

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

**DESEMPENHO, QUALIDADE DE OVOS E CARACTERÍSTICAS  
HISTOPATOLÓGICAS DE CODORNAS JAPONESAS EM POSTURA  
ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO MICOTOXINAS E  
ADSORVENTE**

**ANTONIO PAULO NUNES DE ABREU**

Tese apresentada ao Programa de Pós - Graduação em Zootecnia – Área de Concentração: Nutrição e Produção Animal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor.

BOTUCATU – SP  
Fevereiro de 2004

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

**DESEMPENHO, QUALIDADE DE OVOS E CARACTERÍSTICAS  
HISTOPATOLÓGICAS DE CODORNAS JAPONESAS EM POSTURA  
ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO MICOTOXINAS E  
ADSORVENTE**

**ANTONIO PAULO NUNES DE ABREU**

Engenheiro Agrônomo

***ORIENTADOR: Prof. Dr. Aleksandrs Spers***

Tese apresentada ao Programa de Pós - Graduação em Zootecnia – Área de Concentração: Nutrição e Produção Animal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor.

BOTUCATU – SP  
Fevereiro de 2004

## DEDICATÓRIA

Dedico esta obra aos meus pais, que me deram a vida e foram meus primeiros professores na escola da vida. O lar é uma escola, os pais os professores, o primeiro dia de vida, é o primeiro dia de aula do filho.

À minha esposa querida, pela paciência e compreensão, companheira dedicada em todos os momentos de minha vida, que tanto me incentivou a fazer pós-graduação e seguir carreira universitária, em busca de um sonho que no passado nem ousávamos sonhar.

Aos meus filhos queridos Rafael e Laís, que são a razão de minha existência e felicidade nesta vida, pelos momentos felizes que sempre me proporcionaram e pelas muitas horas que deixei de lhes dar atenção e necessitei estar ausente para tornar possível o desenvolvimento deste trabalho.

“Se teus projetos são para um ano, semeia o grão.

Se são para dez anos, planta uma árvore.

Se são para cem anos, instrua o povo.

Semeando uma vez o grão, colherás uma vez;

Plantando uma árvore, colherás dez vezes;

Instruindo o povo, colherás cem vezes.

Se deres um peixe a um homem, ele comerá uma vez.

Se, porém, o ensinares a pescar, ele comerá a vida inteira”.

( Kuan-Tzu )

## AGRADECIMENTOS

À Deus, inteligência suprema, causa primária de todas as coisas, criador do Universo, por nos ter dado a capacidade de elaborar um trabalho como este.

Ao meu orientador Prof. Dr. Aleksandrs Spers pela paciência, amizade e convívio que tivemos ao longo desta jornada, tornando possível o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga, por ter cedido o barracão para a pesquisa, nos auxiliado incondicionalmente em tudo que precisamos para o desenvolvimento do experimento e pela amizade que se formou.

Aos Profs. Drs. Edivaldo Antonio Garcia e José Roberto Sartori, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Botucatu, pela colaboração decisiva na elaboração do projeto e orientações sobre o comportamento das codornas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos oferecida, através de seu programa de demanda social, sem a qual não teria sido possível a realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP) pelo fornecimento da verba para auxílio pesquisa para o projeto, sem a qual não teria sido possível seu desenvolvimento.

Ao colega da pós-graduação de Pirassununga, Alex Buragas, que se revelou um grande amigo, por ter participado ativamente em todas as etapas

deste experimento, dividindo as dificuldades e as tarefas do dia a dia, contribuindo de forma decisiva para que chegássemos ao término do trabalho proposto.

À Maria, minha esposa, e meus filhos, Laís e Rafael, que deixaram muitas vezes seus afazeres para auxiliar nas tarefas mais difíceis da condução do experimento, como na troca semanal da maravalha sob as gaiolas e nos dias de coleta.

Ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga, pela montagem, execução e discussão dos resultados das análises estatísticas

Ao Prof. Dr. Douglas Emygdio de Faria da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), da USP, campus de Pirassununga, pelo empréstimo do aparelho para análises de qualidade de ovos.

Ao amigo Adriano Fontana da Poli-Nutri Alimentos Ltda, pelo fornecimento da soja, do concentrado para codornas em postura e pelas orientações sobre o uso do produto.

Ao amigo Lázaro Benedito Gonçalves pela ajuda para a adaptação do galpão para receber as gaiolas e acessórios a fim de alojar as codornas.

Ao Sr. José Vítor Buragas e à Olívia Kim, que nos auxiliaram nos dias de abate dos animais para coleta de vísceras.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga, pelo empréstimo dos tambores plásticos para o acondicionamento das matérias-primas das rações.

Ao técnico de laboratório Msc Ari Luiz de Castro, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga, pelo empréstimo da balança de precisão para que pudéssemos pesar as vísceras e as cascas dos ovos, nos dias de coleta.

Ao Prof. Dr. Stefano de Andrade, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga, pelo empréstimo dos baldes com tampa para que pudéssemos acondicionar as rações dos diferentes tratamentos.

Ao Sr. Valentim da Casa das Rações em Pirassununga, pela gentileza e presteza em sempre estar disposto a nos ajudar não medindo esforços para conseguir os materiais que necessitávamos.

Ao Dr. Paulo Campos Christo Fernandes, gerente técnico da Alltech do Brasil, por nos ter cedido o adsorvente e o milho naturalmente contaminado e pelas orientações técnicas para o uso dos mesmos.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elizabeth Santin, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), campus de Curitiba – PR, pelas análises histopatológicas feitas com as vísceras das codornas.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eliana Badiali Furlong, da Fundação Universidade do Rio Grande (FURG), campus de Rio Grande – RS, pelas análises feitas nas rações e nos ovos de codornas,

Às secretárias do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus de Botucatu, Carmen Sílvia de Oliveira Polo e Seila Cristina Cassineli Vieira, por serem tão eficientes, gentis e sempre dispostas a colaborar em tudo o que foi necessário.

À Alessandra de Cássia Terassi da Silva, secretária do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) e Cristiane Rosa Bueno Lopes, secretária da Pós Graduação em Nutrição Animal (PPGNA/VNP), da USP, campus de Pirassununga, pela gentileza e por estar sempre disposta a colaborar em sanar todas as dúvidas que tivemos ao longo do desenvolvimento do trabalho.

À Lúcia, do departamento de transportes da USP de Pirassununga, por sempre ter sido prestativa e providenciado os veículos que necessitávamos para transporte.

Ao pessoal da fábrica de ração por sempre nos atender prontamente na fabricação das rações que necessitávamos.

Aos funcionários do aviário experimental, Cláudio, China e Edinho, pela ajuda na condução do experimento e pela companhia nos finais de semana e feriados de fim de ano que forçosamente passamos juntos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho.



## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	1
1.1 Micotoxinas: Danos e Prejuízos .....	2
1.2 Métodos de Análises para Micotoxinas em Alimentos .....	9
1.3 Medidas de controle para Micotoxinas .....	12
1.4 Efeitos Econômicos em Matérias Primas para Alimentação Animal .....	15
1.5 Efeitos em Animais .....	17
1.6 Micotoxicose no Homem .....	24
1.7 Legislação sobre Micotoxinas .....	33
1.8 Considerações Sobre a Produção de Ovos de Codornas no Brasil .....	34
1.9 Referências Bibliográficas .....	37
CAPÍTULO 2 ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS SOBRE OS INDICES DE DESEMPENHO DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE .....	47
Resumo .....	48
Abstract .....	49
Introdução .....	51
Material e Métodos .....	53
Resultados e Discussão .....	57
Conclusões .....	65
Referências Bibliográficas .....	65
CAPÍTULO 3 ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE .....	68
Resumo .....	69
Abstract .....	70
Introdução .....	71
Material e Métodos .....	72
Resultados e Discussão .....	75

Conclusões .....	82
Referências Bibliográficas .....	83
CAPÍTULO 4 ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS E SEU EFEITO SOBRE CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE .....	85
Resumo .....	86
Abstract . .....	87
Introdução .....	88
Material e Métodos .....	90
Resultados e Discussão .....	92
Conclusões .....	101
Referências Bibliográficas .....	101
Anexo 1 – Observações macroscópicas das vísceras aos 28 e 56 dias do experimento com codornas japonesas em postura.....	103
CAPÍTULO 5 IMPLICAÇÕES.....	105

## LISTA DE TABELAS

## CAPÍTULO 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Tabela 1. Frequência e níveis de aflatoxinas detectadas em amostras de produtos vegetais e rações animais comercializadas no Brasil.....	7
Tabela 2. Lesões e sintomas causados pelas aflatoxinas nos diversos sistemas orgânicos .....	19
Tabela 3. DL <sub>50</sub> após a inoculação de uma única dose de aflatoxina B <sub>1</sub> em diferentes espécies animais.....	20
Tabela 4. Valores da dose média para produção de tumores (DT <sub>50</sub> ) após a ingestão prolongada de aflatoxina B <sub>1</sub> na dieta, para várias espécies.....	22
Tabela 5. Relação entre a ingestão de aflatoxina B <sub>1</sub> e a incidência de carcinoma hepatocelular, nos países da África e Ásia.....	26
Tabela 6. Taxas de conversão de aflatoxina B <sub>1</sub> na ração, para aflatoxina B <sub>1</sub> residual em ovos de galinhas .....	31

## CAPÍTULO 2 ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS SOBRE OS INDICES DE DESEMPENHO DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE

Tabela 1. Composição percentual calculada da ração basal utilizada na preparação das dietas experimentais .....	54
Tabela 2. Resultados médios de desempenho de codornas no período de 28 dias (1º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração .....	58
Tabela 3. Resultados médios de desempenho de codornas no período de 56 dias (2º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração .....	59

Tabela 4. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e zearalenona para peso dos ovos, CA/massa e CA/dúzia no período de 28 dias (1º período) .....	61
Tabela 5. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e zearalenona para peso dos ovos, CA/massa e CA/dúzia no período de 56 dias (2º período) .....	62
Tabela 6. Desdobramento da interação entre os níveis de zearalenona e adsorvente para porcentagem de postura, massa de ovos, CA/massa e CA/dúzia no período de 28 dias (1º período) .....	64
Tabela 7. Desdobramento da interação entre os níveis de zearalenona e adsorvente para porcentagem de postura, massa de ovos, CA/massa e CA/dúzia no período de 56 dias (2º período) .....	64

### CAPÍTULO 3 ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE

Tabela 1. Resultados médios de qualidade de ovos de codornas no período de 28 dias (1º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração .....	76
Tabela 2. Resultados médios de qualidade de ovos de codornas no período de 56 dias (2º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração .....	76
Tabela 3. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e zearalenona para porcentagem de casca no período de 56 dias (2º período) .....	77
Tabela 4. Resultados das análises de resíduos de micotoxinas em ovos nos períodos de 1 a 28 e de 1 a 56 dias do experimento com codornas japonesas em postura .....	79
Tabela 5. Valores da taxa de conversão de resíduos de aflatoxina B <sub>1</sub> nas amostras de ovos de acordo com o nível de aflatoxinas na ração para o período de 1 a 28 e de 1 a 56 dias do experimento com codornas em postura .....	80

Tabela 6. Porcentagem de ovos sem casca produzidos pelas codornas japonesas nos períodos de 1 a 28 e de 1 a 56 dias .....	82
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

#### CAPÍTULO 4 ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS E SEU EFEITO SOBRE CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE

Tabela 1. Resultados médios do peso relativo (g/100g) de vísceras de codornas no período de 28 dias (1º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração .....	93
Tabela 2. Resultados médios do peso relativo (g/100g) de vísceras de codornas no período de 56 dias (2º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração .....	94
Tabela 3. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e adsorvente para o peso relativo (g/100g) do fígado e moela no período de 28 dias (1º período) .....	96
Tabela 4. Desdobramento da interação entre os níveis de zearalenona e adsorvente para o peso relativo (g/100g) do fígado no período de 28 dias (1º período) .....	96
Tabela 5. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e zearalenona para o peso relativo (g/100g) da moela no período de 56 dias (2º período) .....	96
Tabela 6. Alterações histopatológicas observadas nos fígados de codornas sacrificadas e necropsiadas, no 28º e 56º dias do experimento, nos diferentes tratamentos .....	98
Tabela 7. Alterações histopatológicas observadas nos rins de codornas sacrificadas e necropsiadas, no 28º e 56º dias do experimento, nos diferentes tratamentos .....	99

CAPÍTULO 1  
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

## 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

### 1.1 Micotoxinas: danos e prejuízos

As micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários, produzidos por fungos que contaminam as culturas no campo, no transporte e durante o armazenamento nos silos. Podem se desenvolver naturalmente nos produtos alimentícios que são destinados diretamente para o consumo animal ou humano, sendo capazes de originar uma ampla variedade de efeitos tóxicos em animais vertebrados, afetando sua saúde incluindo o homem (OPAS, 1983; FITZPATRICK, 1990; COULOMBE, 1991; PRADO et al., 1995).

O termo micotoxina tem origem em uma palavra grega “mykes” (fungo) e uma palavra do latim “toxicum” (toxina). A expressão grego-latina “mykes-toxicum” tem o significado de toxina produzida por fungo, ou micotoxina. O termo micotoxina é usado para designar um grupo de compostos, altamente tóxicos, produzidos por determinados fungos, que causam doenças ou a morte, quando ingeridos pelo homem ou animais, através de alimentos contaminados (SHURTLEFF, 1992; SABINO & RODRIGUES-AMAYA, 1993; LAZZARI, 1997).

As micotoxinas apresentam, de uma maneira geral, grande estabilidade química, permitindo a sua persistência no alimento mesmo após a remoção dos fungos pelos processos normais de industrialização e embalagem, ou seja, mesmo que o alimento sofra o processamento, por exemplo leite transformando-se em queijo, a micotoxina ainda estará presente nesse queijo produzido (CHU, 1991).

A doença ou síndrome que resulta da ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas, denomina-se micotoxicose, podendo esta causar ao organismo humano ou animal diversos danos no crescimento, prejudicando o metabolismo do organismo, causando o desenvolvimento de tumores, podendo inclusive ocasionar a morte em alguns casos (FITZPATRICK, 1990; SCUSSEL, 1998). As micotoxicoses são caracterizadas por síndromes difusas, mas com predominância de lesões em determinados órgãos, como fígado, rins e sistema nervoso central, dependendo do tipo de

toxina. Há também, a possibilidade de ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas, podendo ocasionar a potencialização de seus efeitos tóxicos sobre o organismo susceptível (KUBENA et al., 1995; POZZI, 2000).

O relato mais antigo de micotoxicose registrado está ligado às toxinas do Ergot, que são metabólitos produzidos por diversas espécies de fungos do gênero *Claviceps*, que infectam cereais e várias gramíneas, cuja primeira menção é datada de 600 a.C., que referia-se a uma perigosa excrescência encontrada em espigas. Mas somente por volta de 1850 reconheceu-se o risco em potencial do fungo, associando-se a ingestão de centeio infectado e pão produzido com farinha de centeio contaminado com as toxinas produzidas pelo fungo *Claviceps purpurea*, doença que produzia os sintomas de necrose e gangrena dos membros, sintomas esses acompanhados de alucinações, cegueira, aborto, hemorragia e morte (OPAS, 1983; SCUSSEL, 1998).

Na atualidade, cerca de 300 micotoxinas já foram isoladas, mas as toxinas mais comumente encontradas em alimentos e que comprovadamente têm propriedades tóxicas acentuadas, estando mais largamente distribuídas nos alimentos, causando danos ao consumidor, que devem ser estudadas são: aflatoxinas, zearalenonas, ocratoxinas, tricotecenos, fumonisinas, patulina, T-2, Deoxinivalenol (DON, que é a vomitoxina), (SCUSSEL, 1998).

### 1.1.2 Aflatoxinas

As aflatoxinas são produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, espécies *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (MOSS, 1998). Os principais alimentos que têm susceptibilidade ao desenvolvimento destes fungos são amendoim, milho e trigo, que comumente podem ser utilizados na formulação de rações para a avicultura (LEESON et al., 1995).

Após a descoberta das aflatoxinas, o conhecimento da ciência sobre as micotoxinas e seus danos sobre a saúde humana e animal cresceram significativamente. Os estudos sobre as aflatoxinas tiveram início na Inglaterra, no início dos anos 60, quando STEVENS et al. (1960), descreveram o aparecimento de uma nova doença em perus jovens, de proporções



alarmantes. O quadro clínico era caracterizado por evolução aguda e sintomatologia hepatotóxica, com a morte das aves ocorrendo geralmente em uma semana (ASPLIN & CARNAGHAN, 1961). Podia-se perceber nas aves a perda de apetite, diminuição da mobilidade, asas e pernas apresentando sinais de fraqueza. Por ocasião da necrópsia, sempre se revelavam lesões necróticas no fígado e congestão nos rins. Essa doença chegou a ser chamada de “doença x dos perus” porque foi responsabilizada pela morte de mais de 100.000 perus jovens, 20.000 patos e centenas de outras aves de criação domésticas (SMITH, 1960; ASPLIN & CARNAGHAN, 1961).

Suspeitou-se que seria uma doença de origem nutricional, pois quando ocorria a mudança da ração as mortes cessavam (SMITH, 1960). Após intensas pesquisas realizadas em diversos países, foi demonstrado, posteriormente, que o fator responsável pelos surtos estava presente em produtos derivados de amendoim, constatando-se que a doença fora provocada por torta de amendoim proveniente do Brasil, sendo isolado o fungo *Aspergillus flavus* e a substância isolada desse produto foi chamada de aflatoxina (TDRI, 1984; MOLIN & VALENTINI, 1999).

Na atualidade, as aflatoxinas são definidas como um grupo de metabólitos tóxicos produzidos durante o estágio de esporulação dos fungos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius* (MOSS, 1998).

O grupo de aflatoxinas compreende as toxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>, sendo as duas últimas encontradas primeiramente no leite, e derivadas de B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, as demais são encontradas principalmente em milho, amendoim, sementes de algodão e castanhas diversas (DIENER et al., 1983; CHU, 1991; LAZZARI, 1997). Além do milho, amendoim e sementes de algodão, citados anteriormente, existem relatos de aflatoxinas encontradas em centeio, sorgo, trigo, cevada, nozes pecans, nozes, ervilha, semente de girassol, aveia, arroz, painço, castanha do Pará, pistache, avelã, soja, leite e produtos lácteos, ovos, algumas frutas secas e chás. Também foram encontradas no fígado de ovinos, suínos e aves de corte (SCUSSEL, 1998).

BUTLER & BARNES (1963) demonstraram que as aflatoxinas eram poderosos agentes hepatocarcinogênicos para animais de experimentação,

causando um grande impacto devido as implicações na saúde humana, aumentando ainda mais o interesse da comunidade científica sobre essas toxinas.

Além de hepatocarcinogênicas e hepatotóxicas, as aflatoxinas também são teratogênicas e mutagênicas, causando grandes danos à saúde humana e elevados prejuízos financeiros no rendimento de animais, como bovinos, ovinos, suínos, aves e coelhos (REED & KASALI, 1988; OSWEILER, 1990; LAZZARI, 1997) .

Na atualidade, a aflatoxina B<sub>1</sub> é considerada uma das mais potentes substâncias carcinogênicas de ocorrência natural conhecidas pelo homem, e está identificada como fator associado ao câncer hepático em humanos, após a ingestão de alimentos contaminados (IARC, 1987; BOSCH & PEERS, 1991; LAZZARI, 1997).

Os fungos *Aspergillus* e suas toxinas, ocorrem em praticamente todos os países do mundo, com predominância nas regiões de clima tropical e subtropical, incluindo o Brasil onde as condições climáticas são favoráveis. A ocorrência pode apresentar sazonalidade, sendo mais frequente nos meses em que a temperatura e a umidade são elevadas, pois estas condições favorecem o desenvolvimento desses fungos, com a consequente produção de aflatoxinas (COULOMBE, 1991). Particularmente o clima do estado de São Paulo é propício ao desenvolvimento de aflatoxinas, onde foram encontrados níveis médios de 78 µg/kg e 240 µg/kg em amostras de milho e rações (SABINO et al., 1988; SABINO et al., 1989a; LAZZARI, 1997).

As condições ideais para o desenvolvimento da maioria das espécies de *Aspergillus* estão na faixa de 0,80 a 0,85 de atividade de água e com temperatura ambiente em torno de 30 °C (OPAS, 1983). Segundo PRADO et al. (1995) e LAZZARI (1997), com a umidade relativa do ar ao redor de 80% e a temperatura ambiente próxima dos 27 °C, já se têm condições ideais para o desenvolvimento dos fungos do gênero *Aspergillus*.

A produção de aflatoxinas no milho é constatada quando a umidade do grão atinge de 17,5 a 18,5 %. O amendoim é o melhor substrato para o desenvolvimento de *Aspergillus flavus* e produção de aflatoxinas, verificando-

se sua incidência com o grão apresentando 8 a 9 % de umidade (PRADO et al., 1995; LAZZARI, 1997).

Os produtos vegetais são contaminados através do contato com os esporos do fungo presentes no ambiente, principalmente no solo durante os processos de colheita e secagem. Qualquer órgão de reserva como frutos ou sementes pode ser atacado por fungos do gênero *Aspergillus*, sendo que a utilização de práticas agrícolas incorretas, que prolonguem o contato dos produtos com o solo, a presença de ferimentos, injúrias mecânicas, ataque de carunchos e gorgulhos, armazenamento inadequado, em locais úmidos e sem ventilação, são apontadas como as principais causas que favorecem a contaminação e o desenvolvimento de fungos toxigênicos (CHU, 1991). Além disso, o fungo *A. flavus* é um fungo de solo, tendo este como sua principal fonte de inóculo primário, podendo sobreviver na forma de esclerócios (AGARWAL & SINCLAIR, 1997; MOLIN & VALENTINI, 1999).

#### 1.1.2.1 Ocorrência na natureza

Frequentemente têm-se observado a ocorrência natural de aflatoxinas nos alimentos destinados para consumo humano e animal, como amendoim e derivados, milho, feijão e rações. Geralmente, a microbiota fúngica que predomina nesses produtos, inclui os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, que englobam as principais espécies de fungos toxigênicos em alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Na Tabela 1 pode-se observar os níveis de ocorrência de aflatoxinas encontrados em ingredientes para rações e nas rações prontas, dados esses obtidos em diversos levantamentos realizados no Brasil. Através dos resultados obtidos nesses trabalhos, pode-se observar um alto percentual de amostras positivas, principalmente em rações prontas, descrevendo-se valores de 10,4 a 56,9% para esses produtos. As concentrações médias de aflatoxinas no milho e em rações, tiveram bastante variabilidade, mas foram relatados níveis de até 7.800 µg/kg, de acordo com SABINO (1980), sendo portanto, potencialmente capazes de causar efeitos negativos na produtividade da maioria das espécies exploradas na avicultura.

Deve-se levar em consideração ainda, que a concentração das aflatoxinas tem a tendência de aumentar ao longo da cadeia de produção e comercialização das rações. Em trabalho de pesquisa, JONES et al. (1982), fizeram análises da matéria-prima, da ração produzida na fábrica e, posteriormente, da mesma ração armazenada nos aviários, encontrando médias de contaminação de 1,2; 6,0 e 8,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, respectivamente. Neste mesmo experimento, os autores observaram elevada correlação entre o tempo de permanência da ração nos aviários com a frequência e o nível de aflatoxinas encontrados. Também observaram que as ótimas condições encontradas para a produção de aflatoxinas nas rações contidas nos aviários, ocorriam com umidade relativa do ar na faixa de 70 a 89% e temperatura ambiente entre 19 e 27 °C.

Tabela 1. Frequência e níveis de aflatoxinas detectadas em amostras de produtos vegetais e rações animais comercializadas no Brasil.

Tipo de produto	Origem das amostras	Frequência <sup>a</sup> (%)	Nível médio ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Referência
Rações	Diversos Estados	25,5	50 a 7800 <sup>b</sup>	SABINO, 1980
Milho	Minas Gerais	18,1	83	SABINO et al., 1986
Rações	Diversos Estados	10,4	241	SABINO et al., 1988
Milho	Região Sul	18,2	79	SABINO et al., 1989a
Milho	Região Sudeste	8,6	35	SABINO et al., 1989a
Milho	Rio Grande do Sul	28,9	1906	SANTURIO et al., 1992
Rações e Milho	Rio Grande do Sul	24,9	4 a 1906 <sup>b</sup>	BALDISSERA et al., 1993
Sorgo	Diversos Estados	12,8	7 a 33	SILVA et al., 2000
Rações	Rio de Janeiro	56,9	1 a 32	RIBEIRO et al., 2000

<sup>a</sup> Número de amostras positivas/total de amostras analisadas

<sup>b</sup> Valores se referem às concentrações mínima e máxima

1.1.3 Toxinas de *Fusarium*: zearalenona, vomitoxina ou DON, toxina T-2 e fumonisinas.

Animais afetados por toxinas de *Fusarium* podem ser intoxicados por várias toxinas como a zearalenona, fumonisinas, tricotecenos (vomitoxina e

T-2, entre outras), dependendo da temperatura a que for submetido esse fungo. Os tricotecenos são um grupo de mais de cem micotoxinas produzidas por *Fusarium*, possuindo esse nome devido a possuírem estrutura química composta de um anel com esqueleto tetracíclico 12, 13-epoxitricotecenos (LAZZARI, 1997; SANTIN et al., 2001).

#### 1.1.3.1 Zearalenona

O fungo *Fusarium* estabelece-se nas espigas de milho, trigo, tritcale e cevada antes da colheita, continuando a desenvolver-se no período de armazenamento. O milho deixado no campo pode contaminar-se, dependendo das condições climáticas. Normalmente pode-se isolar a zearalenona do milho e trigo contaminado por *Fusarium*. A zearalenona é um ácido com propriedades estrogênicas e suas consequências são percebidas, principalmente em suínos, por meio da observação de indução de estro e vulvovaginites. São produzidas por várias espécies de *Fusarium*: *F. roseum*, *F. tricinctum*, *F. roseum* “*Culmorum*”, *F. roseum* “*Gibbosum*”, *F. roseum* “*Graminearum*” e *F. roseum* *moniliforme*. Todos os fungos citados acima produzem zearalenona e tricotecenos (vomitoxina e T-2), podendo ser encontrada mais de uma micotoxina, quando ocorrer uma contaminação natural (LAZZARI, 1997; SCUSSEL, 1998; SANTIN et al., 2001).

Quanto aos fatores que favorecem a produção de *Fusarium* e suas respectivas toxinas, diferentemente dos outros tipos de fungos, a produção da toxina não ocorre na sua temperatura ótima de crescimento, nem nas temperaturas próximas. O *Fusarium* cresce na faixa entre 0 e 40 °C, sendo que a temperatura ótima é de 20 a 25 °C. Porém, a toxina é produzida quando ocorrem baixas temperaturas. Para que ocorra a produção de zearalenona, é necessário que a temperatura seja de 12 °C, mas para produzir a toxina T-2, é necessária a temperatura de 8 °C.; verificando-se portanto, que o *Fusarium* produzirá a toxina quando ocorrer efeito de choque térmico (LAZZARI, 1997; SCUSSEL, 1998).

Em alimentos cujo teor de umidade estiver acima de 22 a 23 % o fungo se desenvolve, infectando os grãos ou a porção superior da espiga de milho, ainda no campo, antes da colheita, podendo as toxinas citadas anteriormente se desenvolverem e serem encontradas em um mesmo lote de milho. Este fungo desenvolve-se com produção de toxina em clima temperado, principalmente nas estações frias e úmidas (LAZZARI, 1997; SCUSSEL, 1998).

Os alimentos em que ocorrem maior incidência de zearalenona são o milho, este implicado com maior frequência em casos de hiperestrogenismo, sorgo, trigo, cevada maltada, café cru, rações e outros cereais. Os quatro primeiros, anteriormente citados, são os que mais causam danos. Pode ocorrer, também, contaminação da cerveja e outros produtos fermentados produzidos à partir de milho e sorgo (SCUSSEL, 1998).

## 1.2 Métodos de análises para micotoxinas em alimentos

Os primeiros métodos para a determinação de aflatoxinas em alimentos foram desenvolvidos logo após a descoberta das toxinas em 1960, baseando-se na propriedade fluorescente das toxinas, quando expostas à luz Ultra Violeta (UV) (OPAS, 1983). A cromatografia de camada delgada (CCD), foi a técnica de identificação e quantificação utilizada inicialmente e, atualmente ainda é amplamente utilizada. Esta técnica tem diversas vantagens, inclusive custo relativamente baixo, comparando-se com outras metodologias, além de apresentar repetibilidade e reprodutibilidade adequadas em nível de análise, geralmente em micrograma por kilo ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Devido a suas particularidades, essa técnica pode ser considerada a mais indicada para análise rotineira de cereais, alimentos prontos para consumo e rações animais (TRUCKSESS, 2001).

A identificação e quantificação das micotoxinas por meio da técnica de CCD, geralmente é efetuada através da comparação visual das amostras com padrões de concentração conhecida, fazendo-se a leitura em câmara de luz UV ( $\lambda = 366 \text{ nm}$ ). A quantificação também pode ser realizada, com maior precisão,

por meio da leitura das placas por fotodensitometria, de acordo com SCOTT (1990), mas com significativa elevação dos custos das análises.

Os métodos que utilizam CCD para análises de resíduos de micotoxinas em produtos de origem animal, apresentam limites de quantificação que variam de 0,01 a 0,20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (TRUCKSESS et al., 1983).

No início dos anos 80, os métodos imunoquímicos foram introduzidos para a análise de micotoxinas, também chamados de imunoenaios, baseiam-se nas reações específicas entre antígenos e anticorpos, cujos princípios constituem a base dos sistemas de defesa dos organismos superiores. Estas técnicas já haviam sido empregadas amplamente na área clínica, com o propósito de analisar substâncias de elevado peso molecular, com toxinas bacterianas, ou para o diagnóstico de agentes infecciosos (FREMY & CHU, 1989).

A técnica do ensaio por enzimas imuno-adsorvidas (ELISA), do tipo direto, é um dos mais utilizados para análises de aflatoxinas em cereais, produtos de origem animal e amostras clínicas (OLIVEIRA & GERMANO, 1996). O ELISA é considerado o método mais adequado para a análise de grande número de amostras, com a finalidade de triagem analítica, pela facilidade de execução e rapidez na obtenção dos resultados (BOENKE, 2001).

Para se determinar micotoxinas em alimentos deve-se seguir uma sequência de procedimentos para permitir a extração adequada dos compostos, à partir da amostra homogeneizada, a purificação do extrato, para a remoção de substâncias interferentes, e finalmente, a concentração do extrato final, com o intuito de diminuir o limite de quantificação das toxinas (TDRI, 1984). As citadas etapas devem ser efetuadas cuidadosamente, a fim de se obter uma eficiência adequada na fase final de identificação e quantificação das toxinas (JAIMEZ, et al., 2000). É recomendado, também, fazer a confirmação da identidade das toxinas, com o objetivo de se evitar resultado falso-positivo (SCOTT, 1990).

Para a análise de micotoxinas, a maioria dos métodos cromatográficos preconiza a extração com solventes orgânicos, como metanol, acetona e clorofórmio. A purificação do extrato pode ser feita através de partição com

solventes orgânicos e/ou cromatografia de coluna (OPAS, 1983). Estas fases são bastante trabalhosas, principalmente em amostras de tecidos e produtos de origem animal, como ovos, vísceras, músculos e leite, pois estes alimentos são produtos de elevada complexidade, compostos por gorduras, açúcares, proteínas, minerais, pigmentos e outros compostos interferentes (STUBBLEFIELD & VAN EGMOND, 1989). Além do que, as quantidades de toxinas presentes nestes produtos são extremamente baixas, dificultando a obtenção de um extrato puro constituído apenas pelos resíduos de aflatoxinas (SABINO, 1990).

Para a análise de micotoxinas em ovos a ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) preconiza a extração (em 100 g de amostra de ovos integral) com solução saturada de cloreto de sódio e acetona, cujo extrato, após filtração, é adicionado de solução de acetato de chumbo e novamente filtrado com auxílio de terra diatomácea. Após a remoção das gorduras com éter de petróleo, em funil de separação, a toxina é extraída com clorofórmio. A fração clorofórmica é então purificada em coluna contendo sulfato de sódio anidro e sílica gel, completando-se a extração com solução de clorofórmio e acetona (9+1). Os eluatos (fluidos que emergem de uma coluna cromatográfica durante a sua eluição) são recolhidos em um mesmo frasco e submetidos à concentração até a secagem (SCOTT, 1990).

Após ressuspender o resíduo com 100  $\mu$ L de benzeno-acetonitrila (98+2), submete-se alíquotas provenientes do extrato à CCD bidimensional, utilizando-se éter etílico-metanol-água (96+3+1) como fase móvel no 1º desenvolvimento, e acetona-clorofórmio (1+9) no 2º. A confirmação da toxina nos cromatogramas, é normalmente realizada através da derivação química com ácido trifluoroacético (TFA), para transformação da aflatoxina B<sub>1</sub> em aflatoxina B<sub>2a</sub>, que exibe melhor fluorescência para ser analisada (PRZYBYLSKY, 1975).



### 1.3 Medidas de controle para micotoxinas

Certamente, o melhor método para se controlar a contaminação de micotoxinas em alimentos é prevenir o crescimento de fungos. É importante que seja feito o uso de práticas, como o plantio de variedades resistentes a contaminação por fungos do gênero *Aspergillus*, além da proteção dos grãos ao ataque de insetos, como carunchos e gorgulhos. Também é essencial que sejam feitos todos os procedimentos para a diminuição da umidade dos grãos colhidos e a armazenagem dentro dos padrões ideais. Como método preventivo têm sido utilizados inibidores de crescimento fúngico em grãos armazenados (SANTURIO, 1995).

Os métodos para detoxificação de micotoxinas em alimentos são utilizados quando as medidas preventivas falharam. Tais métodos podem ser feitos através da remoção física de grãos ardidos, remoção de micotoxinas por solventes polares, degradação de micotoxinas por substâncias químicas ou microrganismos, podendo estes ser efetivos ou não, mas certamente de custo elevado e, na maioria das vezes economicamente inviáveis (SANTURIO, 1995).

Várias substâncias químicas têm sido testadas e utilizadas como inibidores de fungos, sendo o principal grupo destes anti-fúngicos classificado como ácidos orgânicos. Neste grupo estão incluídas substâncias de estrutura simples como o ácido propiônico, acético, sórbico e benzóico e seus sais de cálcio, sódio e potássio. O ácido propiônico e seus derivados, os propionatos, são eficientes inibidores fúngicos, sendo utilizados em rações animais (PASTER, 1979; DIXON & HAMILTON, 1981).

Outro método utilizado para controle de contaminação por micotoxinas é o uso de materiais inertes na dieta a fim de reduzir a absorção das aflatoxinas pelo trato gastrointestinal dos animais. As substâncias adicionadas à ração são argilas de origem vulcânica, como aluminossilicatos e as bentonitas, sendo que o composto aluminossilicato de sódio e cálcio (ASSCA) tem uma alta afinidade *in vitro* por aflatoxina B<sub>1</sub> (SANTURIO, 1995).

### 1.3.1 Ácidos orgânicos – mecanismos de ação

A maior parte dos microrganismos cresce dentro de um enorme gradiente de pH. Certos ácidos fracos com baixos valores de pKa, são potentes inibidores do transporte de aminoácidos por parte da célula fúngica. O ácido fraco é difundido através da membrana da célula provocando sua ionização, através da transferência de prótons e acidificando o conteúdo celular. A quantidade de ligações dos prótons dos ácidos na célula determina o grau de eficiência da célula fúngica. Esses ácidos através da interferência na permeabilidade da membrana celular do fungo, desarranjam o transporte do substrato da membrana. Os ácidos orgânicos insaturados, como o ácido ascórbico, também são capazes de inibir o transporte de elétrons nas mitocôndrias da célula fúngica. O ácido fórmico pode inibir de imediato certos íons de amônia e aminoácidos, além de bloquear a fosforilação oxidativa e inibir o transporte de elétrons através da membrana. O uso de ácidos orgânicos inibe o desenvolvimento dos fungos, principalmente quando os grãos estiverem sendo estocados por um período superior a 20 dias, sendo que a concentração destes ácidos a ser colocada nos silos vai depender diretamente do teor de umidade dos grãos armazenados (SANTURIO, 1997).

### 1.3.2 Adsorventes – mecanismos de ação

O método ideal para detoxificação é aquele que além de reduzir as concentrações da toxina a níveis seguros, não gere produtos de degradação tóxicos aos animais e nem reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados. Poderiam ser usados adsorventes inertes na dieta, com o objetivo de se reduzir a absorção de aflatoxinas pelo trato intestinal dos animais. Os compostos de aluminossilicato de sódio e cálcio (ASSCA) na concentração de 0,5% na ração têm apresentado um resultado significativo na diminuição dos efeitos adversos de aflatoxinas em galinhas, perus e suínos. Diversos experimentos demonstraram também que a bentonita sódica é um ótimo adsorvente para

aflatoxinas em frangos de corte, da mesma maneira que as ASSCA (SANTURIO, 1997).

Quase todas as argilas somente têm cargas negativas, por isso são polares. Entre as argilas deste tipo se encontram as montmorilonitas: esmectitas, bentonitas além das zeolitas. Tendo a aflatoxina uma forte carga positiva, esta pode ser adsorvida pela argila polar. A capacidade de intercâmbio catiônico é dada em miliequivalentes (meq.). A classificação básica das argilas pode ser dividida em caolinitas 0 a 20 meq; as ilitas e cloritas de 20 a 60 meq; e as bentonitas e zeolitas de 60 a 120 ou mais meq. Quanto maior a capacidade de intercâmbio catiônico mais substituições isomórficas (cargas negativas). Isto indica que com as argilas de mais de 60 meq. a expansão interlamilar é maior porque se reduz a área de superfície de adsorção devido ao grande deslocamento dos cátions interlaminares que faz com que a adsorção e/ou absorção ocorra dentro dos espaços interlaminares e não na superfície da argila (bentonitas e zeolitas). As argilas com pH ácido fazem com que a maior parte da adsorção se efetue no intestino grosso. Enquanto que com as argilas com pH alcalino, no intestino delgado, onde se efetua a maior parte da adsorção das micotoxinas, de forma que se capture a micotoxina antes que chegue à corrente sanguínea. A acidez do intestino delgado e do estômago faz com que haja mais cargas positivas (+) que são induzidas pelo pH (TAMARES, 2000).

A química das argilas mostra que elas são totalmente diferentes e que não há duas iguais. De uma mina para outra mudam suas características, por isso é necessário assegurar-se de que o produto é proveniente sempre da mesma mina e que as características do produto correspondam ao mesmo.

Ao determinar que tipo de argila se vai utilizar, tem-se que estudar os trabalhos *in vitro* e *in vivo*, pois são fundamentais e necessários, mas também deve-se ver a química da argila para saber se é uma argila polar somente capaz de adsorver aflatoxina ou uma argila dipolar capaz de adsorver um amplo espectro de micotoxinas, se é expansível ou não, sua origem, estrutura e capacidade de intercâmbio catiônico (TAMARES, 2000).

Existem adsorventes que são o resultado de uma formulação composta de glicomananas esterificadas extraídas da parede celular de culturas de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) cepa 1026. Estudos relataram a capacidade destes de reduzir significativamente as perdas da produção (ganho de peso, peso corporal, eficiência alimentar) e do sistema imunitário (produção de enzimas e proteínas séricas, produção de anticorpos) que ocorrem devido ao uso de rações contaminadas com aflatoxinas, quando usados como aditivos com suplementação de 0,05 ou 0,10% (LYONS & JACQUES, 1997). Segundo SHANE (1999), as glicomananas esterificadas são capazes de ligar-se de maneira eficiente a diversas micotoxinas, como aflatoxina, fumonisina e zearalenona, sendo que a ligação com toxina T-2, ocratoxina e citrinina é moderada. A inclusão de 0,05 a 0,10% em ração para aves contaminada de 20 a 200 µg/kg de aflatoxina, é capaz de restaurar o ganho de peso, viabilidade, produção de ovos e eclodibilidade.

#### 1.4 Efeitos econômicos em matérias primas para alimentação animal

O Brasil ocupa posição de destaque na avicultura, situando-se como segundo produtor mundial de carne de frangos (SANTURIO, 1996, MOREIRA, 2000). Com os resultados de mais de 2500 análises de micotoxinas realizadas no laboratório da Universidade Federal de Santa Maria, no período de 1987 a 1994, concluiu-se que 25% do milho produzido no Brasil está contaminado por aflatoxinas e, desta porcentagem, aproximadamente 15% apresentam níveis de contaminação superiores a 20 µg/kg, de acordo com SANTURIO (1996). Existe uma contaminação de grãos muito alta, principalmente por aflatoxinas, sendo estas o maior problema na América Latina, devido as condições ambientais (temperatura e umidade) serem propícias ao desenvolvimento de fungos do gênero *Aspergillus*. Como o milho está presente em cerca de 60 % da ração para avicultura isto se torna um sério problema, já que ao se pensar em alimentos para animais em confinamento, pensa-se primeiramente no milho (SANTURIO, 1996).

Estudos realizados em milho que chega às principais regiões produtoras de ovos do estado de São Paulo, durante os meses de junho e julho de 1999, mostraram que 5% deste está contaminado por aflatoxina B<sub>1</sub> (ABREU, 2001).

SANTURIO (1996), relata que a F.A.O. calcula que aproximadamente 25% dos grãos do mundo estão contaminados por micotoxinas. Estima-se que os estados do sul do Brasil tenham uma produção de 35 a 40% dos grãos com aflatoxinas. Sabendo-se que os estados do sul produzem cerca de 60% do milho do país, têm-se aproximadamente 7 milhões de toneladas de grãos com aflatoxinas e, desse total 15% possuem níveis de contaminação acima de 20 µg/kg, significando cerca de 30% da produção nacional. Isso representa um total de 1 milhão e 50 mil toneladas de milho com níveis de contaminação acima de 20 µg/kg, cujo efeito sobre aves e suínos é bastante expressivo (SANTURIO, 1996).

Prejuízos em frangos de corte são grandes nas áreas onde se observam problemas com grãos contaminados por micotoxinas, mas normalmente não se verifica acentuada mortalidade de aves. As consequências das aflatoxinas são traduzidas por esses animais na sua produção de carne e ovos. O último registro de mortalidade em larga escala de aves ocorreu em 1970, quando galinhas poedeiras da Carolina do Norte ingeriram ração contendo aproximadamente 50 mg/kg de aflatoxinas (SANTURIO, 1996).

Calcula-se que houve um prejuízo de aproximadamente 100 milhões de dólares causados por aflatoxinas, no início da década de 70, nos Estados Unidos. Na América Latina, infelizmente, não existem dados seguros sobre os prejuízos causados por aflatoxinas em frangos e galinhas poedeiras, mas certamente são bastante expressivos, já que o clima é favorável ao desenvolvimento de fungos do gênero *Aspergillus* (NICHOLS, 1983).

Pequenas quantidades de aflatoxinas para frangos alojados em galpões comerciais, aproximadamente 14 µg/kg, já provocam perdas significativas no desempenho. Experimentalmente são usados níveis de aflatoxinas centenas de vezes maiores, já que em uma pesquisa experimental trabalha-se com um número bem menor de aves, diminuindo-se os teores de amônia no ar e a disputa por espaço físico e alimento (JONES et al., 1982; DOERR et al., 1983).

Animais alojados em boxes experimentais, em condições de estresse apresentam diferenças significativas de peso, a partir dos níveis de contaminação de 75  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, enquanto que as aves sob iguais condições mas sem serem submetidas ao estresse somente a partir dos níveis de 2700  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, é que são percebidas diferenças de peso. Portanto, para causar problemas nos animais, as aflatoxinas e outras micotoxinas, dependem da qualidade de vida do animal (níveis alimentares e de estresse) ou seja, quanto maior o estresse menores quantidades de micotoxinas são necessárias para causar problemas orgânicos (DOERR et al., 1983).

## 1.5 Efeitos em animais

### 1.5.1 Aflatoxinas

A ocorrência de micotoxicoses nos animais de criação, e dentre elas as aflatoxicoses, é um reflexo do sistema produtivo adotado atualmente pelos produtores. Quanto mais avançado for, em maior quantidade se fará a utilização de alimentos concentrados, formulados à base de grãos, o que amplia a possibilidade de intoxicação por micotoxinas (HYGINO DA CRUZ, 1996; MOREIRA, 2000).

As aflatoxinas têm uma ampla distribuição entre os produtos agrícolas, representando portanto um sério risco à saúde humana e animal. Dependendo da sua concentração podem produzir nos animais efeitos agudos apresentando sintomatologia clínica e/ou alterações patológicas características, efeitos crônicos, onde a identificação dos sintomas é mais difícil, porque não apresenta um quadro sintomatológico típico, mas evidentes reflexos negativos na saúde animal, com significativas perdas econômicas. Porém os efeitos mais comumente observados em intoxicações por aflatoxinas são a diminuição da velocidade do crescimento e eficiência alimentar, causados pela redução do metabolismo proteico e absorção de gorduras. Esta influência negativa sobre a produtividade animal é devido à interferência que as aflatoxinas têm sobre

diversos sistemas enzimáticos (amilase, pancrease, tripsina, lipase, RNase, DNase), interferindo na digestão de amidos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Bastante significativo do ponto de vista econômico, porém menos evidente, são as perdas por intoxicações crônicas, tendo como causa baixos níveis de toxinas na ração. Mesmo a níveis baixos as aflatoxinas interferem na resposta imune, o que torna os animais mais susceptíveis às doenças infecciosas e parasitárias, ocasionando também falhas na resposta às vacinações. Efeitos patológicos adversos são observados nos animais intoxicados, pois as aflatoxinas causam lesões em diversos sistemas orgânicos. Os sais biliares que têm a função de atuar como redutores da tensão superficial, possibilitando a atividade das lipases no intestino, têm sua produção pelo fígado reduzida pela ação das aflatoxinas. Verificando-se devido a isso, uma importante redução na absorção de gorduras e como consequência uma redução no processo de absorção de vitaminas lipossolúveis. Ocorre uma redução na função de detoxificação de toxinas e drogas, exercida pelo fígado. Provoca uma considerável redução na produção de proteínas plasmáticas, influenciando sobre a produção de hemoglobinas, sobre o mecanismo de coagulação sanguínea e sobre a síntese de importantes sistemas enzimáticos que, associado ao aumento da fragilidade capilar, provoca hemorragias generalizadas. Como principais sinais clínicos verificados em animais intoxicados por aflatoxinas tem-se anorexia, redução do ganho de peso, da produção de ovos e leite, hemorragias, má qualidade de carcaças, embriotoxicidade e teratogenia (Tabela 2). (HYGINO DA CRUZ, 1996; MOREIRA, 2000).

Tabela 2. Lesões e sintomas causados pelas aflatoxinas nos diversos sistemas orgânicos.

Sistema/Tecido	Lesões/Sintomas
Gastrointestinal	Diarréia, hemorragia intestinal, necrose e fibrose hepática, proliferação de ductos biliares, câncer hepático
Cutâneo	Icterícia
Imunológico	Redução na produção de imunoglobinas
Cardiovascular	Aumento da fragilidade vascular com hemorragias em diversos órgãos
Reprodutor	Embriotoxidez e teratogenia
Endócrino	Aumento e necrose das adrenais

Fonte: HYGINO DA CRUZ (1996).

#### 1.5.1.1 Aflatoxicose aguda

A sensibilidade as aflatoxinas varia bastante entre as espécies animais e, mesmo dentro de uma mesma espécie varia conforme a dose administrada e de acordo com a idade, sexo, raça, entre vários fatores (TDRI, 1984; SCUSSEL, 1998). A aflatoxicose aguda caracteriza-se pelos sintomas de diminuição do crescimento, desordem na atividade gastrointestinal e morte, que ocorre com o aparecimento dos sintomas neurológicos de convulsão e paralisia, ocorrendo também hemorragias múltiplas (SCUSSEL, 1998). O fígado é o principal órgão afetado, com lesões decorrentes da necrose hemorrágica, congestão centrolobular, proliferação das células dos ductos biliares e infiltração gordurosa dos hepatócitos (ESPADA et al., 1992). Na Tabela 3 são relacionados os valores da dose letal média ( $DL_{50}$ ), após a inoculação de uma única dose de Aflatoxina B<sub>1</sub>, em diferentes espécies animais.



Tabela 3. DL<sub>50</sub> após a inoculação de uma única dose de aflatoxina B<sub>1</sub> em diferentes espécies animais.

Espécie	DL <sub>50</sub> (mg/kg de peso corporal)
Patinho de 1 dia	0,33 – 0,59
Truta	0,50 – 1,00
Coelho	0,30
Gato	0,55
Porco	0,62 – 2,00
Cão	0,50 – 1,00
Porco da Índia	1,40 – 2,00
Ovelha	1,00 – 2,00
Rato (macho)	7,00
Rato (fêmea)	18,00
Camundongo	9,00
Hamster	10,20
Macaco	2,20
Galinha	6,00 – 16,00

Fonte: SCUSSEL (1998).

De acordo com CHANG & HAMILTON (1982), a dose letal média (DL<sub>50</sub>) para codornas com 4 semanas de idade, é de aproximadamente 19,5 mg/kg de peso corpóreo (p.c.), após a ingestão de uma única dose de aflatoxinas. Este valor é próximo da DL<sub>50</sub> estabelecida para galinhas poedeiras e mostrado na Tabela 3 (6,0 a 16,0 mg/kg p.c.). Embora, SANTÚRIO (1996) considera que a DL<sub>50</sub> para frangos de corte e poedeiras varia de 2,0 a 6,3 mg/kg e para suínos a DL<sub>50</sub> é de 0,6 mg/kg.

Espécies animais que não sofram os efeitos das aflatoxinas ainda não são conhecidas. De uma maneira geral os animais jovens apresentam maior susceptibilidade que os adultos, machos são normalmente mais sensíveis, porém fêmeas jovens grávidas tornam-se mais susceptíveis e transferem a toxina para o feto. Com relação às espécies exploradas na avicultura comercial, a susceptibilidade é maior em patos, seguidos de perus, gansos, faisões e frangos (MÜLLER et al., 1970; SCUSSEL, 1998).

A aflatoxicose aguda tem como característica o fato de observar-se lesões agudas no fígado, durante a biópsia. Patos e perus apresentam necrose

periportal e macacos apresentam necrose que abrange várias áreas do fígado com metamorfose gordurosa celular, proliferação do epitélio do ducto biliar e severa hemorragia (SCUSSEL, 1998).

#### 1.5.1.2 Aflatoxicose crônica

Na aflatoxicose crônica, o sinal clínico mais evidente é a diminuição da taxa de crescimento dos animais jovens (LEESON et al., 1995). A doença origina-se à partir da ingestão de alimentos contaminados com baixos níveis de aflatoxinas por um longo período de tempo, podendo a exposição ao agente contaminante ser contínua ou intermitente. O fígado torna-se hiperplásico e extremamente cirrótico, seguido de fibrose progressiva e tumor, apresentando como característica microscópica a presença de células do parênquima aumentadas, envolvidas por uma espessa massa de ductos biliares. Observa-se o efeito carcinogênico, havendo formação comprovada de tumores de fígado em diversos animais (SCUSSEL, 1998). É difícil diagnosticar em condições de campo os sintomas de intoxicação da aflatoxicose crônica, embora seja a principal maneira de intoxicação dos animais, provocando perdas significativas de produtividade (PIER, 1992).

Um dos mais importantes efeitos da aflatoxicose crônica nos animais é o câncer de fígado, que têm sido demonstrado em diversos trabalhos, especialmente em relação a aflatoxina B<sub>1</sub>. Nos animais que sofrem de aflatoxicose crônica, a aflatoxina B<sub>1</sub> induz a formação de carcinoma hepatocelular (CHC), mesmo que a toxina tenha sido ingerida em quantidades bastante baixas, motivo pelo qual é considerada um dos mais potentes hepatocarcinógenos naturais. Mesmo sendo o fígado o alvo primário, tem-se observado o desenvolvimento de tumores em outros órgãos, como intestino e pâncreas, em animais que foram alimentados com rações contendo aflatoxinas (TDRI, 1984; OLIVEIRA, 1994).

Para que ocorra a indução de tumores, a quantidade necessária de aflatoxina B<sub>1</sub> ingerida pelos animais varia amplamente entre as espécies, da mesma maneira como ocorre com relação a aflatoxicose aguda. Aves e peixes

são bastante sensíveis e a dose efetiva para que ocorra a indução de carcinoma hepatocelular situa-se entre 10 e 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxina B<sub>1</sub> na dieta. Entre os roedores a sensibilidade é bastante variável, os ratos respondem a níveis de 15 a 1.000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxina B<sub>1</sub> na dieta, mas algumas cepas de camundongos não mostraram respostas em doses de até 150.000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . As fêmeas têm menor sensibilidade que os machos, na maioria das espécies estudadas (OLIVEIRA, 1994). A Tabela 4 mostra a ampla variação de valores da dose média para a produção de tumores (DT<sub>50</sub>), reunidos por WOGAN, (1992).

Tabela 4. Valores da dose média para produção de tumores (DT<sub>50</sub>) após a ingestão prolongada de aflatoxina B<sub>1</sub> na dieta, para várias espécies de animais

Espécie	DT <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal/dia)
Rato Fisher macho	1,3
Rato Fisher fêmea	7,5
Rato Wistar macho	5,8
Rato Wistar fêmea	6,9
Rato Porton macho	3,1
Rato Porton fêmea	12,5
Camundongo C3H macho	> 70
Camundongo C57B1	> 70
Camundongo Swiss macho	> 5.300 *
Macaco <i>Rhesus</i>	156,0
Macaco <i>Cynomolgus</i>	848,0

\* o valor foi baseado não na dose efetiva, mas no maior nível administrado aos animais, para qual não foram observados tumores no fígado ou em outros órgãos.

Fonte: WOGAN (1992).

As aflatoxinas também exercem efeitos sobre o sistema imunitário. Entre os efeitos de imunossupressão, demonstrados em aves domésticas e outros animais de experimentação, destacam-se a aplasia do timo e da bursa de Fabricius, redução do número e da atividade de células T, diminuição da resposta de anticorpos, supressão da atividade fagocitária e redução de

componentes humorais, como complemento (C4), interferon e imunoglobulinas igG e IgA (PESTKA & BONDY, 1990; PIER, 1992). Todas estas alterações contribuem para a ocorrência de infecções concomitantes, sobretudo por agentes virais e bacterianos, associados à exposição dos animais as rações contaminadas com aflatoxinas.

### 1.5.2 Zearalenona

Descobriu-se em culturas de *Giberella zea*, o estágio sexual do *Fusarium roseum* “*graminearum*” que havia sido isolado do milho embolorado implicado na etiologia de uma síndrome hiperestrogênica em suínos. Sendo que os sintomas de intoxicação mais característicos são inflamações e deformações do útero (podendo apresentar encolhimento dos ovários), mamas e vulva (causando prolapso vaginal e retal) em fêmeas púberes, atrofia testicular, inflamação e aumento das mamas em machos jovens; em animais adultos, promoveram a infertilidade, ninhadas com menor número e redução no tamanho dos filhotes (LAZZARI, 1997; SCUSSEL, 1998).

Segundo LARBIER & LECLERCQ (1992), as aves são bastante tolerantes à zearalenona, sendo que níveis de 800 ppm não afetaram o crescimento de frangos de corte e perus. Todavia, em pintinhos de linhagem de postura, esses níveis provocaram o desenvolvimento ovariano precoce, mas em poedeiras adultas, 800 ppm de zearalenona na ração não alteraram a postura, peso e fertilidade e tampouco a capacidade reprodutiva dos machos, embora em ambos os sexos foi observada uma queda nos níveis de colesterol à partir de 50 ppm na dieta.

Os perus, são aparentemente mais sensíveis que as outras aves, podendo isto ser explicado pelo fato de metabolizarem 100% da zearalenona em  $\alpha$ -zearalenol, enquanto que galinhas têm a tendência de produzir quantidades iguais de  $\alpha$  e  $\beta$ -zearalenol. O  $\alpha$ -zearalenol é, aproximadamente, três vezes mais estrogênico que o  $\beta$ -zearalenol (SMITH & HENDERSON, 1991).

Os animais susceptíveis a esta toxina são os suínos, gado de leite, carneiros, galinhas (cuja toxina provoca perda de peso e produção de ovos com cascas mais finas), perus (ocorre redução no peso), camundongos, porquinhos da Índia e macacos. Os órgãos genitais e o processo reprodutivo em suínos, ratos e faisões, são afetados por intoxicação por zearalenona nos níveis de 2.000 µg/kg, que são encontrados naturalmente em campos de milho. Mas, galinhas e bovinos toleram níveis relativamente mais altos desta toxina (SCUSSEL, 1998).

## 1.6 Micotoxicose no homem

### 1.6.1 Carcinoma Hepatocelular e Vírus da Hepatite B

Em nível mundial, o carcinoma hepatocelular (CHC), é um dos tipos mais comuns de câncer, porém apresenta uma grande variação geográfica, no que diz respeito à incidência, predominando em países da África, Ásia e algumas ilhas do Pacífico (PARKIN et al., 1984). Uma maior incidência ocorre em países como Moçambique, Zimbábwe, Uganda, Tailândia, Índia, Quênia, Etiópia, costa sudoeste da China e Taiwan (KEEHN & FRANK STROMBORG, 1991; SCUSSEL, 1998). Incidência intermediária é encontrada em países como: Suazilândia e Transkei (África do Sul), Japão, parte central e sudoeste da Europa (KEEHN & FRANK STROMBORG, 1991).

As grandes diferenças observadas na incidência de carcinoma hepatocelular (CHC) nos países sugerem que ocorra o envolvimento de fatores ambientais na sua etiologia. E dentre os fatores citados, as aflatoxinas e o vírus da hepatite B (HBV), são os fatores que apresentam maior importância (OLIVEIRA, 1994).

Vários trabalhos têm relatado a presença de aflatoxinas no soro (OLUBUYIDE, 1992) e em biópsias de fígado de pacientes que apresentam câncer hepático (GARNER et al., 1988). Porém, a hipótese de que a ingestão de aflatoxinas é um fator de risco para o carcinoma hepatocelular (CHC) no homem é melhor sustentada por evidências experimentais epidemiológicas.

Essas evidências experimentais são derivadas da extrapolação para o homem, dos resultados obtidos em estudos de biotransformação, mutagenicidade e carcinogenicidade em animais e em ensaios *in vitro* (GORELICK, 1990). As evidências epidemiológicas são o resultado de estudos realizados em áreas geográficas onde a contaminação de alimentos por aflatoxinas e o câncer hepático primário são frequentes. Alguns desses trabalhos têm seus resultados apresentados na Tabela 5, nas quais demonstraram haver estreita associação estatística entre a incidência da doença e o grau de exposição as aflatoxinas, sendo esta associação mais evidente em pessoas do sexo masculino (BRUCE, 1990; OLIVEIRA, 2001).

Baseando-se nos estudos disponíveis, a INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC) em 1987, chegou a conclusão de que existia um número suficiente de evidências para considerar a aflatoxina B<sub>1</sub> e a aflatoxina M<sub>1</sub>, como pertencentes as classes 1 (carcinógeno humano) e 2B (provável carcinógeno), respectivamente. Os outros produtos da biotransformação da aflatoxina B<sub>1</sub> ainda não possuem avaliação definitiva pela IARC (ROTHSCHILD, 1992).

Através de análise geral dos dados sobre ingestão de aflatoxinas e incidência do carcinoma hepatocelular, utilizando-se o método de GOLD et al. (1984), este método forneceu, segundo WOGAN (1992), uma dose média para a produção de tumores (DT<sub>50</sub>) de 132 µg/kg peso corporal/dia. O valor da DT<sub>50</sub> encontrado está próximo ao valor da DT<sub>50</sub> encontrado em algumas espécies de primatas, mas é bastante superior ao das espécies mais sensíveis de roedores, conforme ilustrado na Tabela 4.

Tabela 5. Relação entre a ingestão de aflatoxina B<sub>1</sub> e a incidência de carcinoma hepatocelular, nos países da África e Ásia.

País	Ingestão de AFB <sub>1</sub> (ng/kg p.c./dia)	Incidência do CHC (por 1000.000/ano)
Tailândia	6,50	2,00
	61,00	6,00
Quênia	3,50	1,20
	5,90	2,50
	10,00	4,00
Moçambique	20,30	5,90
	38,60	5,00
	77,70	12,10
	86,90	9,00
	87,70	15,50
	131,40	17,70
	183,70	14,00
Suazilândia (África do Sul)	11,40	5,70
	14,30	2,90
	18,60	6,10
	32,90	11,10
	38,60	5,70
	40,00	9,20
	42,90	19,60
	72,90	23,70
127,10	22,40	
República Po- pular da China	158,60	24,90
	21,00	175,40
	157,00	182,20
	1232,00	288,50
Transkei (África do Sul)	3545,00	613,50
	5,10	5,30
	18,00	3,20
	19,60	9,00
	23,20	10,30

Fonte: OLIVEIRA (1994).

Embora os dados apresentados na Tabela 5, sejam bastante objetivos, não podemos afirmar que exista uma caracterização completa da relação dose-resposta para as aflatoxinas no homem. Isto deve-se ao fato de que nos estudos epidemiológicos, o grau de exposição não apresenta precisão, já que foi estimado à partir de níveis de contaminação de aflatoxina B<sub>1</sub> na dieta das populações, e não na dose realmente ingerida individualmente, como ocorre nos animais submetidos a experimentos científicos (OLIVEIRA, 1994).

STOLOFF (1987), relata que comprovar cientificamente o envolvimento das aflatoxinas na etiologia do câncer hepático em humanos, é difícil, pois em

sua grande maioria os estudos epidemiológicos realizaram-se em áreas onde a infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) é endêmica, correlacionado-se com a incidência de carcinoma hepatocelular (CHC).

Sendo o HBV considerado o principal fator de risco para o câncer hepático em algumas populações, como Taiwan, estudos promissores neste país, demonstraram que existe uma alta incidência de CHC em portadores de HBV (OLIVEIRA, 1994). Em trabalhos de YEH et al., (1989) os autores indicaram também, um efeito sinérgico entre a aflatoxina B<sub>1</sub> e o vírus da hepatite B, principalmente em pessoas do sexo masculino.

No Brasil, segundo SCUSSEL (2000) em 1996, Santa Catarina foi o estado da região sul que apresentou maior número de casos confirmados de hepatite B, correspondendo a valores acima de 58,3%, sendo a hepatite considerada endêmica nessa região. Em humanos a toxicidade crônica da aflatoxina B<sub>1</sub> também é conhecida por causar cirrose, necrose de fígado e câncer, havendo uma estreita relação entre aflatoxina B<sub>1</sub> e o vírus da hepatite B (HVB), com o risco de se desenvolver carcinoma hepatocelular (CHC).

Estando o assunto ainda em estudos, a tendência entre os pesquisadores é considerar a etiologia do câncer hepático como decorrente de vários fatores, havendo um provável sinérgico entre as aflatoxinas, que atuam como iniciadoras do processo cancerígeno, e o HBV que teria um efeito promotor sobre o crescimento do tumor (OLIVEIRA, 1994).

### 1.6.2 Síndrome de Reye

As aflatoxinas são consideradas como fatores envolvidos na etiologia da síndrome de Reye, doença grave que caracteriza-se por encefalopatia aguda e degeneração adiposa das vísceras, afetando principalmente crianças e adolescentes. A doença caracteriza-se por: a) em um período de algumas horas os primeiros sintomas da doença podem ser observados; b) segue-se vômito, baixos níveis de glicose sanguínea, convulsões e a presença de amônia ou seus compostos no sangue; c) coma, normalmente terminado em morte após um a dois dias do início dos sintomas. Apresenta como quadro



histopatológico acúmulo de líquido no cérebro e acúmulo extensivo de gordura no fígado e outros órgãos (OLIVEIRA, 1994; SCUSSEL, 1998).

A intoxicação aguda de macacos por aflatoxinas confere sintomas clínicos e patológicos semelhante aos da síndrome de Reye. Segundo SCUSSEL (1998), na Tailândia uma criança morreu com síndrome de Reye após ingerir arroz contendo 10.000 µg/kg de aflatoxinas. Os alimentos tailandeses têm mostrado contaminação por aflatoxinas, sendo que a incidência da doença está relacionada às variações da dieta, estações climáticas e localização geográfica.

### 1.6.3 Desnutrição e Kwashiorkor

O Kwashiorkor é uma afecção orgânica que causa a morte de milhões de crianças nos países tropicais do 3º mundo, com predomínio em países africanos. O Kwashiorkor é considerada uma das principais formas de desnutrição proteico-calórica severa (OLIVEIRA, 1994; SCUSSEL, 1998). Segundo HENDRICKSE (1991), para que ocorra o Kwashiorkor um outro fator deve estar envolvido, e cita as aflatoxinas como agentes de agressão adicional. As evidências que reforçam esta hipótese, são: a) as aflatoxinas foram detectadas com maior frequência, em altas concentrações no soro e urina de crianças com Kwashiorkor do que em crianças normais; b) no metabolismo das células, as aflatoxinas determinam desarranjos metabólicos, bioquímicos, patológicos e imunológicos, bastante semelhantes aos observados na doença de Kwashiorkor.

Provavelmente as aflatoxinas não devam ser as responsáveis primárias pelo desenvolvimento da doença de Kwashiorkor, mas as evidências apresentadas indicam que essas toxinas exerçam um papel importante na etiologia da doença. Kwashiorkor é uma doença quase exclusiva de áreas subtropicais, sendo mais comum nas estações úmidas, coincidindo com o período em que os fungos são mais presentes e passíveis de contaminar os alimentos (SCUSSEL, 1998).

#### 1.6.4 Excreção das toxinas aos produtos de origem animal consumidos pelo homem.

Em experimentos efetuados com aflatoxinas marcadas com radioisótopos em várias espécies animais, inclusive aves, demonstraram que a maior parte das toxinas e seus produtos de biotransformação têm sua excreção em 72 a 96 horas após cessar a exposição, considerando que o fígado e os rins retêm resíduos por mais tempo (STUBBLEFIELD et al., 1983; OBIOCHA et al., 1986).

Embora podendo ser sintetizadas de maneira ocasional pelos fungos, as aflatoxinas  $M_1$  e  $M_2$ , originam-se a partir da biotransformação hepática das aflatoxinas  $B_1$  e  $B_2$ , respectivamente, que são ingeridas através de alimentos ou rações contaminadas (WOOD, 1991). Esses derivados, bem como as aflatoxinas  $B_{2a}$ ,  $P_1$ ,  $Q_1$  e aflatoxicol ( $R_0$ ) podem permanecer em diversos tecidos, principalmente no hepático e no renal, ou podem ser excretadas através da urina e o leite (BIEHL & BUCK, 1987). No que diz respeito aos ovos, a eliminação das toxinas, pode ocorrer não apenas dos derivados acima, principalmente de aflatoxina  $M_1$  e aflatoxicol ( $R_0$ ), mas também de aflatoxina  $B_1$  não biotransformada (TRUCKSESS et al., 1983). Isto evidencia a existência de riscos à saúde humana, que se originam a partir do consumo de produtos de origem animal contaminados indiretamente pelas referidas toxinas (KUIPER-GOODMAN, 1991).

Vários trabalhos têm demonstrado que o acúmulo de resíduos de aflatoxina  $B_1$  nos tecidos animais ocorre principalmente no fígado (TRUCKSESS et al., 1983; OBIOCHA et al., 1986; MICCO et al., 1988). PARK & POHLAND (1986) estabeleceram as prováveis taxas de conversão de aflatoxina  $B_1$  na ração, para aflatoxina  $B_1$  e/ou outros metabólitos residuais em fígados de animais de produção, expressando os valores de 14.000:1; 800:1 e 1.200:1, para bovinos de corte, suínos e frangos, respectivamente.

Os dados publicados em relação a excreção de resíduos de aflatoxinas em ovos de galinhas, apresentam valores bastante discrepantes. PARK & POLAND (1986), obtiveram a taxa de conversão de 2.200:1 (aflatoxina  $B_1$  na

ração: aflatoxina B<sub>1</sub> residual nos ovos), mas em pesquisas de JACOB & WISEMAN (1974), rações fornecidas com aflatoxina B<sub>1</sub> nas concentrações de 100; 200 e 400 µg/kg, no período de 15 dias, tiveram como resposta os níveis de 0,2 a 3,3 µg/kg da toxina nos ovos.

Por outro lado, LÖTZSCH & LEISTNER (1976), alimentaram poedeiras brancas com toxinas nas concentrações de 3.000 a 10.000 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub>, por um período de 56 dias, e obtiveram níveis detectáveis de resíduos nos ovos de 0,02 a 0,23 µg/kg.

Em experimento realizado por TRUCKSESS et al. (1983), os autores alimentaram 18 galinhas poedeiras com ração contaminada por aflatoxina B<sub>1</sub> na concentração de 8.000 µg/kg, no período de 7 dias, e puderam observar níveis crescentes de aflatoxina B<sub>1</sub> e aflatoxicol (R<sub>0</sub>) nos ovos até o 4º dia, em seguida os níveis se estabilizaram até o final do experimento. Foram encontradas concentrações de aflatoxina B<sub>1</sub> nos ovos variando de 0,02 a 0,38 µg/kg, enquanto que os níveis de aflatoxicol (R<sub>0</sub>) foram de 0,02 a 0,33 µg/kg. Os autores não encontraram níveis detectáveis de aflatoxina M<sub>1</sub> ou de outros produtos de biotransformação da aflatoxina B<sub>1</sub> nas amostras de ovos.

WOLZAK et al. (1985) conduziram experimento com galinhas poedeiras alimentadas com ração contendo 3.310 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub>, por um período de 28 dias. Os autores puderam observar a excreção de resíduos de aflatoxina B<sub>1</sub>, aflatoxina M<sub>1</sub> e aflatoxina B<sub>2a</sub> nas concentrações de 0,01 a 0,10 µg/kg; 0,01 a 0,03 µg/kg e 0,02 a 0,11 µg/kg, respectivamente. Os níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> e aflatoxina B<sub>2a</sub> foram ligeiramente maiores no albúmen, embora não foram observados resíduos detectáveis sete dias após a substituição da ração contaminada, por outra livre de aflatoxinas.

Em experimento realizado por OLIVEIRA et al. (2000), foram estudados durante 60 dias a excreção de aflatoxina B<sub>1</sub> em poedeiras alimentadas com rações contaminadas com 100; 300 e 500 µg/kg, sendo observados níveis detectáveis da toxina somente nas amostras provenientes do grupo que recebeu 500 µg/kg. Houve uma variação das concentrações de aflatoxina B<sub>1</sub> nos ovos de 0,05 a 0,16 µg/kg, apresentando a média de 0,10 µg/kg, resultando na taxa de conversão média de 5.000: 1. Na Tabela 6 podem ser

observadas as taxas de conversão obtidas a partir dos dados dos trabalhos citados.

Tabela 6. Taxas de conversão de aflatoxina B<sub>1</sub> na ração, para aflatoxina B<sub>1</sub> residual, em ovos de galinhas.

AFB <sub>1</sub> na Ração (µg/kg)	Período de Intoxicação (dias)	Taxa de Conversão <sup>a</sup>	Nível Médio Residual	Referência
100; 200 e 400	10 a 15	325	0,72	JACOBSON & WISEMAN (1974)
3.000;5.000 e 10.000 <sup>b</sup>	56	125.000	0,05	LOTZSCH & LEISTNER (1976)
8.000	7	40.000	0,20	TRUCKSESS et al. (1983)
3.310	28	66.200	0,05	WOLZAK et al. (1985)
500 <sup>c</sup>	56	5.000	0,10	OLIVEIRA et al. (2000)

<sup>a</sup> Nível médio de AFB<sub>1</sub> na ração dividido pelo nível médio de AFB<sub>1</sub> residual no produto.

<sup>b</sup> níveis de 40; 100 e 1.000 µg/kg, utilizados no estudo, não originaram resíduos detectáveis.

<sup>c</sup> Níveis de 100 e 300 µg/kg, utilizados no estudo, não originaram resíduos detectáveis.

Os dados referentes à excreção de resíduos de aflatoxinas em ovos de codornas, são bastante escassos. Em trabalho de BINTVIHOK et al. (1993), os autores forneceram rações para codornas contendo aflatoxina B<sub>1</sub> nos níveis de 50 a 200 µg/kg, por um período de 12 semanas, e observaram a toxina nos ovos em concentrações abaixo de 0,01 µg/kg. Foi utilizado pelos autores, o método de imunoenensaio (ELISA) para a análise de aflatoxina B<sub>1</sub> nos ovos, não sendo relatada a ocorrência de outros metabólitos da toxina.

OLIVEIRA (2001) realizou estudo com codornas fornecendo rações contaminadas por aflatoxina B<sub>1</sub> nos níveis de 25, 50 e 100 µg/kg durante 168 dias, coletando os ovos para análises nos primeiros 90 dias. O autor observou a excreção de resíduos em amostras de todos os grupos alimentados com aflatoxina B<sub>1</sub>, obtendo a conversão média de 1.875:1 para aflatoxina B<sub>1</sub>; 579: 1 para aflatoxina M<sub>1</sub>; 4.583:1 para aflatoxicol (R<sub>0</sub>) e 861:1 para Aflatoxina B<sub>2a</sub>.

Em relação a ovos de galinhas para consumo, STOLOFF & TRUCKSESS (1978) encontraram somente uma amostra contendo 0,06 µg/kg, de um total de 112 amostras coletadas em estabelecimentos comerciais de estados do sul dos Estados Unidos. O único levantamento disponível efetuado no Brasil, por FRAGA et al. (1996), de 120 amostras coletadas, foram encontradas duas amostras de ovos de galinhas contendo os níveis de 2,0 e 5,0 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub>, sendo esses valores considerados bastante elevados.

Têm-se estudado a excreção de aflatoxinas em produtos de origem animal, com bastante interesse em vacas produtoras de leite, já que o leite é o alimento mais vulnerável para a concentração dos resíduos de aflatoxinas. OLIVEIRA (2001) relata que em experimentos realizados por KIERMEIER et al. (1975), os autores observaram que a concentração de aflatoxina M<sub>1</sub> no leite pode ter ampla variação de um animal para outro, e mesmo de uma fase de lactação para outra.

No Brasil, os dados referentes a incidência de aflatoxina M<sub>1</sub> no leite são escassos. Em pesquisas de SABINO et al. (1989b), onde foram analisadas amostras de leite coletadas de fazendas do Vale do Paraíba, foi detectado aflatoxina M<sub>1</sub> em 18% das amostras, com concentração entre 0,10 a 1,68 µg/L, mas em 100 amostras de leite comercial pasteurizado, coletadas no estado de São Paulo, observaram apenas uma amostra positiva, com concentração de 0,20 µg/L. Os autores atribuíram os resultados encontrados devido a diluição da toxina, em decorrência da mistura do leite contaminado e sem contaminação, que ocorre durante o beneficiamento pelos laticínios.

Em experimento realizado por SYLOS et al. (1996), foram analisadas 52 amostras de leite pasteurizado em Campinas – SP, sendo encontradas 4 amostras contaminadas entre os níveis de 0,073 a 0,370 µg/L. OLIVEIRA et al. (1997), analisaram 300 amostras de leite em pó distribuído pelo programa de alimentação escolar pertencentes ao município de São Paulo, encontrando 11% de amostras positivas, com concentrações entre 0,10 a 1,00 µg/L.

De acordo com os trabalhos comentados acima, pode-se observar que a frequência da aflatoxina M<sub>1</sub> em nossas condições é pequena. Porém, os resultados obtidos em pesquisas por PRADO et al. (1999), mostram que a contaminação pode atingir níveis bastante elevados, pois foram observadas 82% de amostras positivas em leite pasteurizado, no estado de Minas Gerais. Os autores consideraram a alta porcentagem de amostras positivas, como resultado de técnicas mais sensíveis atualmente disponíveis, utilizadas na extração, purificação e quantificação da aflatoxina M<sub>1</sub> em amostras de leite.

Em virtude dos riscos decorrentes da aflatoxina M<sub>1</sub> em leite e derivados, considerando que esses produtos são amplamente consumidos pelo homem,

principalmente como constituinte básico da alimentação infantil, vários países estabeleceram limites máximos de tolerância. Países membros do Mercado Comum do Cone Sul, inclusive o Brasil (MERCOSUL, 1994), e os Estados Unidos (STOLOFF et al., 1991), estabeleceram o limite de 0,5 µg/L para o leite líquido, ao passo que os países da União Européia estabeleceram o limite de 0,05 µg/L para este produto (CE, 1998).

## 1.7 Legislação sobre micotoxinas

### 1.7.1 Brasil – alimentos para consumo humano

Ministério da Saúde: Resolução RDC nº 274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002, publicada no Diário Oficial da União, de 16/10/2002:

- Amendoim (com casca, descascado, cru ou tostado), pasta de amendoim (pasta de amendoim ou manteiga de amendoim): aflatoxinas  $B_1+B_2+G_1+G_2 = 20\mu\text{g}/\text{kg}$ .
- Milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído, farinhas e sêmolas): aflatoxinas  $B_1+B_2+G_1+G_2 = 20\mu\text{g}/\text{kg}$ .
- Leite fluido: aflatoxina  $M_1 = 0,5\ \mu\text{g}/\text{L}$ .
- Leite em pó: aflatoxina  $M_1 = 5,0\ \mu\text{g}/\text{L}$ .

Ministério da Agricultura Portaria MAARA nº 183 de 21 de março de 1996, publicada no diário Oficial da União de 25 de março de 1996, Seção I, página 4929: aflatoxinas  $B_1+B_2+G_1+G_2 = 20\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Obs: esta portaria tornou internas as normas do MERCOSUL GMC/RES. Nº 56/94.

#### 1.7.1.1 Alimentos para consumo animal: matérias-primas e rações

Ministério da Agricultura Portaria MA/SNAD/ SFA nº 07, de 09/11/1988, publicada no Diário Oficial da União em 09 de novembro de 1988, Seção I, página 21.968, 1988:

Para qualquer matéria-prima utilizada diretamente ou como ingrediente para rações destinadas ao consumo animal: aflatoxinas (máximo) = 50 µg/kg.

Obs: O MA não especifica quais metabólitos, mas deduz-se que seja a somatória de B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>. O limite é válido para todo e qualquer produto, seja para alimentação direta ou como ingrediente para rações.

### 1.7.2 Mercosul

Legislação comum a todos os integrantes - GMC RES/ nº 56/94:

- Leite fluido: aflatoxina M<sub>1</sub> = 0,5 µg/L
- Leite em pó aflatoxina M<sub>1</sub> = 5,0 µg/L
- Milho em grão: aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub> = 20µg/kg.
- Farelo de milho: aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub> = 20µg/kg.
- Amendoim em casca e descascado, cru ou torrado: aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub> = 20µg/kg.
- Pastas, cremes e manteiga de amendoim: aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub> = 20µg/kg.

Fonte: FONSECA (2003).

### 1.8 Considerações sobre a produção de ovos de codornas no Brasil

A codorna doméstica caracteriza-se pelo tamanho pequeno, sendo bastante semelhante a codorna selvagem brasileira, porém de menor porte e com pequenas diferenças. Pertence à família dos fasianídeos (*Phasianidae*) e à sub-família *Perdicinae*, sendo a menor ave de seu grupo (INSTITUTO CAMPINEIRO DE ENSINO AGRÍCOLA, 1985). A criação doméstica de codornas iniciou-se no século XI, com a introdução da espécie *Coturnix coturnix* ao Japão e China. Mas, somente à partir de 1910, após vários cruzamentos, pesquisadores chineses e japoneses conseguiram obter a espécie domesticada, a qual recebeu a denominação de *Coturnix coturnix japonica* (VIEIRA, 1987).

A produção de ovos de codornas em grande escala é uma importante contribuição para aumentar a oferta de alimentos de alto valor proteico, tendo em vista a precocidade e a elevada produtividade apresentada pela espécie. O consumo diário de ração é de aproximadamente 26 g/ave, sendo que os ovos possuem o peso variando entre 10 e 11 g (MURAKAMI, 1991).

A criação de codornas de postura no Brasil, concentra-se principalmente na região Sudeste, com aproximadamente 70% da produção nacional, particularmente no estado de São Paulo. Estima-se em cerca de 6 milhões, o número de aves no país, com produção média de 4,8 milhões de ovos/dia (REVISTA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA, 1999). Porém, esta produção é considerada inferior em relação ao potencial de mercado estimado para o produto.

O consumo de ovos de codornas é menor do que o de galinhas, mas, nota-se um grande interesse por parte dos consumidores, devido possivelmente às qualidades nutricionais do produto. O ovo de codorna é constituído por 14% de proteínas, 11% de gorduras e 3,2% de minerais, apresentando elevado teor de fosfolipídeos, principalmente a lecitina (REVISTA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA, 1999). As principais maneiras de se preparar os ovos para a alimentação humana, incluem o cozimento para consumo posterior, especialmente por crianças, ou na forma de aperitivo, bem como frituras, confeccionado-se omeletes, ou também a utilização do produto como ingrediente na composição de patês e maioneses.

No Brasil, a atividade de produção de ovos de codornas, tem se profissionalizado bastante nos últimos anos, reforçando a importância do estudo dos fatores que afetam a produtividade desta espécie e a qualidade dos ovos, destacando-se as micotoxinas.

Ainda existem poucos dados disponíveis na literatura sobre as prováveis taxas de excreção de micotoxinas nos ovos de codornas. Por outro lado, os órgãos de saúde ressaltam a necessidade de estudos que avaliem a transmissão de resíduos de micotoxinas em produtos de origem animal, para melhor se avaliar a importância destes alimentos como via de exposição humana às toxinas (KUIPER-GOODMAN, 1999).



Em função das aflatoxinas serem consideradas um importante agente carcinogênico, sendo um problema de saúde pública, acarretando danos à saúde dos animais, a combinação de mais de uma micotoxina poder ocasionar um sinergismo provocando danos mais acentuados, com consequentes prejuízos econômicos, foi desenvolvida esta pesquisa, cujo tema foi tratado em três capítulos, 2, 3 e 4 da presente tese:

O capítulo 2, avaliou os parâmetros zootécnicos, denominado ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS SOBRE OS INDICES DE DESEMPENHO DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na revista CIÊNCIA RURAL. Teve como objetivos avaliar os parâmetros de consumo de ração, porcentagem de postura, peso médio dos ovos, massa de ovos, conversão alimentar/massa de ovos, conversão alimentar/dúzia de ovos, variação de peso corporal, aos 28 e 56 dias de experimento.

O capítulo 3, denominado ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS E SEU EFEITO SOBRE A QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na revista CIÊNCIA RURAL. Teve como objetivos avaliar a qualidade dos ovos produzidos aos 28 e 56 dias de experimento, adotando-se as seguintes variáveis: gravidade específica, unidade Haugh, porcentagem de casca e analisar possíveis resíduos de toxinas nos ovos.

O capítulo 4, denominado ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS E SEU EFEITO SOBRE CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE CODORNAS JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na revista CIÊNCIA RURAL. Teve como objetivos avaliar o peso relativo (g/100g) e possíveis alterações macroscópicas em fígado, baço, moela e rins; fazer análises histopatológicas a fim de verificar possíveis lesões microscópicas nessas vísceras, aos 28 e 56 dias de experimento.

## 1.9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. P. N. de. **Presença de aflatoxina B<sub>1</sub> em milho comercializado para arraçamento animal e seu efeito no desempenho de codornas em postura.** Botucatu, 2001. 116 p. (Dissertação de Mestrado em Zootecnia) Curso de Pós-graduação em Zootecnia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu.

AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology.** CRC Press, 1997. 539 p.

ASPLIN, F. D.; CARNAGHAN, R. B. A. The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens. **Veterinary Record**, London, v. 73, n. 46, p. 1215-1219, 1961.

BALDISSERA, M. A.; SANTURIO, J. M.; CANTO, S. H.; PRANKE, P. H.; ALMEIDA, C. A. A.; SCHIMIDT, C. Aflatoxinas, ocratoxina e zearalenona em alimentos para consumo animal no sul do Brasil: parte II. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 53, p. 5-10, 1993.

BIEHL, M. L.; BUCK, W. B. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. **Journal of Food Protection**, v. 50, p. 1058-1073, 1987.

BINTVIHOK, A.; THIENGININ, S.; PATCHIMASIRI, T.; THUMMABOOD, S.; SHOYA, S.; OGURA, Y.; KUMAGAI, S.; DOI, K.; INGGANINUN, P.; POOMVISES, P. Toxic effects of dietary aflatoxin and its residues in tissues and eggs in laying quails. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE WORLD ASSOCIATION OF VETERINARY FOOD HYGIENISTS, 11, Bangkok, 1993. **Proceedings...** p. 299-307.

BOENKE, A. A robust analytical processes for mycotoxins: the backbone of measurement strategies and risk analysis framework for food safety. In: KOE, W. J.; SAMSON, R. A.; VAN EGMOND, H. P.; GILBERT, J.; SABINO, M. (Ed.). **Mycotoxins an phycotoxins in perspective at the turn of the millenium.** Wageningen, The Netherlands: W. J. de Koe, 2001. p. 57-68.

BOSCH, F. X.; PEERS, F. Aflatoxins: data on human carcinogenic risk. In: O'NEILL, I. K., CHEN, J., BARTSCH, H. (Eds.) Relevance to human cancer of N-nitroso compounds, tobacco smoke and mycotoxins. Lyon: **International Animal Research Council**, 1991. p. 48-53. (IARC Scientific publications, 105).

BRUCE, R. D. Risk assessment for aflatoxin. II. Implications of human epidemiology data. **Risk Analysis**, v. 10, p. 561-569, 1990.

BUTLER, W. H.; BARNES, J. M. Toxic effects of groundnut meal containing aflatoxin to rats and guinea pigs. **Brasilian Journal of Cancer**, v. 17, p. 671-699, 1963.

[CE] COMUNIDADES EUROPÉIAS. **Regulamento CE nº 1525/98**. Jornal Oficial das comunidades Européias, 1998. (Diretiva das Comunidades Européias).

CHANG, C. F.; HAMILTON, P. B. Experimental aflatoxicosis in young japanese quail. **Poultry Science**, Champaign v. 61, p. 869-874, 1982.

CHU, F. S. Mycotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenic potential and preventive measures. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 259: p. 291-306, 1991.

COULOMBE, R. A. Aflatoxins. In: SHARMA, R.P.; SALUNKHE, D.H. (Ed.). **Mycotoxins and phytoalexins**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 103-143.

DIENER, U. L.; ASQUITH, R. L.; DICKENS, J. W. **Aflatoxin and aspergillus flavus in corn**. Alabama: Department of Research Information, Alabama Agricultural Experimental Station, Auburn University, Southern Cooperative, 1983. 112 p.

DIXON, R. C.; HAMILTON, P. B. Evaluation of some organic acids as mold inhibitors by measuring CO<sub>2</sub> production from feed and ingredients. **Poultry Science**, Champaign, v. 60, p. 2183-2188, 1981.

DOERR, J. A.; HUFF, W. E.; WABECK, G. W. Effects of low chronic aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 62, p. 1971-1977, 1983.

ESPADA, Y.; DOMINGO, M.; GOMEZ, J.; CALVO, M. A. Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin B<sub>1</sub> in broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, v. 53, p. 275-279, 1992.

FITZPATRICK, D. W. Mycotoxins in the food chain: nutritional and toxicological considerations. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, Ottawa, v. 68, p. 979-981, 1990.

FONSECA, H. **Legislação sobre micotoxinas**. Capturado em 22 mai. 2003. On line. Disponível na Internet <http://www.micotoxinas.com.br/legisla.html>.

FRAGA, M. E.; DIREITO, G. M.; SANTANA, D. M. N.; BARROS, G. C.; ROSA, C. A. R. Determinação por cromatografia em camada delgada de aflatoxinas (B<sub>1</sub> e M<sub>1</sub>) e aflatoxicol em ovos destinados ao comércio. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 18, p. 172-175, 1996.

FREMY, J. M.; CHU, F. S. Immunochemical methods of analysis for aflatoxin M<sub>1</sub>. In: VAN EGMOND, H. P. (Ed.). **Mycotoxins in dairy products**. London: Elsevier, 1989. p. 97-125.

GARNER, R. C.; DVORACKOVA, I.; TURSI, F. Immunoassay procedures to detect exposure to aflatoxin B<sub>1</sub> and benzo(a)pyrene in animals and man at the

DNA level. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 60, p. 145-150, 1988.

GOLD, L. S.; SAWYER, C. B.; MAGAW, R. A; BLACKMAN, G. M.; DE VECIANA, M.; LEVINSON, R.; HOOPER, N. K.; HAVENDER, W. R.; BERNSTEIN, L.; PETO, R.; PIKE, M. C.; AMES, B. N. A carcinogenic potency database of the standardized results of animal bioassays. **Environment Health Perspective**, Washington, v. 58, p. 9-322, 1984.

GORELICK, N. J. Risk assessment for aflatoxin. I. metabolism of aflatoxin B<sub>1</sub> by different species. **Risk Analysis**, v. 10, p. 539-559, 1990.

HENDRICKSE, R. G. Kwashiorkor: the hypothesis that incriminates aflatoxins. **Pediatrics**, Elk Grove Village, v. 88, p. 376-379, 1991.

HYGINO DA CRUZ, L. C. Micotoxinas: são tão importantes? In: **Micotoxinas: perspectiva latino-americana: seropédica**. UFRJ, 1996. p. 1-12.

INSTITUTO CAMPINEIRO DE ENSINO AGRÍCOLA. **Curso de avicultura**. 5. ed. Campinas: ICEA, 1985.

[IARC] INTERNACIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs volumes 1 to 2. Lyon: **World Health Organization**, 1987. p. 83-87. (IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, supplement 7).

JACOB, W. C.; WISEMAN, H. G. The transmission of aflatoxin B<sub>1</sub> into eggs. **Poultry Science**, Champaign, v. 53, p. 1743-1745, 1974.

JAIMEZ, J.; FENTE, C. A.; VAZQUEZ, B. I.; FRANCO, C. M.; CEPEDA, A.; MAHUZIER, G.; PROGNON, P. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 882, p. 1-10, 2000.

JONES, F. T.; HAGLER, W. H.; HAMILTON, P. B. Association of low levels of aflatoxin in feed with productivity losses in broiler operations. **Poultry Science**, Champaign, v. 61, p. 861-868, 1982.

KEEHN, D. M.; FRANK STROMBORG, M. A worldwide perspective on the epidemiology and primary prevention of liver cancer. **Cancer Nurs.**, v. 14, p. 163-174, 1991.

KIERMEIER, F.; REINHARDT, V.; BEHRINGER, G. Zum vorkommen von aflatoxinen in rohmilch. **Deutsche Lebensmittel Rundschau**, v. 71, p. 35-38, 1975.

KUBENA, L. F.; EDRINGSTON, T. S.; KAMPS-HOLTZAPPLE; HARVEY, R. B.; ELISSALDE, M. H.; ROTTINGHAUS, G. E. Effects of feeding fumonisin B<sub>1</sub> present in *Fusarium moniliforme* culture material and aflatoxin singly and in

combination to turkey poult. **Poultry Science**, Champaign v. 74, p. 1295-1303, 1995.

KUIPER-GOODMAN, T. Risk assessment to humans of mycotoxins in animal-derived food products. **Veterinary Human Toxicology**, v. 33, p. 325-333, 1991.

KUIPER-GOODMAN, T. Approaches to risk analysis of mycotoxins in the food supply. In: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Preventing mycotoxin contamination**. Rome, 1999. p. 10-15. (FAO food and Nutrition Paper, 23).

LARBIER, M.; LECLERCQ, B. **Nutrition and feeding of poultry**, Loughborough: Nottingham University, 1992. 305 p.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2. ed. Curitiba: do Autor, 1997. 148 p.

LEESON, S.; DIAZ, G. J.; SUMMERS, J. D. **Poultry metabolic disorders and mycotoxins**. Guelph: University Books, 1995. 352 p.

LÖTZSCH, R.; LEISTNER, L. Aflatoxin-Rückstände in Hühnereiern und Eiprodukten. **Fleischwirtschaft**, v. 12, p. 1777-1785, 1976.

LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. Biotechnology in the feed industry. In: ALLTECH'S SYMPOSIUM, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham, 1997. p. 205-215.

[MERCOSUL] MERCADO COMUM DO CONE SUL. **Regulamento técnico sobre limites máximo de aflatoxinas**. Resolução n. 56/94, 1994. (Publicação avulsa MERCOSUL).

MICCO, C.; MIRAGLIA, M.; ONORI, R.; BRERA, C.; MANTOVANI, A. L.; IOPPOLO, A.; STASOLLA, D. Long term administration of low doses of mycotoxins to poultry: 1. residues of aflatoxin B<sub>1</sub> and its metabolites in broilers and laying hens. **Food Additives and Contaminants**, Londres, v. 5, p. 303-308, 1988.

MOLIN, R.; VALENTINI, M. L. **Simpósio sobre micotoxinas em grãos**. São Paulo: Fundação Cargill, Fundação ABC, 1999. 208 p.

MOREIRA, J. **Efeito do selênio e aflatoxinas sobre o desempenho e a atividade de oxidase e transferase em frangos de corte normais e ascíticos**. Lavras, 2000. 110 p. (Dissertação de Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras.

MOSS, M. O. Recent studies of mycotoxins. **Journal applied Microbiology Symposium**, v. 84, p. 62S-76S, 1998.

MÜLLER, R. D.; CARLSON, C. W.; SEMENIUK, G.; HARSHFIELD, G. S. The response of chicks, ducklings, goslings, pheasants and poult to graded levels of aflatoxin. **Poultry Science**, Champaign v. 49, p. 1346-1350, 1970.

MURAKAMI, A. E. **Níveis de proteína e energia em dietas de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) nas fases de crescimento e postura**. Jaboticabal, 1991. (Tese de Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal.

NICHOLS, T. E. Economic Impact of aflatoxin in corn. In: DIENER, V. L. (Ed.). **Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn**. Auburn: Auburn University; Alabama: Department of Research Information, Alabama Agricultural Experiment Station, 1983. 67p. (Bulletin, 279).

OBIOCHA, W.I.; STAHR, H. M.; KRAFT, A. A. Distribution and effects of aflatoxin in chicken tissues after feeding radiolabeled (<sup>14</sup>C) aflatoxin B<sub>1</sub>. **Journal of Food Protection**, v. 49, p. 799-805, 1986.

OLIVEIRA, C. A. F. **Aflatoxina M1 em leite em pó distribuído pelo programa de alimentação escolar no município de São Paulo, SP-Brasil: utilização do ensaio por enzimas imuno-adsorvidas (Elisa)**. São Paulo, 1994. 95 p. (Tese de Doutorado em Saúde Pública). Curso de Pós-graduação em Saúde Pública, Faculdade de Saúde Pública de São Paulo. Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Avaliação do desempenho do método do ensaio por enzimas imuno-adsorvidas (ELISA) em amostras de leite em pó reconstituído contaminado experimentalmente com aflatoxina M<sub>1</sub>. **Revista Saúde Pública**, v. 30, p. 542-548, 1996.

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M.; BIRD, C.; PINTO, C. A. Immunochemical assessment of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk powder consumed by infants in São Paulo, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, Londres, v. 14, p. 7-10, 1997.

OLIVEIRA, C. A. F.; KOBASHIGAWA, E.; REIS, T. A.; MESTIERI, L.; ALBUQUERQUE, R.; CORREA, B. Aflatoxin B<sub>1</sub> residues in eggs of laying hens fed a diet containing different levels of the mycotoxin. **Food Additives and Contaminants**, Londres, v. 17, p. 459-462, 2000.

OLIVEIRA, C. A. F. **Efeito da intoxicação prolongada por aflatoxina B<sub>1</sub> em codornas japoneses (*coturnix coturnix japonica*)**. São Paulo, 2001. 101 p. (Tese de Livre Docência em Zootecnia). Curso de Pós-graduação em zootecnia, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Zootecnia. Universidade de São Paulo.

OLUBUYIDE, I. O. The natural history of primary liver cell carcinoma: a study of 89 untreated adult Nigerians. **Central African Journal of Medicine**, v. 38, p. 25-30, 1992.

[OPAS] ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Micotoxinas**. Washington, 1983. p.125-135. (Crêterios de Salud Ambiental, 11).

OSWEILER, G. D. Mycotoxins and livestock: what role do fungal toxins play in illness and production losses?. **Veterinary Medicine**, Prague, v. 85, p. 89-94, 1990.

PARK, D. L.; POHLAND, A. E. A rationale for the control of aflatoxin in animal feeds. In: STEYN, P. S.; VLEGGAR, R. (Ed.). **Mycotoxins and Phycotoxins**, Amsterdam: Elsevier, 1986. p. 473-482.

PARKIN, D. M.; STJERNWARD, J.; MUIR, C. S. Estimates of the worldwide frequency of twelve major cancers. **Bull. World Health Organization**, Geneva, v. 62, p. 163-182, 1984.

PASTER, N. A commercial scale study of the efficiency of propionic acid and calcium propionate as fungistats in poultry feeds. **Poultry Science**, Champaign, v. 58, p. 572-576, 1979.

PESTKA, J. J.; BONDY, G. S. Alteration of immune function following dietary mycotoxin exposure. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 68, p. 1009-1016, 1990.

PIER, A. C. Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 3964-3967, 1992.

POZZI, C. R. **Efeitos da administra o oral prolongada de fumonisina B<sub>1</sub> e aflatoxina B<sub>1</sub> em ratos (*Rattus norvegicus*)**. São Paulo, 2000. 118 p. (Tese de Doutorado). Instituto de Bioc ncias, Universidade de São Paulo.

PRADO, G.; VIEIRA, M. B. C. M.; SANTOS, J. P., OLIVEIRA, M. S.. Ocorrência de micotoxinas em milho pós-colheita e armazenado do Estado de Minas Gerais, safra 1991. **Higiene Alimentar**, Campinas, v. 9, n. 35, p. 24-27, 1995.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; ABRANTES, F. M.; SANTOS, L. G.; SOARES, C. R.; VELOSO, T. Ocorrência de aflatoxina M<sub>1</sub> em leite consumido na cidade de Belo Horizonte – Minas Gerais/Brasil – agosto/98 a abril/99. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 19, p. 420-423, 1999.

PRZYBYLSKY, W. Formation of aflatoxin derivatives on thin layer chromatographoplates. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v. 58, p. 163-165, 1975.

REED, J. D.; KASALI, O. B. Hazards to livestock of consuming aflatoxin – contaminated groundnut meal in África. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON AFLATOXIN CONTAMINATION OF GROUNDNUT, 1987, Patancheru, India. **Summary and recommendations...** Patancheru: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1988. p. 7.

REVISTA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA. São Paulo: Escala, v. 1, n. 4, 1999.

RIBEIRO, J. M. M.; ROSA, C. A. R.; CURVELLO, F. A.; FRAGA, M. E. Toxigenic mycoflora and mycotoxins (aflatoxin and ochratoxin A) in poultry feed in Rio de Janeiro, Brazil. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 10., Guarujá, 2000. **Abstract Book**. p. 133.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Occurrence of mycotoxins and mycotoxin-producing fungi in Latin America. In: KOE, W. J.; SAMSON, R.A.; VAN EGMOND, H. P.; GILBERT, J.; SABINO (Ed.). **Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of the millenium**. Wageningen, The Netherlands: W. J. de Koe, 2001. p. 309-320.

ROTHSCHILD, L. J.. IARC classes AFB<sub>1</sub> as class 1 human carcinogen. **Food Chemical News**, v. 34, p. 62-66, 1992.

SABINO, M. Variações de níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 40, p. 153-158, 1980.

SABINO, M.; PRADO, G.; COLEN, G. Ocorrência de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em milho de Minas Gerais: parte I. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 46, p. 65-71, 1986.

SABINO, M.; LAMARDO, L. C. A.; INOMATA E. I.; ICHIKAWA, A. H.; GIANNATTASIO, C. M. P. Ocorrência de aflatoxina B<sub>1</sub> em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no estado de São Paulo e em várias regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 48, p. 81-85, 1988.

SABINO, M.; PRADO, G.; INOMATA, E. I.; PEDROSO, M. O.; GARCIA, R. V. Natural occurrence of aflatoxins in maize in Brasil: part. II. **Food Additive and Contaminants**, London, v. 6, p. 327-331, 1989a.

SABINO, M.; PURCHIO, A.; ZORZETTO, A. P. Variations in the level of aflatoxin in cows milk consumed in the city of São Paulo, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, Londres, v. 6, p. 321-326, 1989b.

SABINO, M. **Aflatoxinas B<sub>1</sub>, M<sub>1</sub> e aflatoxicol: extração**, caracterização em tecidos e urina. São Paulo, 1990. (Tese de Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

SABINO, M.; RODRIGUES-AMAYA, D. B. Mycotoxin research in Brazil. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 45, p. 359-371, 1993.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; ZANELLA, I.; MAGON, L. Micotoxinas do *Fusarium spp* na avicultura comercial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 185-190, 2001.



SANTURIO, J. M.; BALDISSERA, M. A.; ALMEIDA, C. A. A.; AHMAD, S. H. E.; PRANKE, D. H. L.; HEINRICH, C. M. ZANANDREA, S. Aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em grãos destinadas ao consumo animal no sul do Brasil. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS, 7., São Paulo, 1992. **Anais...** p. 14.

SANTURIO, J. M. Antifúngicos e adsorventes de aflatoxinas em grãos: quando usá-los? In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES. Campinas. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1995. p. 97-108.

SANTURIO, J. M. Impacto das aflatoxinas sobre a produção animal. Perspectiva Latino-americana. In: CONFERÊNCIA APINCO 97 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA. 1996. Campinas. **Anais...** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1996. p. 149-56.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas na produtividade avícola: tipos; seus efeitos; como detectá-las e preveni-las. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1997. Campinas. **Anais...** p. 224-257.

SCOTT, P. M. Natural poisons. In: HELRICH, K. (Ed.). **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 15 ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1990. v. 2, p. 1184-1213.

SCUSSEL V. M. Hepato-cellular carcinoma and hepatic disease to consumption of food contaminated by aflatoxin B<sub>1</sub> in Santa Catarina state. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXIN AND PHYCOTOXIN, 10., 2000, Guarujá. **Anais...** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2000. p. 86-88.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144 p.

SHANE, S. M. Micotoxinas são empecilhos para uma produção eficiente em avicultura. **Feeding Times**, v. 4, n. 3, p. 6-8, 1999.

SHURTLEFF, M. C. **Compendium of corn diseases**. The American Phytopathological Society, 1992. 105 p.

SILVA, J. B.; POZZI, C. R.; MALOZZI, M. A. B.; ORTEGA, E. M.; CORRÊA, B. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B<sub>1</sub> and fumonisin B<sub>1</sub> in stored brazilian sorghum. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 10., Guarujá, 2000. **Abstract Book**. p. 145.

SMITH, K. M. Disease of Turkey poults. **Veterinary Record**, London, v. 72, n. 32, p. 652, 1960.

SMITH, J. E.; HENDERSON, R. S. **Mycotoxins and animal foods**. Athens: CRC, 1991. 108 p.

STEVENS, A. J.; SAUNDERS, C. N.; SPENCE, J. B., NEWHAM, A. C.. Investigations into "diseases" of turkey poults. **Veterinary Record**, London, v. 72, n. 31, p. 627-628, 1960.

STOLOFF, L. Carcinogenicity of aflatoxins. **Science**, Washington, v. 237, p. 1283-1284, 1987.

STOLOFF, L.; PARK, D. L.; VAN EGMOND, H. P. Rationales for the establishments of limits and regulations for mycotoxins. **Food Additives and Contaminants**, Londres, v. 8, p. 213-221, 1991.

STOLOFF, L.; TRUCKSESS, M. W. Survey for aflatoxin B<sub>1</sub> in chicken eggs. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 61, p. 995-996, 1978.

STUBBLEFIELD, R. D.; PIER, A. C.; RICHARD, J. L.; SHOWELL, O. L. Fate of aflatoxins in tissues, fluids and excrements from cows dosed with aflatoxin B<sub>1</sub>. **American Journal Veterinary Research**, v. 44, p. 1750-1752, 1983.

STUBBLEFIELD, R. D.; VAN EGMOND, H. P. Chromatographic methods of analysis for aflatoxin M<sub>1</sub>. In: VAN EGMOND, H. P. (Ed.). **Mycotoxins in dairy products**. London: Elsevier, 1989. p. 57-95.

SYLOS, C. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; CARVALHO, P. R. Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dairy products commercialized in Campinas, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, Londres, v. 13, p. 169-172, 1996.

TAMARES, F. Química de las arcillas. **Indústria Avícola**, Córdoba, v. 32, p. 20-22, 2000.

[TDRI] TROPICAL DEVELOPMENT AND RESEARCH INSTITUTE. **Mycotoxin training manual**. London: TDRI, 1984. 95 p.

TRUCKSESS, M. W.; STOLOFF, L.; YOUNG, K.; WYATT, R. D.; MILLER, B. L. Aflatoxicol and aflatoxins B<sub>1</sub> and M<sub>1</sub> in eggs and tissues of laying hens, consuming aflatoxin-contaminated feed. **Poultry Science**, Champaign, v. 62, p. 2176-2182, 1983.

TRUCKSESS, M. W. Rapid analysis (thin layer chromatographic and immunochemical methods) for mycotoxin in foods and feeds. In: KOE, W. J.; SAMSON, R. A.; VAN EGMOND, H. P.; GILBERT, J.; SABINO, M. (Ed.). **Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of the millennium**. Wageningen, The Netherlands: W. J. de Koe, 2001. p. 29-40.

VIEIRA, M. I. **Codorna doméstica**: muito ovo, ótima carne, bastante lucro. São Paulo: Nobel, 1987.

WOGAN, G. N. Aflatoxin carcinogenesis: interespecies potency differences and relevance for human risk assessment. **Program Clinical Biological Research**, New York, v. 374, p. 123-137, 1992.

WOLZAK, A.; PEARSON, A. M.; COLEMAN, T. H.; PESTKA, J. J.; GRAY, J. I. Aflatoxin deposition and clearance in the eggs of laying hens. **Food and Chemical Toxicology**, v. 23, p. 1057-1061, 1985.

WOOD, G. E. Aflatoxin M<sub>1</sub>. In: SHARMA, R.P.; SALUNKHE, D. K. (Ed.). **Mycotoxins and phytoalexins**. Boca Taron: CRC, 1991. p. 145-164.

YEH, F. S.; YU, M. C.; MO, C. C.; CHI-CHUN; LUO, S.; TONG, M. J.; HENDERSON, B. E. Hepatitis B virus, aflatoxins and hepatocellular carcinoma in Southern Guangxi, China. **Cancer Research**, v. 49, p. 2506-2509, 1989.

CAPÍTULO 2  
ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS SOBRE OS INDICES  
DE DESEMPENHO DE CODORNAS JAPONESAS  
UTILIZANDO-SE ADSORVENTE

## RESUMO

O trabalho foi desenvolvido nas instalações do Setor de Avicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga – SP, com o objetivo de avaliar os efeitos das micotoxinas sobre os parâmetros de desempenho (consumo de ração, porcentagem de postura, peso dos ovos, massa dos ovos, CA/massa, CA/dúzia e variação de peso) e o efeito protetor do adsorvente, em codornas japonesas em postura recebendo rações contaminadas com micotoxinas e suplementadas com adsorvente. Para isso foram utilizadas 576 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), com 15 semanas de idade e distribuídas em 36 gaiolas de área útil 1,00 m x 0,34 m x 0,19 m, com quatro compartimentos cada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com o esquema fatorial 3x2x2, com três níveis de inclusão de aflatoxinas (0, 1000 e 2000 µg/kg), dois níveis de inclusão de zearalenona (0 e 2000 µg/kg) e dois níveis de inclusão de adsorvente (0 e 0,1%), com três repetições de 16 aves em cada parcela. Os parâmetros foram avaliados no período de 28 e 56 dias, utilizando-se o SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000) e, foi utilizado o teste de Tukey pela ANOVA para comparação entre as médias, adotando-se o nível de rejeição de alfa igual a 0,05. No 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> períodos, (28 e 56 dias respectivamente), houve menor consumo de ração com 2000 µg/kg de aflatoxinas, com 26,48 g e 26,04 g; as menores porcentagens de postura foram com 2000 µg/kg de aflatoxinas com 81,11% e 76,87%, no 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> períodos, respectivamente; para o peso dos ovos ocorreu sinergismo entre aflatoxinas e zearalenona, com os menores pesos com 10,49 g e 10,48 g, no 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> períodos, respectivamente; para a massa de ovos a adição de 2000 µg/kg de aflatoxinas resultou em menor massa, com 8,64 e 8,07 g/ave/dia, no 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> períodos, respectivamente, sendo que o adsorvente não teve efeito sobre a zearalenona; para a CA/massa ocorreu sinergismo entre aflatoxinas e zearalenona, com piores resultados nos níveis máximos com 3,38 e 3,47 (g/g), no 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> períodos respectivamente, sendo que o adsorvente não teve efeito sobre a zearalenona apresentando na combinação os piores resultados (3,05 e 3,17), respectivamente; para a CA/dúzia ocorreu sinergismo entre aflatoxinas e

zearalenona, com piores resultados nos níveis máximos com 0,43 e 0,44 kg/dz, no 1º e 2º períodos respectivamente, sendo que o adsorvente não teve efeito sobre a zearalenona, apresentando na combinação os piores resultados (0,40 e 0,41), respectivamente; para a variação de peso, aos 56 dias, o grupo alimentado com 1000 µg/kg de aflatoxinas teve maior perda de peso, perdendo 5,38g, não diferindo do grupo com 2000 µg/kg de aflatoxinas. O nível de 2000 µg/kg de aflatoxinas provocou redução no consumo de ração, porcentagem de postura e massa de ovos, sendo que para a porcentagem de postura o adsorvente não teve efeito com o nível de zearalenona estudado. Para o peso dos ovos, CA/massa e CA/dúzia, ocorreu sinergismo entre aflatoxinas e zearalenona, potencializando os efeitos tóxicos. As aflatoxinas provocaram perda de peso nas aves e as micotoxinas causaram prejuízos no desempenho das aves.

Palavras chave: adsorvente, aflatoxinas, codornas, contaminação, rações, zearalenona.

### ABSTRACT

The work was developed in the poultry farming department of Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga – SP, with the objective of evaluating the effects of the mycotoxins on the performance parameter (feed consumption, laying percentage, egg weight, egg mass, feed gain/egg mass, feed gain/egg dozen and weight variation) and the protective effect of the adsorbent, in Japanese quails in laying receiving feed contaminated with mycotoxins and supplemented with adsorbent. For this work 576 Japanese quails were used (*Coturnix coturnix japonica*), with 15 weeks of age and distributed in 36 cages of an area of 1.00 m x 0.34 m x 0.19 m, with four compartment each. The experimental model used was entirely randomized with factorial 3x2x2, with three levels of aflatoxin inclusion (0, 1000 and 2000 µg/kg), two levels of zearalenone inclusion (0 and 2000 µg/kg) and two levels of adsorbent inclusion (0 and 0.1%), with three replicates of 16 birds in each cage. The parameters were evaluated on period of 28 and 56 days, through the SAS® (SAS Institute, 2000) and, the test of Tukey was used with ANOVA for

comparison among the means, being adopted the refusal level of  $\alpha = 0,05$ . In the 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> periods (28 and 56 days, respectively there was smaller feed consumption with 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of aflatoxins, with 26.48 g and 26.04 g, respectively; the smaller laying percentage were with 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of aflatoxins, with 81.11% and 76.87%, in the 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> periods, respectively; for the eggs weight synergism between aflatoxins and zearalenone was occurred, with the smaller weights with 10.49 g and 10.48 g, in the 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> periods, respectively; the addition of 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of aflatoxins resulted in smaller egg mass, with 8.64 and 8.07 g/bird/day, in the 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> periods, respectively, and the adsorbent didn't effect on the zearalenone; for the feed gain/ eggmass synergism between aflatoxins and zearalenone was occurred, with worse results in the maximum levels with 3.38 and 3.47 (g/g), in the 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> periods respectively, and the adsorbent didn't effect on the zearalenone presenting with worse results in the combination (3.05 and 3.17), respectively; for the feed gain/egg dozen synergism between aflatoxins and zearalenone was occurred, with worse results in the maximum levels with 0.43 and 0.44 kg/dz, in the 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> periods, respectively and the adsorbent didn't effect on the zearalenone presenting with worse results in the combination (0.40 and 0.41), respectively; for the weight variation, on the 56 day, the group fed with 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of aflatoxins had a larger weight loss losing 5.38g, not differing estatistically of the group with 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of aflatoxins. The level of 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of aflatoxins provoked reducing in the feed consumption, laying percentage and egg mass, and for the laying percentage the adsorbent didn't have effect with the level studied of zearalenone. For the egg weight feed gain/egg mass, feed gain/egg dozen it happened synergism between aflatoxins and zearalenone increasing the toxicant effect. The aflatoxins provoked weight loss in the birds and the mycotoxins caused damages on the performance of the birds.

Key words: adsorbent, aflatoxins, contamination, feed, quails, zearalenone.

## INTRODUÇÃO

As micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários, produzidos por fungos que contaminam as culturas no campo, no transporte e durante o armazenamento nos silos. Podem se desenvolver naturalmente nos produtos alimentícios que são destinados diretamente para o consumo animal ou humano, sendo capazes de originar uma ampla variedade de efeitos tóxicos em animais vertebrados, afetando sua saúde incluindo o homem (OPAS, 1983; PRADO et al, 1995).

As micotoxinas apresentam, grande estabilidade química, permitindo a sua persistência no alimento mesmo após a remoção dos fungos pelos processos normais de industrialização e embalagem (CHU, 1991).

A doença ou síndrome que resulta da ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas, denomina-se micotoxicose, podendo esta causar ao organismo humano ou animal diversos danos no crescimento, prejudicando o metabolismo do organismo, causando o desenvolvimento de tumores, podendo inclusive ocasionar a morte em alguns casos (FITZPATRICK, 1990; SCUSSEL, 1998). As micotoxicoses são caracterizadas por síndromes difusas, mas com predominância de lesões em determinados órgãos, como fígado, rins e sistema nervoso central, dependendo do tipo de toxina. Há também, a possibilidade de ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas, podendo ocasionar a potencialização de seus efeitos tóxicos sobre o organismo susceptível (KUBENA et al., 1995; POZZI, 2000).

Após a descoberta das aflatoxinas, no início dos anos 60, o conhecimento da ciência sobre as micotoxinas e seus danos sobre a saúde humana e animal cresceram significativamente. As aflatoxinas são produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, espécies *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (MOSS, 1998). Os principais alimentos que têm susceptibilidade ao desenvolvimento destes fungos são amendoim, milho e trigo, que comumente podem ser utilizados na formulação de rações para a avicultura (LEESON et al., 1995). O grupo de aflatoxinas compreende as toxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>, sendo as duas últimas encontradas primeiramente no leite, e derivadas de B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, (DIENER et al., 1983; LAZZARI, 1997).



Outro tipo de toxinas de ocorrência bastante comum são as toxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium*, cujos animais afetados por toxinas produzidas por esse fungo podem ser intoxicados por várias toxinas como a zearalenona, fumonisinas, tricotecenos (vomitoxina e T-2, entre outras), dependendo da temperatura a que for submetido o fungo. Os tricotecenos são um grupo de mais de cem micotoxinas produzidas por *Fusarium*, possuindo esse nome devido a possuírem estrutura química composta de um anel com esqueleto tetracíclico 12, 13-epoxitricotecenos (LAZZARI, 1997; SANTIN et al., 2001).

As condições predisponentes para que haja a contaminação dos grãos atacados é a presença de ferimentos, injúrias mecânicas, ataque de carunchos e gorgulhos, além da umidade e temperatura adequadas. As condições de armazenamento inadequadas como locais com pouca ventilação e úmidos, além de favorecerem a contaminação, também propiciam o desenvolvimento dos fungos em produtos já contaminados (CHU, 1991).

Segundo SHANE (1999) as glicomanas esterificadas são extraídas da parede celular de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) e atuam como adsorventes, sendo capazes de ligar-se de maneira eficiente a diversas micotoxinas, como aflatoxina, fumonisina e zearalenona, embora a ligação com toxina T-2, ocratoxina e citrinina seja moderada. Com uma inclusão de 0,05 a 0,10% em uma ração para aves contaminada com 20 a 200 µg/kg de aflatoxina, são capazes de restaurar o ganho de peso, viabilidade, produção de ovos e eclodibilidade.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das micotoxinas sobre os índices de desempenho (consumo de ração, porcentagem de postura, peso dos ovos, massa dos ovos, conversão alimentar/massa de ovos, conversão alimentar/dúzia de ovos e ganho de peso das aves) e o efeito protetor das glicomanas esterificadas, para codornas japonesas em postura recebendo rações contaminadas com micotoxinas e suplementadas com o adsorvente.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nas instalações do setor de Avicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, situado no Campus da Universidade de São Paulo, em Pirassununga – SP. Foram utilizadas 576 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), com 15 semanas de idade, adquiridas da Granja Piloto, no município de Sales de Oliveira – SP. As aves foram alojadas em um mesmo galpão, composto de 36 gaiolas metálicas comerciais sobrepostas em três andares, com as medidas internas de 1,00 x 0,34 x 0,19 m, com quatro compartimentos. Em cada gaiola foram alojadas 16 codornas. As gaiolas possuíam comedouros individuais lineares de chapa galvanizada e bebedouros tipo niple, sendo 4 por gaiola. Sob as gaiolas era colocado maravalha para receber as excretas, sendo esta substituída a cada sete dias.

Após a pesagem inicial, as aves foram colocadas nas gaiolas e distribuídas em 12 grupos experimentais com 3 repetições em cada grupo, totalizando 48 aves por grupo. O experimento teve início quando as aves atingiram o pico de produção, com 15 semanas de idade. As pesagens foram realizadas no início e no término do experimento, após 56 dias. No período experimental foram fornecidas 17 horas de luz por dia.

Durante o período pré experimental todas as aves, inclusive as do grupo controle, receberam ração convencional à base de milho e soja, suplementada pelo núcleo para codornas Poli-Macro<sup>®</sup> produzido pela empresa Poli-Nutri Alimentos Ltda, sem contaminação por aflatoxinas, cujos níveis de garantia por kg do produto e sua composição básica estão descritos abaixo da Tabela 1. As rações foram formuladas de acordo com as recomendações de GARCIA (2001) para que atender às exigências nutricionais de codornas em postura comercial.

Tabela 1: Composição percentual calculada da ração basal utilizada na preparação das dietas experimentais.

Ingrediente	Percentual
Milho Moído	52,500
Farelo de Soja	29,500
Calcário Calcítico	6,000
Poli-macro <sup>®</sup> codornas em produção*	12,000
Total	100,000

  

Níveis nutricionais calculados	
Energia Metabolizável, Kcal/kg	2.800
Proteína Bruta, %	20,000
Cálcio, %	3,500
Fósforo Total, %	0,600
Metionina + Cistina	0,700
Lisina, %	1,100

\* Níveis de garantia por kg do núcleo Poli-macro<sup>®</sup> codornas em produção: EM, 2840 Kcal; umidade máxima, 12,50%; proteína bruta mínima, 34%; extrato etéreo mínimo, 2,50%; fibra bruta máxima, 5,00%; matéria mineral máxima, 27%; cálcio máximo, 9,00%; fósforo mínimo, 2,90%.

\* Enriquecimento por kg do produto: Vitamina A, 83.340,00 UI; vitamina D3, 25.000,00 UI; vitamina E, 225,00 mg; vitamina K, 12,50 mg; vitamina B1, 16,70mg; vitamina B2, 60,00 mg; vitamina B6, 25,00 mg; vitamina B12, 125,00 mcg; niacina, 250,00 mg; pantotenato de cálcio, 110,00 mg; ácido fólico, 8,34 mg; cloreto de colina, 5,93 g; metionina, 8,50 g; lisina, 2,40 g; sódio, 10,20 g; ferro, 667,00 mg; cobre, 60,00 mg; manganês, 600 mg, zinco, 500,00 mg; iodo, 12,50 mg; selênio, 2,00 mg; antioxidante, 840,00 mg.

As soluções de aflatoxinas utilizadas para contaminação das rações, foram adquiridas do Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Esta micotoxina foi produzida por fermentação em arroz, utilizando-se a cepa NRRL 2999 – *Aspergillus parasiticus*. A concentração total de aflatoxinas neste produto foi de 945 mg/kg de arroz moído. Para a contaminação por zearalenona foi utilizado milho naturalmente contaminado.

A cada lote de 15 kg da ração completa, foram adicionadas as toxinas, nas devidas proporções, de forma a se obter na ração final 1000 e 2000 µg/kg de aflatoxinas. As toxinas foram adicionadas inicialmente ao milho na proporção de 1:10, até chegar a 10% da quantidade a ser preparada, ou seja, 1,5 kg, à partir daí a pré-mistura contendo as toxinas foi misturada com os outros ingredientes da ração. As rações contaminadas foram preparadas em ordem crescente de contaminação, sendo que após o final do preparo, fazia-se descontaminação do misturador, com solução de hidróxido de sódio a 10%, para posterior minuciosa lavagem com detergente alcalino e secagem em ambiente coberto e arejado por 24 horas.

Para a comprovação dos níveis de aflatoxinas nas rações prontas, realizou-se análise em 1 amostra da ração preparada contendo aflatoxinas. Essa amostra foi obtida pela soma de 6 sub-amostras de 300g cada, referentes a cada preparo de ração e misturadas em saco plástico, retirando-se 1 kg para fazer análise. Este procedimento foi realizado para todos os tratamentos. Foi utilizado o método descrito por SOARES e RODRIGUEZ-AMAYA (1989) sendo a quantificação efetuada através de cromatografia em camada delgada (CCD) com comparação visual das amostras com padrões de concentração conhecida.

Para os tratamentos que continham a zearalenona, as rações foram preparadas utilizando-se como substrato o milho naturalmente contaminado, com 3.500 µg/kg de zearalenona. Foi pesquisada a presença de outras toxinas como aflatoxinas e T-2, mas foram encontrados apenas traços.

O adsorvente (glicomanas esterificadas) foi adicionado na dosagem de 0,1%, primeiramente no milho na proporção de 1:10 e posteriormente no misturador com os outros ingredientes, analogamente como foi efetuado com as toxinas.

As rações foram contaminadas de acordo com o descrito na legenda:

T1 (controle), T2 (controle + 0,1% adsorvente), T3 (2000 µg/kg de zearalenona), T4 (2000 µg/kg zearalenona + 0,1% adsorvente), T5 (1000 µg/kg aflatoxinas), T6 (1000 µg/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente), T7 (1000 µg/kg aflatoxinas + 2000 µg/kg zearalenona), T8 (1000 µg/kg aflatoxinas + 2000 µg/kg zearalenona).

zearalenona + 0,1% adsorvente), T9 (2000 ug/kg aflatoxinas), T10 (2000 ug/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente), T11 (2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona), T12 (2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente).

As análises de comprovação das toxinas nas rações, foram feitas no Laboratório de Análises de Micotoxinas da Fundação Universidade do Rio Grande (RS), sendo que as amostras seguiram via correio devidamente embaladas e envoltas em papel picado e acondicionadas em caixa de papelão.

As amostras foram quantificadas através da comparação com padrões de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> e zearalenona respectivamente nas concentrações 22 µg/mL, 2,1 µg/mL, 5,36 µg/mL, 4,60 µg/mL e 54,5 µg/mL. Estes foram cromatografados nas placas em volumes crescentes até cobrirem a faixa de linearidade de fluorescência, sob luz UV longa (354 nm).

O limite de detecção do método de análise em rações é de 0,88 µg/kg para aflatoxinas, para zearalenona o limite é de 40 µg/kg; a porcentagem de recuperação para aflatoxina B<sub>1</sub> é de 92% e para zearalenona de 94%.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com o esquema fatorial 3x2x2, com três níveis de inclusão de aflatoxinas (0, 1000 e 2000 µg/kg), dois níveis de inclusão de zearalenona (0 e 2000 µg/kg) e dois níveis de inclusão de adsorvente (0 e 0,1%), com três repetições de 16 aves em cada parcela. Foi considerada como unidade experimental uma gaiola servida de comedouro individual, na qual foram alojadas 16 aves.

Para analisar os parâmetros de desempenho foi efetuada a avaliação no período de 1 a 28 e de 1 a 56 dias, adotando-se as variáveis: a) o consumo de ração, foi obtido semanalmente, dividindo-se a quantidade total de ração consumida pelo número de aves de cada gaiola; b) a produção de ovos, foi obtida semanalmente, dividindo-se o número de ovos pelo número de aves alojadas (para se obter a porcentagem de postura multiplicava-se o resultado por 100); c) o peso dos ovos foi obtido diariamente em cada unidade experimental; d) a massa de ovos foi calculada semanalmente pela fórmula: (peso médio de ovos x n° ovos em 7 dias)/(n° aves x 7 dias); a CA/massa de ovos foi calculada semanalmente pela fórmula: (g de ração consumida)/(g de

ovos produzidos); e) a CA/dúzia de ovos foi calculada semanalmente pela fórmula: (kg de ração consumida)(nº de dúzias de ovos); f) a variação de peso foi calculada aos 56 dias, subtraindo-se o valor do peso final do peso inicial.

A análise estatística dos resultados foi realizada em conformidade com os procedimentos estabelecidos na *General Linear Model do SAS*<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000), para que fosse feita a observação de diferenças estatisticamente significantes entre as médias das variáveis estudadas nos diversos tratamentos. Para a comparação entre os pares de médias, foi utilizado o teste de Tukey pela ANOVA, sendo adotado como nível de rejeição, alfa igual a 0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas médias no galpão variaram entre 20 a 28°C, e a umidade relativa média de 64 a 96% ou seja, dentro da faixa de conforto térmico para codornas de postura (VIEIRA, 1987).

Os resultados médios para os parâmetros de desempenho do experimento com codornas japonesas em postura nos períodos de 1 a 28 dias (1º período) e de 1 a 56 dias (2º período) são apresentados nas Tabelas 2 e 3. Os desdobramentos das interações são apresentados nas Tabelas 4, 5, 6 e 7.

Houve diferença estatisticamente significativa para consumo de ração, porcentagem de postura e massa de ovos, com menores valores, nos dois períodos do experimento, somente para o grupo alimentado com 2000 µg/kg de aflatoxinas. Esses resultados concordam com os observados por JOHRI et al. (1990) que estudaram a contaminação por aflatoxinas nos níveis de 0,0 a 750 µg/kg, e concluíram que para níveis acima de 200 µg/kg, houve menor consumo de ração e, para níveis acima de 500 µg/kg também houve menor porcentagem de postura. Em trabalho de SAWHNEY et al. (1973) foi fornecida 2000; 4000 e 6000 µg/kg de aflatoxinas para codornas, os autores também observaram diminuição significativa no consumo em relação ao grupo controle. Em estudo de OLIVEIRA (2001) com baixos níveis de aflatoxinas em codornas, durante seis períodos de postura, foi observado menor consumo à partir dos níveis de 50 µg/kg. Em estudo com frangos de corte de ARAVIND et al. (2003),

aves alimentadas com dieta naturalmente contaminada (168 µg/kg de aflatoxinas, 8,4 µg/kg de ocratoxinas, 54 µg/kg de zearalenona e 32 µg/kg de toxina T2), tiveram uma redução estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), em relação ao controle; mas quando foi adicionada a essa dieta 0,05% de glicomanas esterificadas, o consumo de ração não diferiu estatisticamente em relação ao grupo controle. Diferentemente do que foi encontrado neste trabalho, na qual teve diferença significativa no consumo somente o grupos que receberam aflatoxinas sem adição de adsorvente. Em experimento de BINTVIHOK et al. (1993) os autores observaram redução na porcentagem de postura em níveis de aflatoxinas acima de 50 µg/kg.

Tabela 2. Resultados médios de desempenho de codornas no período de 28 dias (1º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração.

	Variáveis <sup>1</sup>					
	CR., g	PO, %	Peso, g	Massa, g	CA/massa	CA/dúzia
<u>Aflatoxinas (ug/kg)</u>						
0	27,49 a	89,79 a	11,42	10,24 a	2,69	0,37
1000	27,52 a	89,20 a	10,92	9,74 a	2,84	0,37
2000	26,48 b	81,11 b	10,64	8,64 b	3,13	0,40
<u>Zearalenona (ug/kg)</u>						
0	27,13	88,51	11,09	9,82	2,78	0,37
2000	27,20	84,90	10,89	9,26	2,99	0,39
<u>Adsorvente (%)</u>						
0	27,25	86,46	10,97	9,49	2,90	0,38
0,1	27,08	86,95	11,01	9,59	2,88	0,38
CV (%)	2,93	5,68	1,49	5,83	6,49	6,65

<sup>1</sup> Consumo de ração (CR), porcentagem de postura (PO), peso dos ovos (Peso), massa de ovos (Massa), conversão alimentar por massa de ovos (CA/massa) e por dúzia de ovos (CA/dúzia);

<sup>a, b</sup> Médias na coluna dentro de cada fator seguidas de letras diferentes, diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

Tabela 3. Resultados médios de desempenho de codornas no período de 56 dias (2º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração.

	Variáveis <sup>1</sup>						
	CR, g	PO, %	Peso, g	Massa, g	CA/massa	CA/dúzia	PC, g
<u>Aflatoxinas (ug/kg)</u>							
0	27,92 a	87,03 a	11,39	9,91 a	2,84	0,39	-1,73 a
1000	27,20 a	84,85 a	10,75	9,13 b	3,01	0,39	-5,38 b
2000	26,04 b	76,87 b	10,49	8,07 c	3,29	0,41	-3,61 b
<u>Zearalenona (ug/kg)</u>							
0	26,94	83,75	10,92	9,17	2,99	0,39	-4,09
2000	27,17	82,08	10,84	8,91	3,11	0,40	-3,06
<u>Adsorvente (%)</u>							
0	27,04	82,08	10,87	8,94	3,07	0,40	-4,00
0,1	27,07	83,75	10,89	9,14	3,02	0,39	-3,15
CV (%)	3,32	6,48	1,30	6,65	6,59	6,03	3,90

<sup>1</sup> Consumo de ração (CR), porcentagem de postura (PO), peso dos ovos (Peso), massa de ovos (Massa), conversão alimentar por massa de ovos (CA/massa), por dúzia (CA/dúzia) e variação de peso corporal (PC) das aves;

<sup>a, b</sup> médias na coluna dentro de cada fator seguidas de letras diferentes, diferem entre si (P < 0,05).

Houve diferença estatisticamente significativa para a variação de peso, mensurada no 2º período, cuja perda de peso foi maior nos tratamentos que receberam aflatoxinas. Esses resultados de perda de peso devido as micotoxinas concordam com experimento de ARAVIND et al. (2003) com frangos de corte recebendo dieta naturalmente contaminada (168 µg/kg de aflatoxinas, 8,4 µg/kg de ocratoxinas, 54 µg/kg de zearalenona e 32 µg/kg de toxina T-2) sem adsorvente, os autores observaram uma redução significativa no peso (9,52%), em relação ao controle. Neste presente trabalho, pode-se constatar que a perda de peso ocorreu devido as aflatoxinas, já que as demais variáveis não tiveram diferença estatisticamente significativa. DOERR & OTTINGER (1980) observaram perdas de peso significativas devido as aflatoxinas, em codornas alimentadas com dietas contendo 5000 µg/kg de aflatoxinas, mas nenhum efeito adverso foi observado nas aves que receberam níveis de 1250 e 2500 µg/kg. Em experimento realizado por HYGINO DA CRUZ (1996) o autor observou que um dos sinais clínicos observados em animais após a ingestão de dietas contaminadas com aflatoxinas é a redução no ganho



de peso. Os resultados de variação de peso podem ser observados na Tabela 3.

No desdobramento da interação entre aflatoxinas e zearalenona, para o peso dos ovos, comparando-se os níveis de aflatoxinas (0, 1000 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem zearalenona, o peso foi estatisticamente menor no 1º período, somente com o nível de 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas e, no 2º período à partir de 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Na comparação entre os níveis de aflatoxinas com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona, o peso foi estatisticamente menor à partir de 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, para ambos os períodos. Na comparação entre níveis de zearalenona (0 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem aflatoxinas, o peso foi estatisticamente menor no 2º período, quando combinado com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona. Na combinação de 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona com 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, o peso foi estatisticamente menor em ambos os períodos. Porém, na combinação de 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas o peso foi estatisticamente menor somente no 1º período.

No desdobramento da interação entre aflatoxinas e zearalenona, para a CA/massa e CA/dúzia (kg/dz), os resultados foram os mesmos para ambos os períodos. Comparando-se os níveis de aflatoxinas (0, 1000 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem zearalenona, não houve diferença estatística. Na comparação entre os níveis de aflatoxinas com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona, pode-se observar valor estatisticamente pior na combinação de 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona. Na comparação entre níveis de zearalenona (0 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem aflatoxinas e com 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , não houve diferença estatística. Porém, na combinação de 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas os valores foram estatisticamente piores.

Em trabalhos de JOHRI et al. (1990) com codornas alimentadas com rações contaminadas por aflatoxinas, os autores estudaram a contaminação nos níveis de 0,0 a 750  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , os autores observaram diminuição no peso dos ovos à partir de 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e pior conversão alimentar à partir de 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Semelhantemente, SAWHNEY et al. (1973) em estudo com codornas recebendo rações com 2000 a 6000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, observaram

diminuição no peso dos ovos e pior conversão alimentar à partir de 2000 µg/kg. Em estudo de MIAZZO, et al. (2000) os autores alimentaram frangos de corte com uma dieta contendo 2500 µg/kg de aflatoxinas, em combinação com zeolita sintética e não observaram diferenças estatísticas na conversão alimentar em nenhum dos tratamentos. Os efeitos da combinação de aflatoxinas com zearalenona, como deste presente trabalho, em codornas, ainda não são relatados na literatura. Os resultados do desdobramento da interação entre aflatoxinas e zearalenona para os dois períodos podem ser observados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e zearalenona para peso dos ovos, CA/massa e CA/dúzia no período de 28 dias (1º período).

Níveis de Zearalenona (ug/kg)	Níveis de aflatoxinas (ug/kg)			<b>Média</b>
	0	1000	2000	
<u>Peso ovos. g</u>				
0	11,34 a A	11,15 a A	10,78 a B	<b>11,09</b>
2000	11,49 a A	10,69 b B	10,49 b B	<b>10,89</b>
	<b>Média</b>	<b>11,42</b>	<b>10,92</b>	<b>10,64</b>
<u>CA/massa</u>				
0	2,68 a A	2,80 a A	2,87 b A	<b>2,78</b>
2000	2,71 a B	2,89 a B	3,38 a A	<b>2,99</b>
	<b>Média</b>	2,69	2,84	3,13
<u>CA/dúzia</u>				
0	0,36 a A	0,37 a A	0,37 b A	<b>0,37</b>
2000	0,37 a B	0,37 a B	0,43 a A	<b>0,39</b>
	<b>Média</b>	<b>0,37</b>	<b>0,37</b>	<b>0,40</b>

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F (P < 0.05).

<sup>A, B</sup> Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 5. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e zearalenona para peso dos ovos, CA/massa e CA/dúzia no período de 56 dias (2º período).

Níveis de Zearalenona (ug/kg)	Níveis de aflatoxinas (ug/kg)			Média
	0	1000	2000	
<u>Peso ovos. g</u>				
0	11,29 a A	10,98 a B	10,50 a C	<b>10,92</b>
2000	11,49 b A	10,53 b B	10,48 a B	<b>10,84</b>
<b>Média</b>	<b>11,39</b>	<b>10,75</b>	<b>10,49</b>	
<u>CA/massa</u>				
0	2,89 a A	2,95 a A	3,12 b A	<b>2,99</b>
2000	2,79 a B	3,08 a B	3,47 a A	<b>3,11</b>
<b>Média</b>	<b>2,84</b>	<b>3,01</b>	<b>3,29</b>	
<u>CA/dúzia</u>				
0	0,39 a A	0,39 a A	0,39 b A	<b>0,39</b>
2000	0,39 a B	0,39 a B	0,44 a A	<b>0,40</b>
<b>Média</b>	<b>0,39</b>	<b>0,39</b>	<b>0,41</b>	

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F (P < 0,05).

<sup>A, B</sup> Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

No desdobramento da interação entre zearalenona e adsorvente, para a porcentagem de postura, comparando-se os níveis de zearalenona (0 e 2000 µg/kg) sem adsorvente, não houve diferença estatística, em ambos os períodos. Na comparação entre os níveis de zearalenona com 0,1% de adsorvente, para ambos os períodos, a porcentagem de postura foi menor no grupo alimentado com 2000 µg/kg de zearalenona. Na comparação entre níveis de adsorvente (0 e 0,1%) sem zearalenona, a porcentagem de postura foi estatisticamente maior no tratamento com 0,1% de adsorvente, para ambos os períodos. Na comparação entre níveis de adsorvente com 2000 µg/kg de zearalenona, a porcentagem de postura foi estatisticamente maior no tratamento sem adsorvente, para o primeiro período e, sem diferença estatística para o segundo período.

No desdobramento da interação entre zearalenona e adsorvente, para a massa de ovos, os resultados foram os mesmos para ambos os períodos. Comparando-se os níveis de zearalenona (0 e 2000 µg/kg) sem adsorvente,

não houve diferença estatística. Na comparação entre os níveis de zearalenona com 0,1% de adsorvente, a massa de ovos foi estatisticamente menor no tratamento com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona. Na comparação entre níveis de adsorvente (0 e 0,1%) sem zearalenona, o tratamento suplementado com 0,1% de adsorvente teve massa de ovos estatisticamente maior. Porém, na comparação entre os níveis de adsorvente com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona, não houve diferença estatística.

No desdobramento da interação entre zearalenona e adsorvente, para a CA/massa, comparando-se os níveis de zearalenona (0 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem adsorvente, não houve diferença estatística, em ambos os períodos. Na comparação entre os níveis de zearalenona com 0,1% de adsorvente, para ambos os períodos, a CA/massa foi estatisticamente pior no tratamento com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona. Na comparação entre níveis de adsorvente (0 e 0,1%) sem zearalenona, não houve diferença estatística para o 1º período e, para o 2º período, o tratamento suplementado com 0,1% de adsorvente teve a CA/massa estatisticamente melhor. Na comparação entre níveis de adsorvente com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona, não houve diferença estatística para ambos períodos.

No desdobramento da interação entre zearalenona e adsorvente, para a CA/dúzia (kg/dz), os resultados foram os mesmos para ambos os períodos. Comparando-se os níveis de zearalenona (0 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem adsorvente, não houve diferença estatística. Na comparação entre os níveis de zearalenona com 0,1% de adsorvente, a CA/dz foi estatisticamente pior no tratamento com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona. Na comparação entre níveis de adsorvente (0 e 0,1%) sem zearalenona ou com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , não houve diferença estatística. Os resultados do desdobramento da interação entre zearalenona e adsorvente para os dois períodos podem ser observados nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6. Desdobramento da interação entre os níveis de zearalenona e adsorvente para porcentagem de postura, massa de ovos, CA/massa e CA/dúzia no período de 28 dias (1º período).

Níveis de Adsorvente (%)	Níveis de zearalenona (ug/kg)		Média
	0	2000	
	<u>Postura. %</u>		
0	85,49 b A	87,42 a A	<b>86,46</b>
0,1	91,52 a A	82,38 b B	<b>86,95</b>
	<b>Média</b>	<b>88,51</b>	<b>84,90</b>
	<u>Massa ovos. g</u>		
0	9,47 b A	9,51 a A	<b>9,49</b>
0,1	10,17 a A	9,01 a B	<b>9,59</b>
	<b>Média</b>	<b>9,82</b>	<b>9,26</b>
	<u>CA/massa</u>		
0	2,87 a A	2,93 a A	<b>2,90</b>
0,1	2,70 a B	3,05 a A	<b>2,88</b>
	<b>Média</b>	<b>2,78</b>	<b>2,99</b>
	<u>CA/dúzia</u>		
0	0,38 a A	0,38 a A	<b>0,38</b>
0,1	0,36 a B	0,40 a A	<b>0,38</b>
	<b>Média</b>	<b>0,37</b>	<b>0,39</b>

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F (P < 0,05);

<sup>A, B</sup> Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F (P < 0,05).

Tabela 7. Desdobramento da interação entre os níveis de zearalenona e adsorvente para porcentagem de postura, massa de ovos, CA/massa e CA/dúzia no período de 56 dias (2º período).

Níveis de Adsorvente (%)	Níveis de zearalenona (ug/kg)		Média
	0	2000	
	<u>Postura. %</u>		
0	79,99 b A	84,17 a A	<b>82,08</b>
0,1	87,51 a A	79,99 a B	<b>83,75</b>
	<b>Média</b>	<b>83,75</b>	<b>82,08</b>
	<u>Massa ovos. g</u>		
0	8,76 b A	9,11 a A	<b>8,94</b>
0,1	9,57 a A	8,71 a B	<b>9,14</b>
	<b>Média</b>	<b>9,17</b>	<b>8,91</b>
	<u>CA/massa</u>		
0	3,09 a A	3,05 a A	<b>3,07</b>
0,1	2,88 b B	3,17 a A	<b>3,02</b>
	<b>Média</b>	<b>2,99</b>	<b>3,11</b>
	<u>CA/dúzia</u>		
0	0,40 a A	0,40 a A	<b>0,40</b>
0,1	0,38 a B	0,41 a A	<b>0,39</b>
	<b>Média</b>	<b>0,39</b>	<b>0,40</b>

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F (P < 0,05); <sup>A, B</sup> Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F (P < 0,05).

## CONCLUSÕES

- O nível de 2000 µg/kg de aflatoxinas provocou redução no consumo de ração, porcentagem de postura e massa de ovos.
- Para a porcentagem de postura o adsorvente não teve efeito com o nível de zearalenona estudado.
- Para o peso dos ovos, CA/massa e CA/dúzia, ocorreu sinergismo entre aflatoxinas e zearalenona, potencializando os efeitos tóxicos.
- As aflatoxinas provocaram perda de peso nas aves.
- As micotoxinas causaram prejuízos no desempenho das aves.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAVIND, K. L.; PATIL, V. S.; DEVEGOWDA, G.; UMAKANTHA, B.; GANPULE, S. P. Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. **Poultry Science**, Champaign v. 82, p. 571-576, 2003.
- BINTVIHOK, A.; THIENGININ, S.; PATCHIMASIRI, T.; THUMMABOOD, S.; SHOYA, S.; OGURA, Y.; KUMAGAI, S.; DOI, K.; INGKANINUN, P.; POOMVISES, P. Toxic effects of dietary aflatoxin and its residues in tissues and eggs in laying quails. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE WORLD ASSOCIATION OF VETERINARY FOOD HYGIENISTS, 11, Bangkok, 1993. **Proceedings...** p. 299-307.
- CHU, F. S. Mycotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenic potential and preventive measures. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 259: p.291-306, 1991.
- DIENER, U. L.; ASQUITH, R. L.; DICKENS, J. W. **Aflatoxin and aspergillus flavus in corn**. Alabama: Department of Research Information, Alabama Agricultural Experimental Station, Auburn University, Southern Cooperative, 1983. 112 p.
- DOERR, J. A. & OTTINGER, M. A. Delayed reproductive development resulting from aflatoxicosis in juvenile japanese quail. **Poultry Science**, Champaign v. 59, p. 1995-2001, 1980.
- FITZPATRICK, D. W. Mycotoxins in the food chain: nutritional and toxicological considerations. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, Ottawa, v.68, p.979-981, 1990.

GARCIA, E. A. **Níveis nutricionais e métodos de muda forçada em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*)**. Botucatu, 2001. 111p. (Tese de Livre Docência em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

HYGINO DA CRUZ, L. C. Micotoxinas: são tão importantes? In: -. **Micotoxinas** Perspectiva latino-americana: Rio de Janeiro: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1996, p. 1-12.

JOHRI, T. S.; AGRAWAL, R.; SADAGOPAN, V. R. Effect of low dietary levels of aflatoxin on laying quails (*Coturnix coturnix japonica*) and their response to dietary modifications. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 60, p. 355-359, 1990.

KUBENA, L. F.; EDRINGSTON, T. S.; KAMPS-HOLTZAPPLE; HARVEY, R. B.; ELISSALDE, M. H.; ROTTINGHAUS, G. E. Effects of feeding fumonisin B<sub>1</sub> present in *Fusarium moniliforme* culture material and aflatoxin singly and in combination to turkey poults. **Poultry Science**, Champaign v. 74, p. 1295-1303, 1995.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2. ed. Curitiba: do Autor, 1997. 148p.

LEESON, S.; DIAZ, G. J.; SUMMERS, J. D. **Poultry metabolic disorders and mycotoxins**. Guelph: University Books, 1995. 352 p.

MIAZZO, R.; ROSA, C. A. R.; QUEIROZ CARVALHO, E. C.; MAGNOLI, C.; CHIAECHIERA, S. M.; PALACIO, G.; SAENZ, M.; KIKOT, A.; BASALDELLA, E.; DALCERO, A. Efficacy of syntetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign v. 79, p. 1-6, 2000.

MOSS, M. O. Recent studies of mycotoxins. **Journal applied Microbiology Symposium**, v. 84, p. 62S-76S, 1998.

OLIVEIRA, C. A. F. **Efeito da intoxicação prolongada por aflatoxina B<sub>1</sub> em codornas japoneses (*Coturnix coturnix japonica*)**. São Paulo, 2001. 101 p. (Tese de Livre Docência em Zootecnia). Curso de Pós-graduação em zootecnia, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Zootecnia. Universidade de São Paulo.

[OPAS] ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Micotoxinas**. Washington, 1983. p.125-135. (Critérios de Salud ambiental, 11).

POZZI, C. R. **Efeitos da administração oral prolongada de fumonisina B<sub>1</sub> e aflatoxina B<sub>1</sub> em ratos (*Rattus norvegicus*)**. São Paulo, 2000. 118 p. (Tese de Doutorado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

PRADO, G.; VIEIRA, M. B. C. M.; SANTOS, J. P.; OLIVEIRA, M. S. Ocorrência de micotoxinas em milho pós-colheita e armazenado do Estado de Minas Gerais, safra 1991. **Higiene Alimentar**. Campinas, v.9, n.35, p.24-27, 1995.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; ZANELLA, I.; MAGON, L. Micotoxinas do *Fusarium spp* na avicultura comercial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 185-190, 2001.

SAS Institute. SAS<sup>®</sup> **User's guide: statistics**, versão 8 ed., Cary, 2000.

SAWHNEY, D. S.; VADEHRA, D. V.; BAKER, R. C. Aflatoxicosis in the laying japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Poultry Science**, Champaign v. 52, p. 465-473, 1973.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144p.

SHANE, S. M. Micotoxinas são empecilhos para uma produção eficiente em avicultura. **Feeding Times**, v. 4, n. 3, p. 6-8, 1999.

SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxins A, zearalenona and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multitoxin thin layer chromatographic method. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, p. 22-26, 1989.

VIEIRA, M. I. **Codorna doméstica: muito ovo, ótima carne, bastante lucro**. São Paulo: Nobel, 1987.



CAPÍTULO 3  
ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS E SEU EFEITO  
SOBRE A QUALIDADE DOS OVOS DE CODORNAS JAPONESAS  
UTILIZANDO-SE ADSORVENTE

## RESUMO

O trabalho foi desenvolvido nas instalações do Setor de Avicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga – SP, com o objetivo de avaliar os efeitos das micotoxinas sobre os índices de qualidade dos ovos (gravidade específica, unidade Haugh e porcentagem de casca), determinar possíveis resíduos de micotoxinas nos ovos, estabelecer possível taxa de conversão das toxinas para os ovos e analisar o efeito protetor do adsorvente, em codornas japonesas em postura recebendo rações contaminadas com micotoxinas e suplementadas com adsorvente. Para isso foram utilizadas 576 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), com 15 semanas de idade e distribuídas em 36 gaiolas de área útil 1,00 m x 0,34 m x 0,19 m, com quatro compartimentos cada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com o esquema fatorial 3x2x2, com três níveis de inclusão de aflatoxinas (0, 1000 e 2000 µg/kg), dois níveis de inclusão de zearalenona (0 e 2000 µg/kg) e dois níveis de inclusão de adsorvente (0 e 0,1%), com três repetições de 16 aves em cada parcela. Os parâmetros foram avaliados aos 28 e 56 dias, utilizando-se o SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000) e, foi utilizado o teste de Tukey pela ANOVA para comparação entre as médias, adotando-se o nível de rejeição de alfa igual a 0,05. O resultado da gravidade específica foi maior com 2000 µg/kg de aflatoxinas (1,077), aos 28 dias e sem diferença estatística aos 56 dias; a unidade Haugh foi maior no grupo sem zearalenona (83,60), quando comparada com 2000 µg/kg de zearalenona, aos 28 dias e, sem diferença estatística aos 56 dias; a porcentagem de casca não teve diferença estatística aos 28 dias e, aos 56 dias foi estatisticamente maior com 1000 µg/kg de aflatoxinas + 2000 µg/kg de zearalenona (8,99%), quando comparada com 1000 µg/kg de aflatoxinas e sem zearalenona (8,16%). Estabeleceu-se a taxa média de conversão de toxinas para os ovos de 402,78 : 1 e 315,16 :1 aos 28 e 56 dias, respectivamente. A gravidade específica, unidade Haugh e porcentagem de casca sofreram pouca influência das toxinas. Com 1000 µg/kg de aflatoxinas, as codornas excretaram maior quantidade de toxinas para os

ovos. O adsorvente não conseguiu evitar que ocorresse a transferência de resíduos de toxinas para os ovos.

Palavras chave: adsorvente, aflatoxinas, codornas, qualidade dos ovos, zearalenona.

### ABSTRACT

The work was developed in the poultry farming department of Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga – SP, with the objective of evaluating the effects of the mycotoxins on the egg quality indexes (specific gravity, Haugh unit and shell percentage), to determine possible micotoxin residues in eggs, to establish possible conversion rate of toxins for the eggs and to analyze the protective effect of the adsorbent, in Japanese quails in laying receiving feed contaminated with micotoxins and supplemented with adsorbent. For this work 576 Japanese quails were used (*Coturnix coturnix japonica*), with 15 weeks of age and distributed in 36 cages of an area of 1.00 m x 0.34 m x 0.19 m, with four compartment each. The experimental model used was entirely randomized with factorial 3x2x2, with three levels of aflatoxin inclusion (0, 1000 and 2000 µg/kg), two levels of zearalenone inclusion (0, and 2000 µg/kg) and two levels of adsorbent inclusion (0 and 0.1%), with three replicates of 16 birds in each cage. The parameters were evaluated on the 28 and 56 days, through the SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000) and, the test of Tukey was used with ANOVA for comparison among the means, being adopted the refusal level of  $\alpha = 0,05$ . The result of specific gravity was larger with 2000 µg/kg of aflatoxins (1.077), on the 28 day and without statistical difference on the 56 day; the Haugh unit was larger in the group without zearalenone (83.60), when compared with 2000 µg/kg of zearalenone, on the 28 day and without statistical difference on the 56 day; the shell percentage didn't differ estatistically on the 28 day and on the 56 day, it was estatistically larger with 1000 µg/kg of aflatoxins + 2000 µg/kg of zearalenone (8.99%), when compared with 1000 µg/kg of aflatoxins and without zearalenone (8.16%); the medium rate of toxins was established for the eggs of 402.78 : 1

and 315.16 : 1 on the 28 and 56 days, respectively. The specific gravity, Haugh unit and shell percentage suffered little influence of the toxins. With 1000 µg/kg of aflatoxins, the quails excreted larger amount of toxins for the eggs. The adsorbent didn't get to avoid the transfer of residues for the eggs.

Key words: adsorbent, aflatoxins, egg quality, quails and zearalenone.

## INTRODUÇÃO

Os metabólitos tóxicos secundários produzidos pelos fungos são chamados de micotoxinas e podem contaminar os grãos ainda no campo, durante o transporte ou em condições inadequadas de armazenamento. Em condições favoráveis, podem se desenvolver naturalmente nos alimentos destinados para o consumo animal ou humano, podendo originar uma ampla variedade de efeitos tóxicos afetando a saúde animal e humana. (OPAS, 1983; PRADO et al, 1995).

Os cereais que fazem parte da dieta das aves são a principal fonte das toxinas para os animais, já que servem de substrato para o crescimento dos fungos com a consequente produção de micotoxinas. Mas, nem todo cereal atacado por fungos está contaminado por micotoxinas, já que a produção e concentração dessas toxinas é determinada por efeitos combinados das espécies de fungos presentes, temperatura e da umidade do grão (SANTIN et al., 2001).

Em experimentos efetuados com aflatoxinas marcadas com radioisótopos em várias espécies animais, inclusive aves, demonstraram que a maior parte das toxinas e seus produtos de biotransformação têm sua excreção em 72 a 96 horas após cessar a exposição, considerando que o fígado e os rins retêm resíduos por mais tempo (STUBBLEFIELD et al., 1983; OBIOCHA et al., 1986).

Dados publicados em relação a excreção de resíduos de toxinas em ovos de galinha são bastante discrepantes, necessitando de maiores estudos com esses animais (PARK & POLAND, 1986).

Alguns estudos têm sido desenvolvidos no sentido de detectar a excreção de resíduos de aflatoxinas em ovos, sendo que os trabalhos realizados com ovos de codornas são bastantes escassos. Estudo realizado com codornas japonesas por OLIVEIRA (2001), coletando ovos para análises dos tratamentos que receberam de 25, 50 e 100 µg/kg de aflatoxina nos primeiros 90 dias de experimento, o autor observou a excreção de resíduos nas amostras de todos os grupos que foram alimentados com as toxinas e obteve a taxa média de conversão de toxinas para os ovos de 1.875:1.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das micotoxinas sobre os índices de qualidade dos ovos (gravidade específica, unidade Haugh e porcentagem de casca), determinar possíveis resíduos de micotoxinas nos ovos, estabelecer possível taxa de conversão das toxinas para os ovos e analisar o efeito protetor das glicomanas esterificadas, em codornas japonesas em postura recebendo rações contaminadas com micotoxinas e suplementadas com adsorvente.

## MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada para os animais, instalações, preparo e análise das rações foi a mesma descrita no Capítulo 2.

Para analisar a qualidade dos ovos produzidos foi efetuada a avaliação em dois períodos (28 e 56 dias), utilizando-se seis ovos por tratamento, analisando-se tanto qualidade interna quanto externa dos mesmos, adotando-se as variáveis: a) a gravidade específica foi obtida através do método de flutuação, utilizando-se soluções salinas com densidade variando entre 1,062 e 1,102 (HAMILTON, 1982); b) através da unidade Haugh, efetuou-se a relação entre a altura do albúmen e o peso dos ovos, sendo medida através de aparelho específico para esse fim (Ames<sup>®</sup>, S-6428), e o resultado final foi obtido através da fórmula:  $UH = 100 \times \log (A + 7,57 - [1,7 \times \text{Peso do ovo}^{0,37}])$ ; onde A= altura do albúmen; c) para que se pudesse estabelecer a porcentagem do peso da casca em relação ao peso total do ovo, o peso da casca foi mensurado após lavagem com água potável, retirando-se o excesso

de albúmen, e deixando-se secar em temperatura ambiente por 48 horas (POTTS & WASHBURN, 1974).

Para se efetuar a determinação de resíduos de micotoxinas nos ovos foi utilizado o método oficial descrito pela AOAC 978.15 (2000) em cromatografia em camada delgada (CCD), na qual preconiza a extração em 100 g de ovos integral, com as seguintes modificações:

- a) Partição com 30ml de clorofórmio (3 vezes de 10ml) na fase aquosa em funil de separação, agitando três minutos para cada porção.
- b) O desenvolvimento cromatográfico foi efetuado com 100mL de tolueno-acetato de etila-ácido fórmico (5 + 4 + 1).
- c) Como confirmação foi utilizada a reação de derivação com ácido trifluoroacético como descrito no método original e aplicado na mancha da amostra da placa. O desenvolvimento da placa de confirmação foi segundo o sistema de solventes descrito no item b.

As amostras foram quantificadas através da comparação com padrões de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> e zearalenona respectivamente nas concentrações 22 µg/mL ; 2,1µg/mL, 5,36 µg/mL, 4,60 µg/mL e 54,5 µg/mL. Estes foram cromatografados nas placas em volumes crescentes até cobrirem a faixa de linearidade de fluorescência, sob luz UV longa (354 nm).

O método oficial não prevê a determinação simultânea de aflatoxinas e zearalenona em ovos e por isso foram previamente testados os procedimentos em amostras contaminadas artificialmente que geraram as modificações anteriormente mencionadas.

O limite de detecção do método de análise em ovos é de 1,0 µg/kg para aflatoxinas, para zearalenona o limite é de 50 µg/kg; a porcentagem de recuperação para aflatoxina B<sub>1</sub> é de 96% e para zearalenona de 90%.

Durante o tempo do experimento, que foi de 56 dias, foram colhidas, no início e a cada 28 dias, 5 ovos em cada repetição, totalizando 15 ovos por tratamento, resultando em média 150 g de ovos, para obter-se uma amostra. Ressalta-se que para se obter cerca de 100 g de clara + gema, necessita-se aproximadamente de 15 ovos inteiros. Foram feitas análises em 3 etapas, isto é, no início, aos 28 e 56 dias.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análises de Micotoxinas da Fundação Universidade do Rio Grande (RS), para que fossem feitas as devidas análises. As amostras seguiram via correio por Sedex devidamente acondicionadas em embalagem própria para ovos de codornas e depois colocadas em caixa revestida internamente com isopor e papel picado para amortecer os impactos. Foram enviados o dobro do número de ovos necessários para cada análise como medida de segurança.

Quando as amostras chegaram ao laboratório, os ovos da mesma amostra sofreram a homogeneização da clara + gema em um bécker, onde foi feita a retirada de uma amostra analítica de 100 g.

Os valores de conversão de aflatoxina B<sub>1</sub> ingerida, para aflatoxinas residuais nos ovos, foram obtidos à partir da divisão dos níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> na ração (1000 ou 2000 µg/kg) dos grupos experimentais, pelas concentrações médias de resíduos encontrados nos ovos durante o experimento para cada tratamento.

A porcentagem de produção de ovos sem casca do experimento foi calculada em dois períodos: de 1 a 28 e de 1 a 56 dias. O cálculo foi feito dividindo-se o número de ovos sem casca pelo número total de ovos e multiplicado por 100 para cada período e para cada tratamento em estudo.

O delineamento experimental utilizado foi o mesmo do Capítulo 2, diferindo apenas por utilizar seis ovos como número de repetições por tratamento.

A análise estatística dos resultados foi realizada em conformidade com os procedimentos estabelecidos na *General Linear Model do SAS*<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000), para que fosse feita a observação de diferenças estatisticamente significantes entre as médias das variáveis estudadas nos diversos tratamentos. Para a comparação entre os pares de médias, foi utilizado o teste de Tukey pela ANOVA, sendo adotado como nível de rejeição, alfa igual a 0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas médias no galpão variaram entre 20 a 28°C, e a umidade relativa média de 64 a 96% ou seja, dentro da faixa de conforto térmico para codornas de postura (VIEIRA, 1987).

Os resultados médios para os parâmetros de qualidade de ovos do experimento com codornas japonesas em postura nos períodos de 1 a 28 dias (1º período) e de 1 a 56 dias (2º período) são apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Para a gravidade específica, houve diferença estatisticamente significativa no 1º período, com maior valor para o grupo alimentado com 2000 µg/kg de aflatoxinas e maior valor para o grupo alimentado com 2000 µg/kg de zearalenona. Para o 2º período do experimento não houve diferença estatística. Normalmente as micotoxinas não interferem nos parâmetros de qualidade de ovos. Em trabalho de WASHBURN et al. (1985), os autores não observaram diferenças estatísticas na gravidade específica de ovos de galinhas que receberam dietas com 5.000 µg/kg.

Para a unidade Haugh houve diferença estatisticamente significativa no 1º período, com maior valor para o grupo alimentado sem zearalenona. Para o 2º período do experimento não houve diferença estatística. Para as aflatoxinas, neste presente estudo, não foram encontradas diferenças estatísticas para a unidade Haugh. Entretanto em experimento de SAWHNEY et al. (1973) com codornas japonesas recebendo alimentação contaminada com aflatoxinas nos níveis de 2000 a 6000 µg/kg, os autores constataram redução da altura do albúmen e da gema, além de perda da integridade das estruturas internas do ovo. Em experimento de OLIVEIRA (2001) o autor não encontrou diferenças estatísticas na unidade Haugh nos ovos das codornas alimentadas com 25, 50 e 100 µg/kg de aflatoxina.

Para a porcentagem de casca, não houve diferença estatística no 1º período. No 2º período houve interação entre aflatoxinas e zearalenona.



Tabela 1. Resultados médios de qualidade de ovos de codornas no período de 28 dias (1º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração.

	Variáveis <sup>1</sup>		
	GE	UH	CA, %
<u>Aflatoxinas (ug/kg)</u>			
0	1,0703 b	81,56	8,04
1000	1,0708 b	82,58	8,15
2000	1,0768 a	82,77	8,33
<u>Zearalenona (ug/kg)</u>			
0	1,0709 b	83,60 a	8,07
2000	1,0744 a	81,01 b	8,27
<u>Adsorvente (%)</u>			
0	1,0723	82,16	8,14
0,1	1,0730	82,45	8,21
CV (%)	0,6601	6,17	10,75

<sup>1</sup> Gravidade específica (GE), Unidade Haugh (UH) e porcentagem de casca (CA);  
a, b médias na coluna dentro de cada fator seguidas de letras diferentes, diferem entre si (P < 0,05).

Tabela 2. Resultados médios de qualidade de ovos de codornas no período de 56 dias (2º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração.

	Variáveis <sup>1</sup>		
	GE	UH	CA, %
<u>Aflatoxinas (ug/kg)</u>			
0	1,0705	83,42	8,48
1000	1,0713	84,06	8,58
2000	1,0730	85,19	8,99
<u>Zearalenona (ug/kg)</u>			
0	1,0713	84,45	8,62
2000	1,0719	84,00	8,75
<u>Adsorvente (%)</u>			
0	1,0713	83,96	8,73
0,1	1,0719	84,49	8,64
CV (%)	0,5156	4,82	9,77

<sup>1</sup> Gravidade específica (GE), Unidade Haugh (UH) e porcentagem de casca (CA);

No desdobramento da interação de aflatoxinas com zearalenona para a porcentagem de casca, comparando-se os níveis de aflatoxinas (0, 1000 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem zearalenona e com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , não houve diferença estatística. Na comparação entre os níveis de zearalenona (0 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem aflatoxinas e com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , não houve diferença estatística. Somente na comparação entre os níveis de zearalenona com 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas é que houve diferença estatística, com maior valor para o tratamento que recebeu 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona. Os resultados deste trabalho para o 2º período do experimento, concordam com os encontrados por WASHBURN et al. (1985), que alimentaram galinhas com ração contendo 5.000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxina, obtendo aumento na porcentagem de casca para esse nível. Em trabalho de OLIVEIRA (2001) na qual codornas japonesas receberam rações contendo de 0 a 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxina, houve aumento na porcentagem de casca nos ovos das codornas alimentadas com rações contendo 50 e 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Os resultados do desdobramento da interação entre aflatoxinas e zearalenona podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e zearalenona para porcentagem de casca no período de 56 dias (2º período).

Níveis de Zearalenona ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Níveis de aflatoxinas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )			<b>Média</b>
	0	1000	2000	
	<u>Casca. %</u>			
0	8,75 a A	8,16 b A	8,94 a A	<b>8,62</b>
2000	8,21 a A	8,99 a A	9,04 a A	<b>8,75</b>
<b>Média</b>	<b>8,48</b>	<b>8,58</b>	<b>8,99</b>	

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F ( $P < 0.05$ ).

Foram coletados ovos para análises de micotoxinas, no início do experimento e no 1º e 2º períodos. Na coleta inicial não foram encontrados resíduos nos ovos de nenhum dos tratamentos. Os resultados encontrados de resíduos de toxinas em ovos para ambos os períodos podem ser observados na Tabela 4. Para ambos os períodos foram encontrados resíduos de aflatoxina

B<sub>1</sub> nos tratamentos 6, 7, 8 e 10. Para zearalenona foram encontrados apenas traços. No que se refere aos resultados para zearalenona expressos como traços, é o mais confiável pois os valores apresentados foram estimados a partir de inferência mas não apresentam confiabilidade por se encontrarem abaixo do limite de detecção do método para esta micotoxina.

Os dados referentes à excreção de resíduos de aflatoxinas em ovos de codornas, são bastante escassos. Em trabalho de BINTVIHOK, et al. (1993) os autores forneceram rações para codornas contendo aflatoxina B<sub>1</sub> nos níveis de 50 a 200 µg/kg, por um período de 12 semanas, e observaram a toxina nos ovos em concentrações abaixo de 0,01 µg/kg. Foi utilizado pelos autores, o método de imunoenensaio (ELISA) para a análise de aflatoxina B<sub>1</sub> nos ovos, não sendo relatada a ocorrência de outros metabólitos da toxina. OLIVEIRA (2001) realizou estudo com codornas fornecendo rações contaminadas por aflatoxina B<sub>1</sub> nos níveis de 25, 50 e 100 µg/kg durante 168 dias, coletando os ovos para análises nos primeiros 90 dias. O autor observou a excreção de resíduos em amostras de todos os grupos alimentados com aflatoxina B<sub>1</sub>.

Os dados publicados em relação a excreção de resíduos de aflatoxinas em ovos de galinhas, apresentam valores bastante discrepantes. PARK & POLAND (1986) obtiveram a taxa de conversão de 2.200:1 (aflatoxina B<sub>1</sub> na ração: aflatoxina B<sub>1</sub> residual nos ovos), mas em pesquisas de JACOB & WISEMAN (1974) rações fornecidas com aflatoxina B<sub>1</sub> nas concentrações de 100, 200 e 400 µg/kg, no período de 15 dias, tiveram como resposta os níveis de 0,2 a 3,3 µg/kg da toxina nos ovos. Por outro lado, LÖTZSCH & LEISTNER (1976) alimentaram poedeiras brancas com toxinas nas concentrações de 3.000 a 10.000 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub>, por um período de 56 dias, e obtiveram níveis detectáveis de resíduos nos ovos de 0,02 a 0,23 µg/kg. Em experimento realizado por TRUCKSESS et al. (1983) os autores alimentaram 18 galinhas poedeiras com ração contaminada por aflatoxina B<sub>1</sub> na concentração de 8.000 µg/kg, no período de 7 dias, sendo encontradas concentrações de aflatoxina B<sub>1</sub> nos ovos variando de 0,02 a 0,38 µg/kg. WOLZAK et al. (1985) conduziram experimento com galinhas poedeiras alimentadas com ração contendo 3.310 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub>, por um período de 28 dias, encontrando resíduos de

aflatoxina B<sub>1</sub> nas concentrações de 0,01 a 0,10 µg/kg. Em experimento realizado por OLIVEIRA et al. (2000) foram estudados durante 60 dias a excreção de aflatoxina B<sub>1</sub> em poedeiras alimentadas com rações contaminadas com 100; 300 e 500 µg/kg, sendo encontrados resíduos somente no grupo que recebeu rações com 500 µg/kg, variando a concentração de aflatoxina B<sub>1</sub> nos ovos de 0,05 a 0,16 µg/kg, apresentando a média de 0,10 µg/kg.

Tabela 4. Resultados das análises de resíduos de micotoxinas em ovos nos períodos de 1 a 28 e de 1 a 56 dias do experimento com codornas japonesas em postura.

Tratamento	Período (dias)	AFB <sub>1</sub> (µg/kg)	Zeara (µg/kg)
T6 (1000 ug/kg afla + 0,1% ads)	<u>1 a 28</u>	3,9	
T7 (1000 u/kg afla + 2000 ug/kg zeara)		4,2	Traços
T8 (1000 ug/kg afla+2000 ug/kg zeara+0,1% ads)		3,9	
T10 (2000 ug/kg afla + 0,1% ads)		3,6	
T6 (1000 ug/kg afla + 0,1% ads)	<u>1 a 56</u>	4,3	
T7 (1000 u/kg afla + 2000 ug/kg zeara)		4,1	Traços
T8 (1000 ug/kg afla+2000 ug/kg zeara+0,1% ads)		3,8	
T10 (2000 ug/kg afla + 0,1% ads)		5,2	

Aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) e Zearalenona (Zeara).

A Tabela 5 apresenta os valores de conversão de aflatoxina B<sub>1</sub> ingerida, para aflatoxinas residuais nos ovos, obtidos à partir da divisão dos níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> na ração (1000 ou 2000 µg/kg) dos grupos experimentais, pelas concentrações médias de resíduos encontrados nos ovos durante o experimento para cada tratamento, de acordo com a Tabela 4. Para 1000 µg/kg de aflatoxina na ração tem-se  $(3,9+4,2+3,9)/3 = 4,0$  µg/kg; para 2000 µg/kg de aflatoxina na ração tem-se 3,6 µg/kg, para o 1º período. Para o 2º período, para 1000 µg/kg de aflatoxina na ração tem-se  $(4,3+4,1+3,8)/3 = 4,07$  µg/kg; para 2000 µg/kg de aflatoxina na ração tem-se 5,2 µg/kg. Para as outras aflatoxinas (B<sub>2</sub>; G<sub>1</sub>; G<sub>2</sub>) e zearalenona não foram encontrados resíduos nos ovos. Os valores médios da taxa de conversão residual encontrados neste experimento foram de 402,78 : 1 e de 315,16 : 1, para o 1º e 2º períodos, respectivamente, bastante próximo ao encontrado por JACOB & WISEMAN (1974) para ovos de

galinhas (325 : 1). Porém inferior ao encontrado por OLIVEIRA (2001) em ovos de codornas (1.875 : 1). No entanto, a taxa encontrada para codornas se mostrou bastante inferior aos valores reportados em outros trabalhos efetuados para ovos de galinhas, tais como o de LÖTZSCH & LEISTNER (1976) TRUCKSESS et al. (1983) e WOLZAC et al. (1985), cujas taxas de conversão foram 125.000 : 1; 40.000 : 1; e 66.200 : 1, respectivamente. PARK & POHLAND (1986) e OLIVEIRA et al. (2000), em ovos de galinhas, também encontraram níveis superiores a este experimento com codornas (2.200 : 1 e 5.000 : 1), respectivamente. A comparação com estes dados indica que os ovos de codornas são mais susceptíveis de conter resíduos de aflatoxina B<sub>1</sub> em relação aos ovos de galinhas, nos níveis estudados administrando-se a toxina através da ração. Por este experimento pode-se perceber que o nível de 1000 µg/kg de aflatoxinas apresentou menor taxa de conversão em ambos períodos do experimento, com 250,00 : 1 e 245,70 : 1, para o 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> períodos, respectivamente, quando comparado com o nível de 2000 µg/kg de aflatoxinas, que apresentou as taxas de 555,56 : 1 e 384,62 : 1, para o 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> períodos, respectivamente. Com o nível de 1000 µg/kg de aflatoxinas as codornas excretaram maior quantidade de toxina para os ovos.

Tabela 5. Valores da taxa de conversão de resíduos de aflatoxina B<sub>1</sub> nas amostras de ovos de acordo com o nível de aflatoxinas na ração para o período de 1 a 28 e de 1 a 56 dias do experimento com codornas em postura.

Período (dias)	Aflatoxina B <sub>1</sub> na ração (ug/kg)	AFs ovos (Valor:1) <sup>a</sup>	
		AFB1 (ug/kg)	Zeara (ug/kg)
<u>1 a 28</u>	1000	250,00	Traços
	2000	555,56	Nd*
<b>Média</b>		<b>402,78</b>	
<u>1 a 56</u>	1000	245,70	Traços
	2000	384,62	Nd
<b>Média</b>		<b>315,16</b>	

Aflatoxinas (AFs), aflatoxinas B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), Zeara (zearalenona);

<sup>a</sup> Valores se referem à concentração de aflatoxinas na ração dividido pelas concentrações médias das aflatoxinas respectivas nos ovos, descritos na Tabela 4.

\*Não detectado (Nd).

De acordo com a taxa média de conversão encontrada pode-se calcular aproximadamente quantos ovos seriam necessários para colocar em risco a saúde do homem. Aproximando-se a taxa de conversão de 402,78 : 1 para 400 : 1, encontrada no 1º período, tem-se uma relação estabelecendo que para cada 400 µg/kg de contaminação por aflatoxinas na ração tem-se 1 µg/kg de aflatoxina residual no ovo. Supondo-se que as codornas fossem alimentadas com uma ração contaminada por 2000 µg/kg de aflatoxinas, seriam necessários apenas quatro ovos para que se atingisse o limite máximo permitido pela legislação vigente para alimentos para consumo humano que é de 20 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub>. Acima desse limite a saúde do homem já pode ser prejudicada. Analogamente para o 2º período aproximando-se a taxa de conversão média encontrada de 315,16 : 1 para 300 : 1, necessitaria-se alimentar as codornas com 1.500 µg/kg de aflatoxinas para que, ao se ingerir quatro ovos já se atingisse o limite de segurança de consumo humano para aflatoxinas (FONSECA, 2003).

A porcentagem de ovos sem casca foi mensurada em ambos períodos do experimento. Para o 1º período, as menores porcentagens ocorreram nos tratamentos 2, 6 e 10. E, para o 2º período, as menores porcentagens ocorreram nos tratamentos 4, 6, 8 e 10. De acordo com o exposto, pode-se perceber que justamente nos tratamentos em que se usava adsorvente, em ambos os períodos, ocorreram as menores porcentagens de ovos sem casca, podendo-se deduzir que o adsorvente possa ter resultado em efeito benéfico, para esse parâmetro. Recomenda-se maiores estudos a respeito dessa observação para que se possa descobrir se as glicomanas esterificadas têm capacidade de diminuir a porcentagem de ovos sem casca. Esses resultados podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6. Porcentagem de ovos sem casca produzidos pelas codornas japonesas nos períodos de 1 a 28 e de 1 a 56 dias.

Tratamentos	1º Período	2º Período
	Ovos sem casca (%)	
T1 (controle)	1,18	1,29
T2 (controle + 0,1% adsorvente)	0,16	1,03
T3 (2000 ug/kg de zearalenona)	0,57	1,03
T4 (2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente)	0,87	0,54
T5 (1000 ug/kg aflatoxinas)	0,69	1,10
T6 (1000 ug/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente)	0,41	0,52
T7 (1000 u/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona)	1,23	1,37
T8 (1000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente)	0,85	0,87
T9 (2000 ug/kg aflatoxinas)	1,54	1,59
T10 (2000 ug/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente)	0,33	0,60
T11 (2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona)	2,36	2,44
T12 (2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente)	2,01	1,83

1 a 28 dias (1º Período), 1 a 56 dias (2º Período).

### CONCLUSÕES

- A gravidade específica, unidade Haugh e porcentagem de casca sofreram pouca influência das toxinas.
- Os níveis de micotoxinas utilizados foram suficientes para que ocorresse a transferência de toxinas para os ovos, em ambos os períodos estudados.
- Com o nível de 1000 µg/kg de aflatoxinas as codornas excretaram maior quantidade de toxinas para os ovos.
- Foi possível se estabelecer uma taxa média de conversão de toxinas para os ovos de 402,78 : 1 aos 28 dias e de 315,16 : 1 aos 56 dias, representando um risco potencial ao se ingerir esse alimento contaminado.
- O adsorvente não conseguiu evitar que ocorresse a transferência de resíduos de toxinas para os ovos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [AOAC] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods 978.15 , Aflatoxin B<sub>1</sub> in eggs – 2000.
- BINTVIHOK, A.; THIENGININ, S.; PATCHIMASIRI, T.; THUMMABOOD, S.; SHOYA, S.; OGURA, Y.; KUMAGAI, S.; DOI, K.; INGGANINUN, P.; POOMVISES, P. Toxic effects of dietary aflatoxin and its residues in tissues and eggs in laying quails. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE WORLD ASSOCIATION OF VETERINARY FOOD HYGIENISTS, 11, Bangkok, 1993. **Proceedings...** p. 299-307.
- FONSECA, H. **Legislação sobre micotoxinas**. Capturado em 22 mai. 2003. On line. Disponível na Internet <http://www.micotoxinas.com.br/legisla.html>.
- HAMILTON, R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, Champaign v. 61, p.2002-2039, 1982.
- JACOB, W. C.; WISEMAN, H. G. The transmission of aflatoxin B<sub>1</sub> into eggs. **Poultry Science**, Champaign, v. 53, p. 1743-1745, 1974.
- LÖTZSCH, R.; LEISTNER, L. Aflatoxin-Rückstände in Hühnereiern und Eiprodukten. **Fleischwirtschaft**, v. 12, p. 1777-1785, 1976.
- OBIOCHA, W.I.; STAHR, H. M.; KRAFT, A. A. Distribution and effects of aflatoxin in chicken tissues after feeding radiolabeled (<sup>14</sup>C) aflatoxin B<sub>1</sub>. **Journal of Food Protection**, v. 49, p. 799-805, 1986.
- OLIVEIRA, C. A. F.; KOBASHIGAWA, E.; REIS, T. A.; MESTIERI, L.; ALBUQUERQUE, R.; CORREA, B. Aflatoxin B<sub>1</sub> residues in eggs of laying hens fed a diet containing different levels of the mycotoxin. **Food Additives and Contaminants**, Londres, v. 17, p. 459-462, 2000.
- OLIVEIRA, C. A. F. **Efeito da intoxicação prolongada por aflatoxina B<sub>1</sub> em codornas japoneses (*coturnix coturnix japonica*)**. São Paulo, 2001. 101 p. (Tese de Livre Docência em Zootecnia). Curso de Pós-graduação em zootecnia, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Zootecnia. Universidade de São Paulo.
- [OPAS] ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Micotoxinas**. Washington, 1983. p.125-135. (Critérios de Salud ambiental, 11).



PARK, D. L.; POHLAND, A. E. A rationale for the control of aflatoxin in animal feeds. In: STEYN, P. S.; VLEGGAR, R. (Ed.). **Mycotoxins and Phycotoxins**, Amsterdam: Elsevier, 1986. p. 473-482.

POTTS, P. L.; WASHBURN, K. W. Shell evaluation of white and brown egg strains by deformation, breaking strength, shell thickness and specific gravity. **Poultry Science**, Champaign, v. 53, p. 1123-1128, 1974.

PRADO, G.; VIEIRA, M. B. C. M.; SANTOS, J. P.; OLIVEIRA, M. S. Ocorrência de micotoxinas em milho pós-colheita e armazenado do Estado de Minas Gerais, safra 1991. **Higiene Alimentar**. Campinas, v.9, n.35, p.24-27, 1995.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; ZANELLA, I.; MAGON, L. Micotoxinas do *Fusarium spp* na avicultura comercial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 185-190, 2001.

SAS Institute. SAS<sup>®</sup> **User's guide: statistics**, versão 8 ed., Cary, 2000.

SAWHNEY, D. S.; VADEHRA, D. V. ; BAKER, R. C. Aflatoxicosis in the laying japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Poultry Science**, Champaign v. 52, p. 465-473, 1973.

STUBBLEFIELD, R. D.; PIER, A. C.; RICHARD, J. L.; SHOWELL, O. L. Fate of aflatoxins in tissues, fluids and excrements from cows dosed with aflatoxin B<sub>1</sub>. **American Journal Veterinary Research**, v. 44, p. 1750-1752, 1983.

TRUCKESSESS, M. W.; STOLOFF, L.; YOUNG, K.; WYATT, R. D.; MILLER, B. L. Aflatoxicol and aflatoxins B<sub>1</sub> and M<sub>1</sub> in eggs and tissues of laying hens, consuming aflatoxin-contaminated feed. **Poultry Science**, Champaign, v. 62, p. 2176-2182, 1983.

VIEIRA, M. I. **Codorna doméstica: muito ovo, ótima carne, bastante lucro**. São Paulo: Nobel:, 1987.

WASHBURN, K. W.; WYATT, R. D.; POTTS, P. L. & LANZE, G. M. Effects and mechanism of aflatoxin variation in shell strength. **Poultry Science**, Champaign v. 64, p. 1302-1305, 1985.

WOLZAK, A.; PEARSON, A. M.; COLEMAN, T. H.; PESTKA, J. J.; GRAY, J. I. Aflatoxin deposition and clearance in the eggs of laying hens. **Food and Chemical Toxicology**, v. 23, p. 1057-1061, 1985.

CAPÍTULO 4  
ALIMENTAÇÃO CONTAMINADA POR MICOTOXINAS E SEU EFEITO  
SOBRE CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE CODORNAS  
JAPONESAS UTILIZANDO-SE ADSORVENTE

## RESUMO

O trabalho foi desenvolvido nas instalações do Setor de Avicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga – SP, com os objetivos de avaliar os efeitos das micotoxinas sobre os pesos relativos (g/100g) das vísceras (fígado, baço, moela e rins), observar possíveis alterações macroscópicas, verificar possíveis alterações histopatológicas e analisar o efeito protetor do adsorvente, em codornas japonesas em postura recebendo rações contaminadas com micotoxinas e suplementadas com adsorvente. Para isso foram utilizadas 576 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), com 15 semanas de idade e distribuídas em 36 gaiolas de área útil 1,00 m x 0,34 m x 0,19 m, com quatro compartimentos cada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com o esquema fatorial 3x2x2, com três níveis de inclusão de aflatoxinas (0, 1000 e 2000 µg/kg), dois níveis de inclusão de zearalenona (0 e 2000 µg/kg) e dois níveis de inclusão de adsorvente (0 e 0,1%), com três repetições de 16 aves em cada parcela. Os parâmetros foram avaliados aos 28 e 56 dias, utilizando-se o SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000) e, foi utilizado o teste de Tukey pela ANOVA para comparação entre as médias, adotando-se o nível de rejeição de alfa igual a 0,05. Para o peso relativo do fígado aos 28 dias foi encontrado peso estatisticamente menor com 0,1% de adsorvente + 1000 µg/kg de aflatoxinas (3,42 g) e na combinação com 2000 µg/kg de zearalenona e 0,1% adsorvente ocorreu o maior peso (4,16), aos 56 dias a adição de 2000 µg/kg de aflatoxinas ou 2000 µg/kg de zearalenona (4,66 e 4,46) ocorreram os maiores pesos, respectivamente; para o peso do baço não houve diferença estatística em nenhum dos dois períodos de coleta; para a moela o maior peso aos 28 dias, foi com 0,1% de adsorvente (2,26 g) e, aos 56 dias o menor peso foi no grupo sem aflatoxinas e sem zearalenona (1,91g); para os rins aos 28 dias, o menor peso foi com 2000 µg/kg de aflatoxinas (0,17 g) e aos 56 dias, o maior peso foi com 2000 µg/kg de aflatoxinas. Não ocorreram lesões histopatológicas em baço e moela. As toxinas tiveram efeitos deletérios sobre as aves, causando megalocitose e proliferação das células do ducto biliar. Nos rins, provocaram hipertrofia das células do túbulo proximal. Ocorreram lesões

macroscópicas mais severas aos 56 dias em fígados, moelas (erosões) e rins, independente do uso de adsorvente. O adsorvente não conseguiu evitar a ocorrência de lesões nas vísceras.

Palavras chave: adsorvente, aflatoxinas, codornas, peso relativo, vísceras, zearalenona.

### ABSTRACT

The work was developed in the poultry farming department of Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, campus de Pirassununga – SP, with the objective of evaluating the effects of the micotoxins on the relative weights (g/100g) of the organs (liver, spleen, gizzard and kidneys), to observe possible macroscopic alterations, to verify possible histopathological alterations and to analyze the protective effect of the adsorbent, in Japanese quails in laying receiving feed contaminated with micotoxins and supplemented with adsorbent. For this work 576 Japanese quails were used (*Coturnix coturnix japonica*), with 15 weeks of age and distributed in 36 cages of an area of 1.00 m x 0.34 m x 0.19 m, with four compartment each. The experimental model used was entirely randomized with factorial 3x2x2, with three levels of aflatoxin inclusion (0, 1000 and 2000 µg/kg), two levels of zearalenone inclusion (0 and 2000 µg/kg) and two levels of adsorbent inclusion (0 and 0,1%), with three replicates of 16 birds in each cage. The parameters were evaluated on the 28 and 56 days, through the SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000) and, the test of Tukey was used with ANOVA for comparison among the means, being adopted the refusal level of  $\alpha = 0,05$ . The result found for the liver relative weight on the 28 day was smaller statistical weight with 0,1% of adsorvente + 1000 µg/kg of aflatoxins (3,42 g) and in the combination with 2000 µg/kg of zearalenone and 0,1% adsorvente occurred the larger weight (4,16), on the 56 day the addition of 2000 µg/kg of aflatoxins or 2000 µg/kg of zearalenone (4,66 and 4,46) occurred the larger weight, respectively; for the spleen weight there was not statistical difference in none of the two collection periods; for the gizzard the larger weight on the 28 day, was with 0,1% of adsorbent (2,26 g) and, on the 56 day the

smaller weight was in the group without aflatoxins and without zearalenone (1,91g); for the kidneys on the 28 day, the smaller weight was with 2000 µg/kg of aflatoxins (0,17 g) and on the 56 day, the larger weight was with 2000 µg/kg of aflatoxins (0,31 g); there were not histopathological lesions in spleen and gizzard. The toxins had deleterious effects on the birds, causing megalocytosis and proliferation of the cells of the duct biliar. In the kidneys, they provoked hipertrofia of the cells of the túbulo proximal. The macroscopic analysis showed more severe lesions on the 56 day in livers, gizzards (erosions) and kidneys, independent of the adsorbent use. The adsorbent didn't get to avoid the occurrence of lesions in the organs.

Key words: adsorbent; aflatoxins, organs, relative weight and zearalenone.

## INTRODUÇÃO

A ocorrência de micotoxicoses nos animais de criação, e dentre elas as aflatoxicoses, é um reflexo do sistema produtivo adotado atualmente pelos produtores. Quanto mais avançado for, em maior quantidade se fará a utilização de alimentos concentrados, formulados à base de grãos, o que amplia a possibilidade de intoxicação por micotoxinas (HYGINO DA CRUZ, 1996; MOREIRA, 2000).

As aflatoxinas têm uma ampla distribuição entre os produtos agrícolas, representando portanto um sério risco à saúde humana e animal. Dependendo da sua concentração podem produzir nos animais efeitos agudos apresentando sintomatologia clínica e/ou alterações patológicas características, efeitos crônicos, onde a identificação dos sintomas é mais difícil, porque não apresenta um quadro sintomatológico típico, mas evidentes reflexos negativos na saúde animal, com significativas perdas econômicas. Porém os efeitos mais comumente observados em intoxicações por aflatoxinas são a diminuição da velocidade do crescimento e eficiência alimentar, causados pela redução do metabolismo proteico e absorção de gorduras, ocorrendo também, redução na função de detoxificação de toxinas e drogas, exercida pelo fígado (HYGINO DA CRUZ, 1996; MOREIRA, 2000).

A sensibilidade as aflatoxinas varia bastante entre as espécies animais e, mesmo dentro de uma mesma espécie varia conforme a dose administrada e de acordo com a idade, sexo, raça, entre vários fatores (TDRI, 1984; SCUSSEL, 1998). A aflatoxicose aguda caracteriza-se pelos sintomas de diminuição do crescimento, desordem na atividade gastrointestinal e morte, que ocorre com o aparecimento dos sintomas neurológicos de convulsão e paralisia, ocorrendo também hemorragias múltiplas (SCUSSEL, 1998). O fígado é o principal órgão afetado, com lesões decorrentes da necrose hemorrágica, congestão centrolobular, proliferação das células dos ductos biliares e infiltração gordurosa dos hepatócitos (ESPADA et al., 1992).

A aflatoxicose aguda tem como característica o fato de observar-se lesões agudas no fígado, durante a biópsia. Patos e perus apresentam necrose periportal e macacos apresentam necrose que abrange várias áreas do fígado com metamorfose gordurosa celular, proliferação do epitélio do ducto biliar e severa hemorragia (SCUSSEL, 1998).

Um dos mais importantes efeitos da aflatoxicose crônica nos animais é o câncer de fígado, que têm sido demonstrado em diversos trabalhos, especialmente em relação a aflatoxina B<sub>1</sub>. Nos animais que sofrem de aflatoxicose crônica, a aflatoxina B<sub>1</sub> induz a formação de carcinoma hepatocelular (CHC), mesmo que a toxina tenha sido ingerida em pequenas quantidades, motivo pelo qual é considerada um dos mais potentes hepatocarcinógenos naturais. Mesmo sendo o fígado o alvo primário, tem-se observado o desenvolvimento de tumores em outros órgãos, como intestino e pâncreas, em animais que foram alimentados com rações contendo aflatoxinas (TDRI, 1984; OLIVEIRA, 1994).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das micotoxinas sobre os pesos relativos (g/100g) das vísceras (fígado, baço, moela e rins), observar possíveis alterações macroscópicas, verificar possíveis alterações histopatológicas e analisar o efeito protetor das glicomanas esterificadas, em codornas japonesas em postura recebendo rações contaminadas com micotoxinas e suplementadas com o adsorvente.

## MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada para os animais, instalações, preparo e análise das rações foi a mesma descrita no Capítulo 2.

Para analisar o peso relativo (g/100g) das vísceras foi efetuada a avaliação em dois períodos (28 e 56 dias), utilizando-se quatro aves por tratamento, realizando-se os seguintes procedimentos:

Para se obtenção do peso relativo (g/100g) das vísceras, pesou-se individualmente cada ave e, após esse procedimento a ave era sacrificada por deslocamento cervical. Logo em seguida, com o auxílio de bisturi e de tesoura cirúrgica, fez-se corte longitudinal no abdomen da ave retirando-se cuidadosamente o fígado, o baço, a moela e os rins, sendo que, após sua extração a moela foi aberta com tesoura cirúrgica e tinha o seu conteúdo esvaziado e o órgão era lavado em água corrente. As vísceras foram pesadas em balança de precisão, com duas casas decimais, anotando-se os devidos valores em planilha de campo.

Os pesos relativos (g/100g) foram calculados para todas as vísceras em todas as aves e tratamentos estudados para que se pudesse comparar os pesos verificados nas vísceras com base em um peso comum (100g) das aves. As aves que morreram no decorrer do experimento foram necropsiadas a fim de se avaliar possíveis danos nas vísceras estudadas.

Foram efetuadas observações macroscópicas e análises histopatológicas em fígado, baço, moela e rins aos 28 e 56 dias, cujos procedimentos foram os seguintes:

Para as observações macroscópicas, após a pesagem as vísceras foram cuidadosamente observadas quanto a lesões macroscópicas e, as observações foram anotadas em planilha de campo. Depois foram minuciosamente arrumadas em bandeja, devidamente identificadas por tratamento e repetição sempre na sequência: fígado, baço, moela e rins, para que fossem fotografadas.

Para as análises histopatológicas, após a confecção das fotografias fazia-se um corte de aproximadamente 5 mm em cada víscera de cada

tratamento e repetição e colocavam-se os fragmentos obtidos em frasco coletor em solução de formalina a 10% tamponada com fosfato (ficando no mínimo por 48 horas), devidamente identificado para cada tratamento, lacrando-se os frascos com fita adesiva de aproximadamente 5 cm para evitar-se vazamentos. De posse de todos os frascos referentes a todos os tratamentos, os mesmos foram devidamente embalados sendo encaixados em isopor, envoltos por papel picado e colocados dentro de caixa de papelão e enviados para o Laboratório de Análises Hstopatológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

No laboratório, o material foi processado, segundo as técnicas histológicas convencionais, incluído em parafina e cortado para obtenção de secções de 5  $\mu$ m de espessura. Os cortes foram então corados pelo método da hematoxilina & eosina (HE), para investigação de possíveis alterações nos tecidos.

Para a análise de fragmentos do fígado e classificação das lesões, adotou-se como critério de escore a intensidade de vacuolização do tecido. Desse modo, foram estabelecidos escores de 1 a 3, sendo: a) Escore 1- vacuolização leve; b) escore 2- vacuolização moderada; c) escore 3 - vacuolização severa.

Para o exame de fragmentos dos rins e classificação das lesões, tomou-se como critério de escore o grau de hipertrofia da células dos túbulos proximais. Da mesma forma, também foram estabelecidos escores de 1 a 3, sendo: Escore 1- hipertrofia leve; b) escore 2- hipertrofia moderada; c) escore 3 - hipertrofia severa.

O delineamento experimental utilizado foi o mesmo do Capítulo 2, diferindo apenas por utilizar quatro aves como número de repetições por tratamento.

A análise estatística dos resultados foi realizada em conformidade com os procedimentos estabelecidos na *General Linear Model do SAS*<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000), para que fosse feita a observação de diferenças estatisticamente significantes entre as médias das variáveis estudadas nos diversos tratamentos. Para a comparação entre os pares de médias, foi



utilizado o teste de Tukey pela ANOVA, sendo adotado como nível de rejeição, alfa igual a 0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas médias no galpão variaram entre 20 a 28°C, e a umidade relativa média de 64 a 96% ou seja, dentro da faixa de conforto térmico para codornas de postura (VIEIRA, 1987).

Os resultados médios para o peso relativo das vísceras do experimento com codornas japonesas em postura nos períodos de 1 a 28 dias (1º período) e de 1 a 56 dias (2º período) são apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Para o peso relativo do fígado, no 1º período, houve interação entre aflatoxinas e adsorvente e também com zearalenona e adsorvente. No 2º período o peso relativo do fígado foi estatisticamente maior no grupo alimentado com 2000 µg/kg de aflatoxinas, não diferindo do grupo alimentado com 1000 µg/kg. Ainda no 2º período, o peso relativo do fígado foi estatisticamente maior no grupo alimentado com 2000 µg/kg de zearalenona.

Para o peso relativo do baço não houve diferença estatisticamente significativa em nenhuma das variáveis, para ambos os períodos.

Para o peso relativo da moela, no 1º período, houve interação entre aflatoxinas e adsorvente. No 2º período houve interação entre aflatoxinas e zearalenona.

Para o peso relativo dos rins, no 1º período, o peso foi estatisticamente maior no grupo alimentado sem aflatoxinas, não diferindo do grupo alimentado com 1000 µg/kg. No 2º período o peso foi estatisticamente maior no grupo alimentado com 2000 µg/kg de aflatoxinas.

Estudos de MIAZZO et al. (2000) com frangos de corte recebendo rações contaminadas com 2500 µg/kg de aflatoxinas, resultaram em peso relativo (g/100g) de fígado significativamente maior nos grupos alimentados com as toxinas. Porém o grupo alimentado com aflatoxinas + 1% de zeolita sintética teve peso de fígado estatisticamente menor, quando comparado com o grupo que recebeu alimentação com aflatoxinas. Em experimento de BAILEY et al. (1998) os autores alimentaram frangos de corte com 5000 µg/kg de

aflatoxinas e usaram 0,5% de adsorvente inorgânico, obtendo aumento estatístico no peso relativo do fígado, baço, moela e rim em relação ao grupo controle, independente do uso do adsorvente. LEDOUX et al. (1999) alimentaram frangos de corte com 4000 µg/kg de aflatoxinas e usaram 0,5% de aluminossilicato hidratado de cálcio e sódio (Improved Milbond - TX<sup>®</sup>), obtendo aumento estatístico no peso relativo do fígado e rim em relação ao grupo controle, e quando se usou o adsorvente não houve diferença estatística. Em estudo com frangos de corte de ARAVIND et al. (2003) com dieta naturalmente contaminada (168 µg/kg de aflatoxinas, 8,4 µg/kg de ocratoxina, 54 µg/kg de zearalenona e 32 µg/kg de toxina T-2), em combinação com 0,05% de glicomanas esterificadas como adsorvente, os autores observaram aumento estatisticamente significativo no peso relativo do fígado, moela e rim em relação ao grupo controle, independente da adição do adsorvente. O aumento no peso relativo do fígado pode ser devido ao efeito hepatotóxico das aflatoxinas, resultando consideráveis mudanças no seu funcionamento e aparência macroscópica. E, o aumento no peso relativo da moela pode ser devido ao resultado de severa inflamação e espessamento da mucosa.

Tabela 1. Resultados médios do peso relativo (g/100g) de vísceras de codornas no período de 28 dias (1º período) segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração.

	Variáveis			
	Fígado	Baço	Moela	Rins
<u>Aflatoxinas (µg/kg)</u>				
0	3,64	0,08	2,13	0,22 a
1000	3,79	0,08	1,92	0,21 ab
2000	3,76	0,08	2,11	0,17 b
<u>Zearalenona (µg/kg)</u>				
0	3,62	0,09	2,07	0,20
2000	3,83	0,08	2,03	0,20
<u>Adsorvente (%)</u>				
0	3,61	0,08	2,04	0,20
0,1	3,84	0,08	2,07	0,20
CV (%)	14,91	34,39	10,71	22,40

<sup>a, b</sup> médias na coluna dentro de cada fator seguidas de letras diferentes, diferem entre si (P < 0,05).

Tabela 2. Resultados médios do peso relativo (g/100g) de vísceras de codornas no período de 56 dias segundo os níveis de inclusão de aflatoxinas, zearalenona e adsorvente na ração.

	Variáveis			
	Fígado	Baço	Moela	Rins
<u>Aflatoxinas (µg/kg)</u>				
0	3,89 b	0,08	2,11	0,22 b
1000	4,12 ab	0,08	2,00	0,24 b
2000	4,66 a	1,00	2,10	0,31 a
<u>Zearalenona (µg/kg)</u>				
0	3,98 b	0,08	1,97	0,25
2000	4,46 a	0,09	2,17	0,27
<u>Adsorvente (%)</u>				
0	4,16	0,08	2,08	0,26
0,1	4,28	0,09	2,06	0,26
CV (%)	14,89	34,81	7,98	20,20

<sup>a, b</sup> médias na coluna dentro de cada fator seguidas de letras diferentes, diferem entre si (P < 0,05).

No desdobramento da interação entre aflatoxinas e adsorvente, para o peso relativo do fígado, no 1º período, comparando-se os níveis de aflatoxinas (0, 1000 e 2000 µg/kg) sem adsorvente, o peso foi estatisticamente maior no grupo alimentado com 1000 µg/kg de aflatoxinas. Na comparação entre os níveis de aflatoxinas com 0,1% de adsorvente, não houve diferença estatisticamente significativa. Na comparação entre os níveis de adsorvente (0 e 0,1%) sem aflatoxinas e com 2000 µg/kg, o peso relativo do fígado foi estatisticamente maior no grupo alimentado com 0,1% de adsorvente. Porém, na comparação entre os níveis de adsorvente e 1000 µg/kg de aflatoxinas, o peso relativo foi estatisticamente menor com 0,1% de adsorvente.

No desdobramento da interação entre zearalenona e adsorvente, para o peso relativo do fígado, no 1º período, comparando-se os níveis de zearalenona (0 e 2000 µg/kg) sem adsorvente, não houve diferença estatisticamente significativa. Na comparação entre os níveis de zearalenona com 0,1% de adsorvente, o peso relativo do fígado foi estatisticamente maior no grupo alimentado com 2000 µg/kg de zearalenona. Na comparação entre os níveis de adsorvente (0 e 0,1%) sem zearalenona, não houve diferença

estatisticamente significativa. Porém na comparação entre níveis de adsorvente com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona, o peso relativo do fígado foi estatisticamente maior com 0,1% de adsorvente.

No desdobramento da interação entre aflatoxinas e adsorvente, para o peso relativo da moela, no 1º período, comparando-se os níveis de aflatoxinas (0, 1000 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem adsorvente, o peso relativo foi estatisticamente maior quando se usou 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, não diferindo do grupo sem aflatoxinas. Comparando-se os níveis de aflatoxinas com 0,1 % de adsorvente, o peso relativo foi estatisticamente maior no tratamento sem aflatoxinas. Na comparação entre os níveis de adsorvente (0 e 0,1%) sem aflatoxinas, o peso relativo da moela foi estatisticamente maior com 0,1% de adsorvente. Na comparação entre os níveis de adsorvente com 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, não houve diferença estatisticamente significativa. Porém, na comparação entre os níveis de adsorvente com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, o peso relativo da moela foi estatisticamente menor no grupo com 0,1% de adsorvente.

No desdobramento da interação entre aflatoxinas e zearalenona, para o peso relativo da moela, no 2º período, comparando-se os níveis de aflatoxinas (0, 1000 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem zearalenona, não houve diferença estatisticamente significativa. Comparando-se os níveis de aflatoxinas com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de zearalenona, o peso relativo da moela foi estatisticamente maior no grupo alimentado sem aflatoxinas, não diferindo do grupo alimentado com 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Na comparação entre os níveis de zearalenona (0 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sem aflatoxinas, o peso relativo da moela foi estatisticamente menor no grupo alimentado sem zearalenona. Porém, na comparação entre os níveis de zearalenona com 1000 e 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxinas, não houve diferença estatisticamente significativa. Os resultados dos desdobramentos podem ser observados nas Tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e adsorvente para o peso relativo (g/100g) do fígado e moela no período de 28 dias (1º período).

Níveis de Adsorvente (%)	Níveis de aflatoxinas (µg/kg)			Média
	0	1000	2000	
<u>Fígado</u>				
0	3,23 b B	4,16 a A	3,45 b B	<b>3,61</b>
0,1	4,04 a A	3,42 b A	4,06 a A	<b>3,84</b>
<b>Média</b>	<b>3,64</b>	<b>3,79</b>	<b>3,76</b>	
<u>Moela</u>				
0	1,99 b AB	1,89 a B	2,24 a A	<b>2,04</b>
0,1	2,26 a A	1,96 a B	1,98 b B	<b>2,07</b>
<b>Média</b>	<b>2,13</b>	<b>1,92</b>	<b>2,11</b>	

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ );  
<sup>A, B</sup> Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Tabela 4. Desdobramento da interação entre os níveis de zearalenona e adsorvente para o peso relativo (g/100g) do fígado no período de 28 dias (1º período).

Níveis de Adsorvente (%)	Níveis de zearalenona (µg/kg)		Média
	0	2000	
0	3,72 a A	3,50 b A	<b>3,61</b>
0,1	3,52 a B	4,16 a A	<b>3,84</b>
<b>Média</b>	<b>3,62</b>	<b>3,83</b>	

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ );  
<sup>A, B</sup> Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ ).

Tabela 5. Desdobramento da interação entre os níveis de aflatoxinas e zearalenona para o peso relativo (g/100g) da moela no período de 56 dias (2º período).

Níveis de Zearalenona (µg/kg)	Níveis de aflatoxinas (µg/kg)			Média
	0	1000	2000	
0	1,91 b A	1,97 a A	2,04 a A	<b>1,97</b>
2000	2,31 a A	2,04 a B	2,17 a AB	<b>2,17</b>
<b>Média</b>	<b>2,11</b>	<b>2,00</b>	<b>2,10</b>	

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ );  
<sup>A, B</sup> Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os resultados de alterações histopatológicas foram observados somente nos fígados e rins das quatro codornas de cada tratamento, sacrificadas e necropsiadas. As tabelas foram feitas com base nas principais lesões histopatológicas provocadas nesses órgãos devido as micotoxinas. Na moelas, as lesões somente são vistas se a erosão atinge a membrana coilínea (amarela), o que não ocorreu no decorrer deste experimento. No baço, as amostras examinadas não apresentavam alterações devido as micotoxinas. Quando existe contaminação por micotoxinas, o fígado sempre apresenta vacuolização mais evidente principalmente quando há associações de micotoxinas, como pode ser visto nas tabelas. Nos rins as lesões não foram muito evidentes. Em experimento de MIAZZO et al. (2000), em que frangos de corte foram alimentados com 2500 µg/kg de aflatoxinas, os autores observaram multifocal e variada vacuolização hepática e degeneração gordurosa hepática, o que é característica de aflatoxicose. Os resultados encontrados neste trabalho concordam com JOHRI et al. (1990) que alimentaram codornas japonesas com 0,0 a 750 µg/kg de aflatoxinas e observaram necrose associada a processo inflamatório em fígados das codornas que receberam alimentação contaminada nos níveis acima de 500 µg/kg. LEESON et al. (1995) alimentaram galinhas poedeiras com ração contendo de 100 a 500 µg/kg de aflatoxina e observaram proliferação de ductos biliares e intensa vacuolização nos fígados examinados, sendo que os maiores danos ocorreram nos níveis mais elevados de toxinas. Os resultados das observações histopatológicas para os fígados aos 28 e 56 dias podem ser observados na Tabela 6. Os resultados das observações histopatológicas para os rins aos 28 e 56 dias podem ser observados na Tabela 7.

Os tratamentos foram os seguintes:

T1 (controle), T2 (controle + 0,1% adsorvente), T3 (2000 ug/kg de zearalenona), T4 (2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente), T5 (1000 ug/kg aflatoxinas), T6 (1000 ug/kg afla + 0,1% adsorvente), T7 (1000 u/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona), T8 (1000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente), T9 (2000 ug/kg aflatoxinas), T10 (2000 ug/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente), T11 (2000 ug/kg aflatoxinas +

2000 ug/kg zearalenona), T12 (2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente).

Tabela 6. Alterações histopatológicas observadas nos fígados de codornas sacrificadas e necropsiadas, no 28<sup>o</sup> e 56<sup>o</sup> dias do experimento, nos diferentes tratamentos.

Tratamentos (28 Dias)	Alterações				
	Megalocitose	Escore de vacuolização			Proliferação de células do ducto biliar
		1	2	3	
T1	0/4*	2/4	2/4	0/4	0/4
T2	0/4	2/4	2/4	0/4	0/4
T3	3/4	2/4	2/4	0/4	2/4
T4	4/4	1/4	2/4	1/4	3/4
T5	2/4	0/4	2/4	2/4	2/4
T6	2/4	0/4	2/4	2/4	2/4
T7	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4
T8	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4
T9	3/4	1/4	3/4	0/4	3/4
T10	3/4	2/4	0/4	1/4	3/4
T11	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4
T12	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4
<b>(56 Dias)</b>					
T1	0/4	4/4	0/4	0/4	0/4
T2	0/4	2/4	2/4	0/4	0/4
T3	4/4	2/4	2/4	0/4	4/4
T4	4/4	2/4	2/4	0/4	4/4
T5	4/4	0/4	2/4	2/4	4/4
T6	4/4	0/4	2/4	2/4	4/4
T7	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4
T8	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4
T9	4/4	0/4	2/4	2/4	4/4
T10	4/4	0/4	2/4	2/4	4/4
T11	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4
T12	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4

\* n<sup>o</sup> de aves com alterações/n<sup>o</sup> de aves necropsiadas.

Tabela 7. Alterações histopatológicas observadas nos rins de codornas sacrificadas e necropsiadas, no 28<sup>o</sup> e 56<sup>o</sup> dias do experimento, nos diferentes tratamentos.

Tratamentos (56 Dias)	Alterações			
	Escores de hipertrofia das células do Túbulo Proximal			Espessamento da membrana glomerular
	1	2	3	
T1	0/4*	0/4	0/4	0/4
T2	0/4	0/4	0/4	0/4
T3	2/4	0/4	0/4	0/4
T4	2/4	0/4	0/4	0/4
T5	2/4	0/4	0/4	0/4
T6	2/4	0/4	0/4	0/4
T7	2/4	1/4	0/4	0/4
T8	2/4	1/4	0/4	0/4
T9	1/4	0/4	0/4	0/4
T10	2/4	0/4	0/4	0/4
T11	2/4	2/4	0/4	0/4
T12	2/4	2/4	0/4	0/4
<b>(56 Dias)</b>				
T1	0/4	0/4	0/4	0/4
T2	0/4	0/4	0/4	0/4
T3	2/4	0/4	0/4	0/4
T4	2/4	0/4	0/4	0/4
T5	2/4	0/4	0/4	0/4
T6	2/4	0/4	0/4	0/4
T7	2/4	1/4	0/4	0/4
T8	2/4	1/4	0/4	0/4
T9	1/4	1/4	0/4	0/4
T10	1/4	1/4	0/4	0/4
T11	1/4	3/4	0/4	0/4
T12	2/4	2/4	0/4	0/4

\* nº de aves com alterações/ nº de aves necropsiadas.

De acordo com os resultados apresentados pode-se verificar que os níveis de toxinas estudados provocaram megalocitose, vacuolização e proliferação das células do ducto biliar nos fígados das codornas. E nos rins hipertrofia das células do túbulo proximal.

Macroscopicamente ocorreram lesões em fígados, moelas (erosões) e rins, nos tratamentos que continham as toxinas, independente do uso de adsorvente. Portanto, o adsorvente não impediu que ocorressem lesões nas vísceras. Em experimento de MIAZZO et al. (2000) os autores observaram na



aparência macroscópica dos fígados no tratamento com 2500 µg/kg de aflatoxinas, aparência com hipertrofia, friável e com coloração amarelada, nos demais tratamentos a aparência foi normal, onde os autores evidenciam o efeito protetor de 1% de zeolita sintética. Em experimento de SAWHNEY et al. (1973) com codornas japonesas recebendo de 2000 a 6000 µg/kg de aflatoxinas, os autores observaram aumento no tamanho do fígado, sendo que a coloração variou de marron a amarelado.

O número de aves que morreram no decorrer do experimento, nos diferentes tratamentos, pode ser observado na Tabela 8. Onze aves morreram em decorrência dos efeitos das toxinas e, nas necrópsias foram observadas lesões nas vísceras estudadas, principalmente no fígado, sendo que a maioria das aves mortas apresentava prolapso. Esses resultados concordam com estudos de SHANE (1999), na qual afirma que a zearalenona tem efeito estrogênico, causando prolapso em matrizes e degeneração cística do oviduto.

Tabela 8. Número de aves encontradas mortas durante o experimento com codornas japonesas em postura recebendo alimentação com micotoxinas e adsorvente.

Tratamentos	Nº aves mortas
T1 (controle)	0
T2 (controle + 0,1% adsorvente)	2*
T3 (2000 ug/kg de zearalenona)	0
T4 (2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente)	1*
T5 (1000 ug/kg aflatoxinas)	1*
T6 (1000 ug/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente)	1*
T7 (1000 u/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona)	2
T8 (1000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente)	0
T9 (2000 ug/kg aflatoxinas)	2
T10 (2000 ug/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente)	1
T11 (2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona)	2
T12 (2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zeara + 0,1% adsorvente)	4
<b>TOTAL</b>	<b>16</b>
Aves que morreram acidentalmente	

As observações macroscópicas das vísceras, aos 28 e 56 dias estão descritas no Anexo 1.

## CONCLUSÕES

- As toxinas tiveram efeitos deletérios sobre as aves.
- As toxinas causaram megalocitos e proliferação de células do ducto biliar, em fígados.
- As toxinas provocaram hipertrofia das células do túbulo proximal, nos rins.
- Devido ao uso das toxinas, ocorreram lesões macroscópicas em fígado, moela (erosões) e rins, sendo mais severas aos 56 dias e nos maiores níveis de toxinas, independente do uso do adsorvente.
- O adsorvente não conseguiu impedir a ocorrência de lesões nas vísceras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAVIND, K. L.; PATIL, V. S.; DEVEGOWDA, G.; UMAKANTHA, B.; GANPULE, S. P. Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. **Poultry Science**, Champaign v. 82, p. 571-576, 2003.

BAILEY, R. H.; KUBENA, R. B., BUCKLEY; ROTTINGHAUS, G. E. Efficacy of various sorbents to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign v. 77, p. 1623-1630, 1998.

ESPADA, Y.; DOMINGO, M.; GOMEZ, J.; CALVO, M. A. Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin B<sub>1</sub> in broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, v. 53, p. 275-279, 1992.

HYGINO DA CRUZ, L. C. Micotoxinas: são tão importantes? In: **Micotoxinas: perspectiva latino-americana: seropédica**. UFRJ, 1996. p. 1-12.

JOHRI, T. S.; AGRAWAL, R.; SADAGOPAN, V. R. Effect of low dietary levels of aflatoxin on laying quails (*Coturnix coturnix japonica*) and their response to dietary modifications. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 60, p. 355-359, 1990.

LEDOUX, D. R.; ROTTINGHAUS, G. E.; BERMUDEZ, A. J.; ALONSO-DEBOLT, M. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign v. 78, p. 204-210, 1999.

LEESON, S.; DIAZ, G. J.; SUMMERS, J. D. **Poultry metabolic disorders and mycotoxins**. Guelph: University Books, 1995. 352 p.

MIAZZO, R.; ROSA, C. A. R.; QUEIROZ CARVALHO, E. C.; MAGNOLI, C.; CHIAECHIERA, S. M.; PALACIO, G.; SAENZ, M.; KIKOT, A.; BASALDELLA, E.; DALCERO, A. Efficacy of syntetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign v. 79, p. 1-6, 2000.

MOREIRA, J. **Efeito do selênio e aflatoxinas sobre o desempenho e a atividade de oxidase e transferase em frangos de corte normais e ascíticos**. Lavras, 2000. 110 p. (Dissertação de Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras.

OLIVEIRA, C. A. F. **Aflatoxina M1 em leite em pó distribuído pelo programa de alimentação escolar no município de São Paulo, SP-Brasil: utilização do ensaio por enzimas imuno-adsorvidas (Elisa)**. São Paulo, 1994. 95 p. (Tese de Doutorado em Saúde Pública). Curso de Pós-graduação em Saúde Pública, Faculdade de Saúde Pública de São Paulo. Universidade de São Paulo.

SAS Institute.SAS<sup>®</sup> **User's guide: statistics**, versão 8 ed., Cary, 2000.

SAWHNEY, D. S.; VADEHRA, D. V.; BAKER, R. C. Aflatoxicosis in the laying japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Poultry Science**, Champaign v. 52, p. 465-473, 1973.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144p.

SHANE, S. M. Micotoxinas são empecilhos para uma produção eficiente em avicultura. **Feeding Times**, v. 4, n. 3, p. 6-8, 1999.

[TDRI] TROPICAL DEVELOPMENT AND RESEARCH INSTITUTE.  
**Mycotoxin training manual**. London: TDRI, 1984. 95 p.

VIEIRA, M. I. **Codorna doméstica: muito ovo, ótima carne, bastante lucro**. São Paulo: Nobel:, 1987.

**ANEXO 1.** Observações macroscópicas das vísceras aos 28 e 56 dias do experimento com codornas japonesas em postura.

A) Por ocasião da necrópsia no 28º dia do experimento, foram observadas as seguintes alterações macroscópicas nas vísceras:

- a) No tratamento com 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente, dois fígados de um total de quatro observados, apresentavam manchas esverdeadas em toda a sua superfície.
- b) No tratamento com 1000 ug/kg afla + 0,1% adsorvente, todos os quatro fígados observados apresentavam-se com coloração amarelada.
- c) No tratamento com 1000 u/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona, três fígados de um total de quatro observados, apresentavam coloração amarelada, além três dos quatro baços observados estarem descorados.
- d) No tratamento com 1000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona+0,1% adsorvente, todos os quatro fígados observados apresentavam coloração amarelada.
- e) No tratamento com 2000 ug/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente, dois dos quatro fígados observados, apresentavam coloração amarelada e friáveis.
- f) No tratamento com 2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona, dois dos quatro fígados observados apresentavam manchas hemorrágicas e dois dos quatro pares de rins observados, estavam friáveis.
- g) No tratamento com 2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente, três dos quatro fígados observados, apresentavam manchas esverdeadas e duas das quatro moelas observadas apresentavam erosão.

B) Por ocasião da necrópsia no 56º dia do experimento, foram observadas as seguintes alterações macroscópicas nas vísceras:

- a) No tratamento com 2000 ug/kg de zearalenona, dois dos quatro fígados observados, apresentavam coloração amarelada.
- b) No tratamento com 1000 ug/kg aflatoxinas, duas das quatro moelas observadas, apresentavam erosão.

- c) No tratamento com 1000 ug/kg afla + 0,1% adsorvente, dois dos quatro fígados observados, apresentavam-se com coloração amarelada, e duas das quatro moelas observadas apresentavam erosão.
- d) No tratamento com 1000 u/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona, dos quatro fígados observados, dois apresentavam manchas hemorrágicas em toda sua estrutura e dois apresentavam coloração amarelada e estavam friáveis.
- e) No tratamento com 1000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente, dos quatro fígados observados, dois apresentavam coloração amarelada e um estava friável e duas das quatro moelas observadas apresentavam erosão.
- f) No tratamento com 2000 ug/kg aflatoxinas, dos quatro fígados observados, dois apresentavam-se descolorados e com manchas hemorrágicas, das quatro moelas observadas, três apresentavam erosão.
- g) No tratamento com 2000 ug/kg aflatoxinas + 0,1% adsorvente, dos quatro fígados observados, três apresentavam-se com manchas vermelho escuro, duas das quatro moelas observadas apresentavam erosão.
- h) No tratamento com 2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona, dos quatro fígados observados, dois apresentavam coloração amareladas com lesões em todo o órgão e um apresentava-se sem descolorado e com lesões em todo o órgão.
- i) No tratamento com 2000 ug/kg aflatoxinas + 2000 ug/kg zearalenona + 0,1% adsorvente, todos os quatro fígados observados apresentavam-se com lesões no cantos, todas as quatro moelas observadas, apresentavam-se com coloração escurecida e com erosão e dois dos quatro pares de rins observados, apresentavam coloração vermelho escuro.

CAPÍTULO 5  
IMPLICAÇÕES

O controle da qualidade da matéria prima para a formulação de rações é de vital importância. Na atualidade, a maioria das grandes indústrias fazem um rigoroso controle, com análises laboratoriais, por ocasião da compra de matéria prima. Ainda, como medida de segurança, durante o processo de produção, adicionam ácidos orgânicos, que vão atuar preventivamente evitando a formação de fungos.

O maior problema, é que a maioria das granjas formulam suas próprias rações, não tendo a mesma estrutura para efetuarem o controle no mesmo nível que as indústrias. Como agravante ainda tem-se que considerar que quando ocorre escassez de milho no mercado, acabam por falta de opção, comprando produtos de qualidade duvidosa, muitas vezes contaminados por micotoxinas. É necessário que seja feito um trabalho constante junto aos técnicos e proprietários a fim de que se façam análises rotineiras para micotoxinas, desde a matéria prima até a ração pronta, evitando assim prejuízos na saúde animal e queda na produção.

Em relação a qualidade de ovos, os adsorventes não conseguem evitar a transferência de resíduos de toxinas para o homem, representando um risco potencial a saúde humana ao se ingerir esse alimento.

A nível de campo, deve-se estar atento as diferenças no comportamento das aves e sinais de morbidade, analisando sempre a produção de cada galpão, pois diminuições nos parâmetros de desempenho, podem indicar problemas com micotoxinas nos animais. Os animais suspeitos devem ser encaminhados para análises nas vísceras.

Os adsorventes são produtos que se propõem a diminuir os efeitos tóxicos nos animais, apresentando melhor eficiência com aflatoxinas. São medidas paliativas, pois um animal com micotoxicose recebendo adsorvente deve melhorar a sua produção, mas esta sempre vai ser inferior a produção de um animal sadio. O melhor método ainda é a prevenção utilizando-se matérias primas de qualidade, promovendo um armazenamento adequado e conscientizando todos os funcionários envolvidos com a produção dos prejuízos causados pelas micotoxinas.