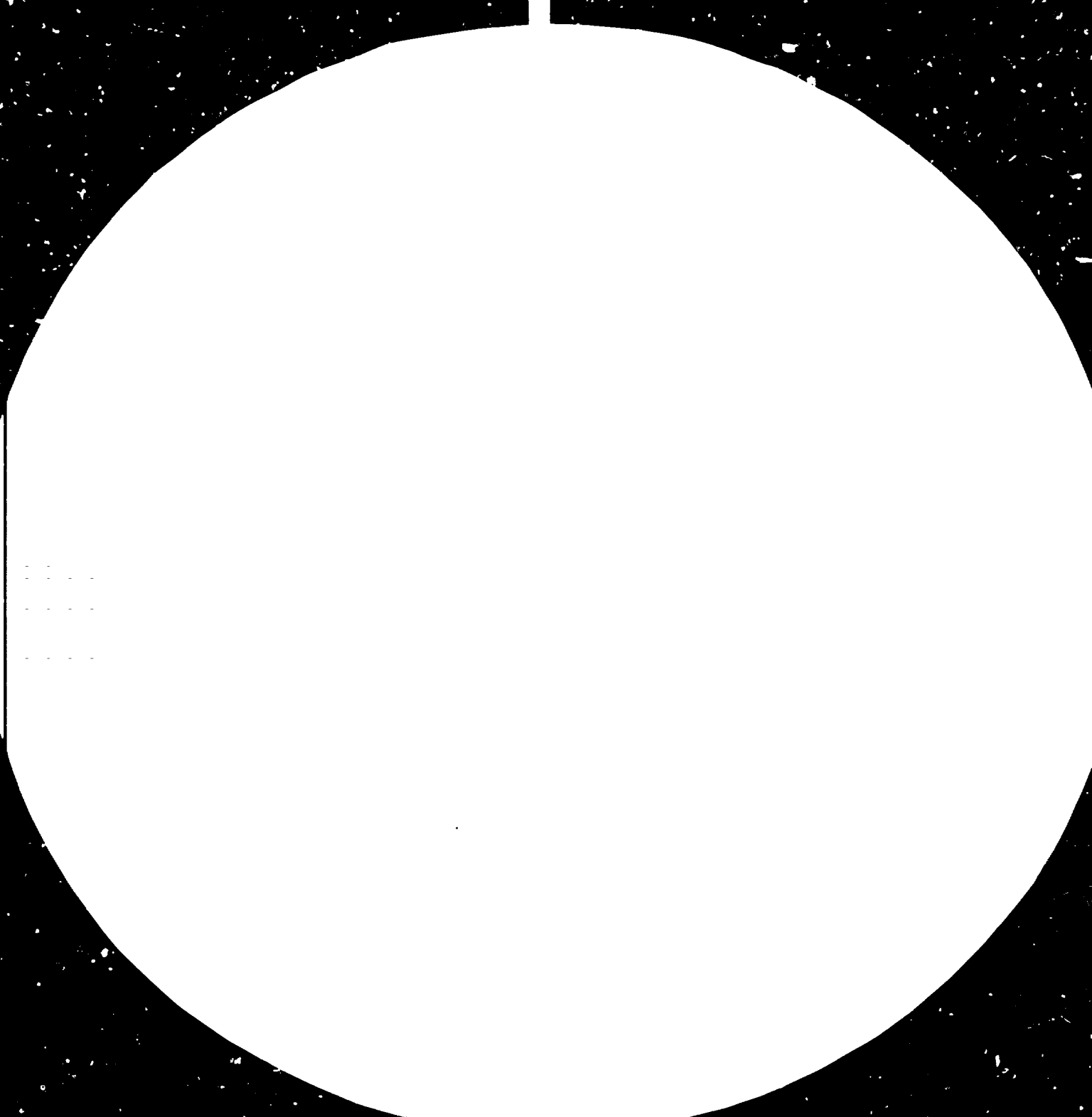
* Mismo feto.

TABLA 70. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE -
HAMSTERS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 7° AL 11° --
DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	1f. hemato <u>ma</u>	* 1f. edema ge <u>neralizado</u>		1f. celosom <u>fa</u>	* 1f. hema <u>toma</u>
+	197	181	177	173	170
ALIZARINA	3f. pobre- <u>osificación</u> <u>cráneas</u>	2f. osifica- <u>ción</u> general <u>retardada</u>	2f. osifi- <u>cación</u> ge- <u>neral</u> re- <u>tardada</u>	1f. fusión -- <u>costillas</u>	2f. costi- <u>llas</u> mal- <u>formes</u>
	1f. esterne- <u>bra</u> incom- <u>pleta</u>	1f. extra -- <u>costillas</u>	2f. pobre- <u>osificación</u> <u>cráneas</u>	1f. costi- <u>llas</u> mal- <u>formes</u>	
		1f. costillas <u>malformes</u>			
+	131	119	122	113	114
WILSON	1f. alarga- <u>miento</u> pel- <u>vis</u> renal	* 1f. ectopía- <u>renal</u>		1f. hidrocefa- <u>lia</u> <u>bilateral</u>	1f. hidro- <u>cefalia</u> <u>bi</u> <u>lateral</u>
+	66	62	55	60	56

+ Número de fetos examinados.

* Mismo feto.





2.8



3.2



MIKROGRAFIJEN (Mikrofilm) Nr. 11.13 (1986)

1. Aufl. 1986, 100 Exemplare, 100000 Mikrogramme

TABLA 71. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE -
HAMSTERS TRATADAS CON SPIRULINA DEL 1° AL 11° --
DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	1f. hematomas	1f. edema generalizado	2f. hematomas		
+	197	187	227	176	168
ALIZARINA	3f. pobre osificación craneal	1f. fusión - costillas	2f. fusión costillas	1f. 13° costilla sin desarrollo	1f. incompleta osificación esternal.
	1f. esternabra incompleta	2f. pobre osificación pubis	2f. extra-costillas	2f. pobre osificación craneal	1f. pobre osificación pubis.
+	129	128	156	112	112
WILSON	1f. alargamiento pelvis renal	1f. hidrocefalia	1f. ectopía renal	1f. hidrocefalia unilateral	
+	68	59	71	64	56

+ Número de fetos examinados.

TABLA 72. DESCRIPCION DE FETOS ANORMALES PROVENIENTES DE-
HAMSTERS, TRATADAS CON SPIRULINA DEL 1° AL 14°--
DIA DE LA GESTACION.

Tipo de examen	Control ordinario	Control soya	10	% Spirulina 20	30
EXTERIOR	1f. hematomas	* 1f. hematoma			1f. edema -- generalizado
+	197	198	159	193	200
ALIZARINA	1f. pobre osificación craneal	2f. esternobra bipartita	2f. extra -- costillas	1f. esternobra bipartita	2f. fusión -- costillas
	1f. esternobra incompleta	* 1f. pobre osificación centro vertebral		1f. pobre osificación craneal	2f. pobre -- osificación -- centrovertebral
+	129	131	109	131	130
WILSON	1f. alargamiento pelvis renal	1f. edema interno	1f. hidrocefalia unilateral	1f. edema interno	
+	68	67	50	62	70

+ Número de fetos examinados.

* Mismo feto.

DISCUSION

Aunque los estudios teratogénicos han sido recomendados para las proteínas unicelulares por algunos organismos internacionales en materia de alimentos, unicamente se han encontrado reportados en la literatura estudios referentes a proteínas de origen diferente a) de las algas.

Sin embargo las mismas razones de seguridad existentes para efectuar los ensayos de toxicidad subaguda, crónica, pruebas funcionales etc., las hay para efectuar ensayos de teratogenicidad -- sin exagerar los ensayos de cernimiento toxicológico y teniendo en cuenta que se cuenta con dos elementos completamente diferentes en sensibilidad, la madre y el feto. Así, una substancia -- que no es tóxica para la madre puede provocar malformaciones o la muerte en el embrión.

La comparación estadística entre animales controles y tratados, base de los estudios teratogénicos no resuelve todos los problemas y su aplicación es a veces complicada.

En la presente investigación se ha considerado parámetros como el aumento ponderal, las madres que dieron lugar a fetos afectados y el número o porcentaje de estos en relación a las implantaciones, que condujeron finalmente al cálculo del índice teratogénico.

Con estos criterios de control se observa que la Spirulina pro-

porcionada a tres especies animales, en tres diferentes períodos de la gestación y a niveles de 10, 20 y 30% en la dieta, no provoca efecto teratógeno.

El control del aumento ponderal, sin ninguna otra manipulación especial, informa que el estado general de las madres alimentadas con el alga, no fue modificado y que hubo ausencia de abortos importantes que podrían haberse suscitado eventualmente en el curso de la gestación.

Además al estimar los resultados por un lado sobre las madres y por otro sobre el riesgo de los fetos de cada camada, se observa que la Spirulina no provoca alteraciones en la gestación de los animales indicado por las malformaciones, anomalías o reabsorciones embrionarias.

Algunas diferencias estadísticas en el peso promedio de los fetos, número de implantaciones por hembra fecundada o de fetos por hembra gestante no sugieren relación con el alga, en virtud de constituir casos aislados y sin relación con los niveles de alimentación.

La ausencia de efectos nocivos para la Spirulina en este estudio concuerda con otros resultados obtenidos en el estudio de reproducción y lactancia, llevado a cabo también en rata.

DISCUSION GENERAL Y COMENTARIOS

Al final de cada trabajo se ha realizado la correspondiente discusión de los resultados.

En forma global se puede concluir que la *Spirulina* incorporada a la dieta a concentraciones de 10, 20 y 30% no produce alteraciones en los parámetros comúnmente considerados en los estudios de toxicidad subaguda, toxicidad a largo plazo, reproducción y lactancia, mutagénesis y teratogénesis.

Las diferencias significativas observadas en algunas ocasiones no sigue la relación dosis efecto y se tratan de casos aislados que, al no repetirse en la parte final del experimento no pueden atribuirse a efecto de la *Spirulina*. Tal es lo que sucede con algunos valores hematológicos y bioquímicos del suero en los ensayos de toxicidad subaguda, crónica y en el estudio multigeneracional de reproducción y lactancia.

Los datos arrojados en los estudios de toxicidad subcrónica y crónica concuerdan respectivamente con los reportados por otros autores que emplearon concentraciones diferentes del alga (Till y Willems, 1971) y cuyos propósitos fueron diferentes (Boudene y col. 1976). Otras algas como *Scenedesmus* y *Chlorella*, también han sido objeto de estudios a corto plazo (Venkartaram y col., 1977; Yannai y col., 1979; Becker, 1978_a).

El estudio multigeneracional de reproducción y lactancia no re-

gistró alteraciones en los índices de fertilidad, gestación, --
viabilidad y lactancia a lo largo de las 3 generaciones obteni-
das en el transcurso de dos años. En un estudio llevado a cabo
en cerdos por Février y Séve (1976), utilizando la Spirulina co-
mo complemento proteínico a dosis bajas, no se afectó tampoco -
la reproducción tanto desde el punto de vista de la prolifera--
ción como del crecimiento subsiguiente de los animales. Según -
conocimiento del autor, como excepción del trabajo de Pabst - -
(1978) no se habían llevado a cabo estudios multigeneracionales
con algas aunque se lo considera importante en virtud de que in
forma de los posibles efectos sobre la fertilidad en el macho -
y la hembra, los efectos durante la gestación parto y mutageni-
cidad (FDA, 1970).

Las pruebas de dominantes letales en rata y ratón efectuadas --
con el fin de conocer la existencia de propiedades mutagénicas,
tampoco demuestra actividad de la Spirulina, juzgada por el nú-
mero de implantaciones muertas y vivas.

Las pruebas sobre teratogenicidad que se realizaron sobre 3 es-
pecies animales demuestran que la Spirulina proporcionada a di-
ferentes concentraciones y durante 4 períodos diversos de la --
gestación no ocasiona malformaciones congénitas o reabsorciones
embrionarias.

La forma de interpretar los datos por separado en la madre y en
los fetos permitió considerar por una parte el riesgo que tiene
la madre de desarrollar o no una gestación normal y por otra --

parte el riesgo de cada feto de la camada. Esta manera de interpretación es posible en las especies plurigestas y no en las monogestas, en donde el riesgo para la madre y el feto se confunden.

- Los resultados de los análisis de ácidos nucleicos, metales, no metales, pesticidas y microbiológicos han indicado que la Spirulina llena con los requisitos establecidos al respecto por las agencias internacionales.

En relación a los ácidos nucleicos se conoce que un nivel alto de los mismos ocasiona hiperuricemia y consiguientemente gota, nefropatía uricémica y cálculos renales. Además de las causas nutricionales, la ingestión de alcohol, fármacos, sexo y obesidad, son factores que influyen en su nivel (PAG, 1975).

La ingestión de 46 gramos diarios de Spirulina conduce a un consumo de 2 de ácidos nucleicos (Bourges y col., 1971), que según el PAG (1975) sería el límite para que con otros 2 provenientes de todas las fuentes no sobrepase de 4 el total ingerido diariamente por el adulto. Se entiende sin embargo que las proteínas unicelulares de algas no se ingerirán como únicas fuentes de proteínas sino suplementando y enriqueciendo dietas básicas (Becker, 1978_b). Esta reflexión disminuye las posibilidades de que el consumo de Spirulina podría representar un riesgo en lo que respecta a ácidos nucleicos.

En lo que se refiere a metales pesados o no metales la Spiruli-

na contiene según las últimas determinaciones concentraciones de plomo y arsénico inferiores a las recomendadas de 5 y 2 ppm respectivamente por el IUPAC (1974). Las concentraciones de mercurio han variado entre 0.01 y 0.2 ppm contra 0.1 de lo sugerido.

Los niveles de cadmio por otra parte oscilan entre 0.01 y 0.1. Con una ingestión de 5000 g de Spirulina a la semana se llegaría a consumir el límite semanal de 0.5 mg, recomendado por la OMS/FAO (1972), para un adulto de 60 kg.

La razón para la diferencia entre las determinaciones efectuadas por Boudene y col. (1976) y otras que se han realizado posteriormente puede deberse en parte a que se han mejorado las condiciones técnicas del cultivo del alga y a que ha aumentado la fluidez de las aguas a través de los canales del caracol como resultado de la mayor producción. (En la actualidad se efectúan determinaciones periódicas de algunos metales y no se han registrado incrementos).

La presencia en Spirulina de 3,4 benzopireno, un indicador general para la presencia de otros carcinógenos en el grupo de hidrocarburos policíclicos aromáticos, es muy inferior a la de alimentos como espinacas, legumbres, achicoria, ajo etc. (Truahut y Ferrando, 1976). La norma No. 15 del PAG propone los siguientes márgenes para los residuos de hidrocarburos: total de hidrocarburos residuales, 0.5%; total de hidrocarburos aromáticos residuales 0.05%; benzopireno, Sug/kg^2 (PAG, 1974_b). El heptadecano por su parte representa el 65% del total de hidrocarburos encontra-

dos. Teniendo en cuenta lo que se conoce de la toxicidad de estos compuestos y considerando los datos que se han obtenido en experimentos prolongados, no parece producirse ningún fenómeno de toxicidad crónica (Tulliez y col., 1975).

En lo referente a otros tóxicos tales como pesticidas, los análisis efectuados revelan únicamente trazas, lo que no significa riesgo para la salud de acuerdo a los conocimientos que se tienen actualmente. La Organización Mundial de la Salud (OMS, 1970) ha fijado el consumo diario aceptable para algunos de ellos y la Spirulina llena esos requerimientos.

El aspecto microbiológico del cultivo y del producto terminado no ha revelado sino contaminación banal. La posible presencia de sustancias antibacterianas en la Spirulina (Jacquet, 1976) puede constituir una buena garantía para su inocuidad y para su almacenamiento por períodos relativamente prolongados. El proceso general utilizado en la obtención del alga es higiénicamente aceptable y la instalación de un equipo de pasteurización mejora aún más las condiciones sanitarias.

El conjunto de los resultados obtenidos a lo largo de estos estudios permite concluir que la Spirulina no produce efectos tóxicos o peligrosos en animales de laboratorio, en los parámetros estudiados con los niveles indicados.

De acuerdo a estos resultados y a los antecedentes de consumo de Spirulina por humanos desde tiempos remotos hasta la actuali

dad, es de esperarse que otros estudios clínicos tendientes a -
demostrar su inocuidad, probablemente arrojen datos similares.

BIBLIOGRAFIA

Becker, E.W. (1978_a): Major results of the Indo-German Algal Project. Arch. Hydrobiol, Beih., 11, 23.

Becker, E.W. (1978_b): The legislative background for utilization of microalgae and other types of single cell protein. Arch. Hydrobiol. Beih., 11, 56.

Becker, W.E., Venkataram, L.V. and Khanum, P.M. (1976): Digestibility coefficient and biological value of the proteins of the alga *Scenedesmus Acutus* processed by different methods. Nutr. Rep. - - Inter., 14, 4, 457.

Bezares, A., Arteaga, C. y Avila, E. (1976): Valor pigmentante y nutritivo de alga *Spirulina* en dietas para gallinas en postura. - Téc. Pec. Méx., 30, 30.

Blum, J.C., Guillaumin, S. et Calet, C. (1976): Valeur alimentaire des algues *Spirulines* pour la poule pondeuse. Ann. Nutr. Alim., 30, 675.

Blum, J.C., et Calet, C. (1975): Valeur alimentaire des algues - - *Spirulines* pour la croissance du poulet de chair. Ann. Nutr. Alim., 29, 651.

Boudène, Cl., Collas, E. et Jenkins, C. (1976): Recherche et dosage de divers toxiques minéraux dans les algues *Spirulines* de différentes origines, et évaluation de la toxicité a long terme chez le rat d'un lot d'algues *Spirulines* de provenance mexicaine. Ann. Nutr. - Alim., 30, 577.

- Bories, G. et Tulliez, T. (1975): Détermination du 3,4 benzopyrene dans les algues Spirulines produites et traitées suivant différents procédés. Ann. Nutr. Alim., 29, 573.
- Bourges, H., Sotomayor, A., Mendoza, E. y Chávez, A. (1971): Utilization of the alga Spirulina as a Protein Source. Nutr. Rep., 41.1.
- Burlew, J.S. (1953): Algae Culture from laboratory to pilot plant. Carnegie Inst. of Washington, Publ. No. 600.
- Chamorro, C. (1972): Tératogenese Expérimentale. These. Université de Montpellier, Francia.
- Clément, G. y Durand-Chastell, H. (1970): Food for tomorrow. First World Symposium of Arid Zones, México.
- Contreras, A., Herbert, D.C., Grubbs, B.G. and Cameron, I.L. (1979): Blue-green alga, Spirulina, as the sole dietary source of protein in sexually maturing rats. Nutr. Rep. Inter., 19, 6, 749.
- Cronshaw, J., Myers, A., and Preston, R.O. (1958): A chemical and physical investigation of the cell walls of some marine algae. Biochim. Biophys. Acta., 27, 89.
- Dabbah, R. (1970): Protein from Microorganisms. Food Tech., 24, 659.
- Dainipponik and Chemicals (1977): Private Report, Japan.

David, M.C., Santillán, S. and Clément, G. (1970): Contamination. Problems in the Open-Air Culture of Spirulina (Arthrospira), 10th International Microbiology Congress, México, D.F.

Dawson, A.B. (1966): A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red. S. Stain Technol, 1, 223.

Dirección General de Sanidad Vegetal. (Depto. de Plaguicidas) -- S.A.R.H. (1978): Análisis de Pesticidas en Spirulina. México.

Durand-Chastel, H. y Santillán, C. (1975): Progresos en la Industrialización del Alga Spirulina por medio de la Fotosíntesis. -- I Congreso Quím. del Continente de América del Norte. México, -- D.F.

Durand-Chastel, H. y David, M., (1977): The Spiruline Algae, -- European Seminar on Biological Solar Energy Conversion Systems. Grenoble-Autrans, France.

Farrar, W.V. (1966): "Tecuítatl", A Glimpse of Aztec Food Technology, Nature, 211, 341.

Février, C. (1973): Recent developments in Spirulina, Report of the Third meeting of the PAG AD HOC working group on single cell protein, U.S.A.; p. 14.

Février, C. et Seve, B. (1976): Essais d'incorporation de Spiruline (Spirulina Máxima) dans les aliments de porcins. Ann. Nutr. Alim., 29, 625.

Food and Drug Administration Advisory Committee on Protocols for Safety Evaluations (1970): Panel on Reproduction Report on Reproduction Studies in the Safety Evaluation of Food Additives and Pesticide Residues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*; 16, 264.

González, S., Luna, R.M., Hernández, R., Soriano, P. y Torres, J. (1976): Estudio preliminar de la contaminación por bacterias en un cultivo seminatural de Spirulina. *Salud Pública de México*, XVIII, 4, 705.

Hudson, B. J.F. and Karis, I.G. (1974): The lipids of the Alga Spirulina, *J. Sc. Food Agric.*, 23, 759.

IUPAC (1974): International Union of Pure and Applied Chemistry, Information Bull., Techn. Rep., 12.

Jacquet, J. (1976): Microflore des préparations de Spirulines. *Ann. Nutr. Alim.*, 29, 589.

Japan Food Research Laboratories (1975): Analysis Report.

Japan Food Research Laboratories (1977): Analysis Report.

LANFI. (1976): Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial, México.

Lipinsky, E.S. and Litchfield, J.H. (1970): Algae, Bacteria and Yeasts as Food or Feed, *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 1, 581.

- Mendoza, M.E., Sotomayor, G.A., Bourges, R.H. y Chávez, V.A. - -
 (1971): Aspectos nutricionales de una proteína unicelular. Tecno
logía de Alimentos, 6. 22.
- Nicolaid, N.J. (1977): Spirurida physalopteridae causing acute -
 abdominal syndrome, requiring surgical intervention in an infant.
Pathology, 9, 72.
- Northcote, D.H., Goulding, K.J. and Horne, R.W. (1958): The - - -
 chemical composition and structure of the cell wall of Chlorella
pyrenoidosa. Biochem. J., 70, 391.
- CMS/FAO (1972). Evaluación de diversos aditivos alimentarios y - -
 de los contaminantes mercurio, plomo y cadmio. Décimo sexto in- -
 forme del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en aditivos de alimen-
 tos, Ginebra.
- OMS (1973, 1973, 1974): Residuos de plaguicidas en los alimentos.
 Serie de Informes Técnicos Nos. 525, 545 y 574. Ginebra.
- Pabst, W. (1975): Ernährungsversuche zur Bestimmung der Protein-
 qualitat von Mikroalgen, 1 Symp. Mikrobielle Proteingewinnung - -
 Verlag Chemie (Weinheim), 173.
- PAG (1974_a): Norma No. 6 del GAP para ensayos preclínicos de nue-
 vas fuentes de proteínas. Boletín del GAP, Vol. IV, No. 3, 20.
- PAG (1974_b); Norma No. 15 del GAP. Aspectos de nutrición y seguri-
 dad de las nuevas fuentes de proteínas para alimentación de anima-
 les. Boletín del GAP, Vol. IV, No. 3, 12.

PAG (1975): Reunión del grupo especial de trabajo del GAP Sobre-
evaluación clínica y concentraciones aceptables del ácido nucleí-
co en las PUC destinadas al consumo de los seres humanos. Bole-
tín del CAP, Vol. V, No. 3, 20.

Peto, R. (1974): Guidelines on the analysis of tumor rates and -
death rates in experimental animals. Br. J. Cancer, 29, 201.

Powell, R.C., Nevels, E.M. and McDouell, M.E. (1961): Algae - --
feeding in humans. J. Nutr., 75, 7.

Richard, D., Sunghee, L., Peggy, C.F. y Hazel, F. (1965): Utili-
zation of algae as a protein source for humans. J. Nutr., 86, --
376.

Robles, C.A., Soriano, T., y Shimada, A. (1975): El valor nutri-
tivo del alga Spirulina para el cerdo de abasto, Téc. Pec. Méx.,
28, 13.

Salewski, E. (1964): Färbe methode zum makroskopischen Nachweis
von implantationstellen an auterus der Ratte. Naunyn. Schmiede-
bergs. Arch. exp. Pharmak, 247, 367.

Santillán, C. (1979): Progresos con el alga Spirulina en la ali-
mentación de animales y humanos. VIII Congreso Internamericano-
de Ingeniería Química, Bogotá, Colombia.

Santillán, S. (1974). The Developement of, and Outlook for Spi-
rulina, A Food for Tomorrow, Intern. Congr. of Food Science and
Tecnol., Madrid, España.

Sautier, C. et Trémolieres, J. (1976): Valeur Alimentaire des --
Algues Spirulines Chez l'Homme. Ann. Nutr. Alim., 30, 517.

Staples, R.E. and Schnell, V.L. (1964): Retirements in rapid --
clearing technic in the KOH-Alizarin red 5 method for fetal - --
bone. Stain Technol., 39, 61.

Til, H.P. and Williems, M. (1971): Sub-chronic (90-day) toxicity
study with dried algae (M_2) in albino rats. Rapport Nr. R 3352,-
TNO, Zeist, Holland.

TNO (1970): Central Instituut Voor Voedingsonderzock Zeist, - --
Holland.

TNO (1976): Central Instituut Voor Voedingsonderzock, Zeist, - -
Holland.

Truhaut, R. y Ferrando, R. (1976): Aspectos toxicológicos de las
proteínas unicelulares. Boletín del GAP, Vol. VI, No. 4.

Tulliez, J., Bories, G., Boudène, C. y Fevrier, C. (1975): Les -
hydrocarbures des algues Spirulines: nature, étude du devenir de
l'heptadécane chez le rat et le porc. Ann. Nutr. Alim., 29, 563.

Venkartaram, L.V., Becker, W.E. y Shamala, T.R. (1977): Studies
on the cultivation and utilization of the alga Scenedesmus Acutus
as a single cell protein. Life Sciences, 20, 223.

Venkataram, L.V., Becker, W.E., Khanum, P.M. y Rani, K. (1977): Short term feeding of alga *Scenedesmus Acutus* processed by different methods: growth pattern and histopathological studies. - *Nutr. Rep. Inter.*, 16, 3, 231.

Vermorel, M., Dumond, D., Le Guyader, G. et Pion, R. (1973): -- Utilization digestive et métabolique des spirulines par le rat en croissance. Colloque sur la valeur nutritionnelle des algues spirulines. Rueil.

Vermorel, M., Toullec, G., Dumond, G. et Pion, R. (1975): Valeur protéique et énergétique des algues bleues spirulines supplémentées. *Ann. Nutr. Alim.*, 29, 535.

Wilson, J.G. y Warkany, J. (1964). Methods for administering - - agents and detecting malformations in Experimental animals. *Enteratology, Principles and Techniques*. Ed. by J.G. Wilson et J.-Warkany. University of Chicago Press, Chicago.

Yamaguchi, M., Matsuno, N. and M. Miyazaki (1978): Nutritive - - Value of Spirulina Protein for Growing Rats, XI Intern. Congr. Nutr., Rio de Janeiro, Brasil.

Yannai, S., Mokady, S., Sachs, K., Kantorowitz, B. and Berk, Z.- (1979): Secondary toxicology and contaminants of algae grown on wastewater. *Nutr. Rep. Inter.*, 19, 3, 391.

...the first of these is the fact that the ...

...the second of these is the fact that the ...

...the third of these is the fact that the ...

...the fourth of these is the fact that the ...

...the fifth of these is the fact that the ...

...the sixth of these is the fact that the ...

...the seventh of these is the fact that the ...

...the eighth of these is the fact that the ...

