

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DOS MINERAIS SÉRICOS E DA FUNÇÃO
HEPÁTICA DE FRANGOS DE CORTE
EXPERIMENTALMENTE INTOXICADOS COM
AFLATOXINA E SUBMETIDOS A DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE MONTMORILONITA SÓDICA NA
DIETA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Carina Franciscato

Santa Maria, RS, Brasil

2006

**AVALIAÇÃO DOS MINERAIS SÉRICOS E DA FUNÇÃO
HEPÁTICA DE FRANGOS DE CORTE
EXPERIMENTALMENTE INTOXICADOS COM AFLATOXINA
E SUBMETIDOS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE
MONTMORILONITA SÓDICA NA DIETA**

Por

Carina Franciscato

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Clínica Médica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de

Mestre em Medicina Veterinária.

Orientadora: Professora Sonia Terezinha dos Anjos Lopes

Santa Maria, RS, Brasil

2006

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DOS MINERAIS SÉRICOS E DA FUNÇÃO HEPÁTICA DE
FRANGOS DE CORTE EXPERIMENTALMENTE INTOXICADOS COM
AFLATOXINA E SUBMETIDOS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE
MONTMORILONITA SÓDICA NA DIETA**

Elaborada por

Carina Franciscato

como requisito parcial para a obtenção do grau de

Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Sonia Terezinha dos Anjos Lopes, Dra. (UFSM)

(Presidente/Orientadora)

Janio Morais Santurio, Dr. (UFSM)

Claudete Schmidt, Dra. (UFSM)

Santa Maria, 03 de fevereiro de 2006.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por me guiar sempre pelo melhor caminho.

À minha mãe que me apoiou nas minhas decisões e sempre teve esperanças.

À minha orientadora, Sonia Terezinha dos Anjos Lopes, que me deu a oportunidade de trabalhar com ela para descobrir e desenvolver as minhas habilidades. Agradeço pela sua confiança e também pelas críticas que me fizeram crescer.

Ao Rodrigo pelo seu amor, incentivo e paciência.

À minha "sogra" pelos ensinamentos de inglês.

Ao professor Janio Moraes Santurio pela disponibilização do material.

À D. Deva por sua amizade, disponibilidade, e pelo convívio do dia a dia.

Aos colegas de pós graduação e a todos os estagiários do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário por estarem sempre prontos para ajudar em todos os momentos que precisei.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFSM.

Ao CNPQ, pela bolsa concedida.

Aos professores e funcionários do Hospital Veterinário por estarem sempre disponíveis nas horas de necessidade.

Aos meus cães e gatos (aos que já partiram e aos que ainda persistem), por trazerem momentos de alegria à minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUÇÃO.....	01
CAPÍTULO 1.....	03
Revisão bibliográfica.....	03
CAPÍTULO 2.....	09
Avaliação dos minerais séricos e da função hepática de frangos de corte experimentalmente intoxicados com aflatoxina e submetidos a diferentes concentrações de montmorilonita sódica na dieta	09
Resumo.....	09
Abstract.....	10
Introdução.....	11
Material e métodos.....	12
Resultados e discussão.....	13
Conclusão.....	15
Bibliografia.....	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

LISTA DE TABELAS

- TABELA 01** – Tratamentos de frangos de corte com 3 ppm de aflatoxina e diferentes concentrações de montmorilonita sódica.....21
- TABELA 02** – Composição estimada das dietas basais da fase inicial, crescimento e final de frangos de corte.....22
- TABELA 03** – Concentrações séricas de cálcio, fósforo, magnésio, proteínas totais, albumina, aspartato aminotransferase e ácido úrico em frangos de corte intoxicados experimentalmente com aflatoxina e submetidos a diferentes concentrações de montmorilonita sódica.....23

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

AVALIAÇÃO DOS MINERAIS SÉRICOS E DA FUNÇÃO HEPÁTICA DE FRANGOS DE CORTE INTOXICADOS EXPERIMENTALMENTE COM AFLATOXINA E SUBMETIDOS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MONTMORILONITA SÓDICA NA DIETA

Autor: Carina Franciscato

Orientadora: Sonia Terezinha dos Anjos Lopes
Santa Maria, 03 de fevereiro de 2006.

Aflatoxinas são metabólitos tóxicos produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, podendo ocorrer como contaminantes naturais dos alimentos. Esta toxina causa uma variedade de efeitos nas aves, incluindo diminuição da performance, doenças hepáticas, imunossupressão e mudanças no peso relativo dos órgãos. A determinação de seus efeitos bioquímicos tóxicos é importante para o diagnóstico de aflatoxicose em frangos de corte. Este estudo teve como objetivo avaliar os minerais séricos e a função hepática em frangos de corte submetidos à intoxicação experimental com 3 ppm de aflatoxina, e submetidos a diferentes concentrações da argila montmorilonita sódica na dieta. Foram utilizados 720 frangos de corte, da linhagem Cobb, divididos em 6 tratamentos do 1º ao 42º dia de vida: (T1) Controle: dieta normal; (T2) dieta com 3 ppm de aflatoxina; (T3) dieta com 0,25% de montmorilonita sódica; (T4) dieta com 3 ppm de aflatoxina + 0,25% de montmorilonita sódica; (T5) dieta com 0,50% de montmorilonita sódica; (T6) dieta com 3 ppm de aflatoxina + 0,50% de montmorilonita sódica. A dieta contendo somente aflatoxina (T2) resultou em uma significativa ($P < 0.05$) diminuição na concentração sérica de proteínas totais, albumina, globulinas e aspartato amino transferase (AST); a concentração sérica de ácido úrico diminuiu significativamente no tratamento T4; foi encontrada uma diminuição significativa nos níveis séricos de fósforo no tratamento T6; os níveis séricos de cálcio e magnésio não foram afetados pelos tratamentos. A aflatoxina na concentração de 3 ppm na dieta causa alteração na função hepática de frangos de corte. O uso da montmorilonita sódica é eficaz na prevenção dos efeitos tóxicos da aflatoxina. No entanto, a adição de 0,5% de montmorilonita sódica na dieta com aflatoxina diminuiu os níveis séricos de fósforo.

Palavras-chave: frangos de corte, aflatoxinas, montmorilonita sódica, minerais, proteínas, argila.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

EVALUATION OF THE MINERALS AND OF THE HEPATIC FUNCTION OF BROILER CHICKEN EXPERIMENTALLY INTOXICATED BY AFLATOXIN AND SUBMITTED TO DIFFERENT CONCENTRATION OF SODIC MONTMORILONITE ON THE DIET

Author: Carina Franciscato
Advisor: Sonia Terezinha dos Anjos Lopes
Santa Maria, 03 of february of 2006.

Aflatoxins are toxic metabolites produced by *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *A. nomius* genus fungi and can occur as natural contaminants of foods. Aflatoxins cause a variety of effects in poultry, including poor performance, liver pathology, immunosuppression and changes in relative organ weights. Determination of biochemical toxic effects of aflatoxins is important for diagnosis of aflatoxicosis in broiler chickens. The aim of this research was to evaluate the serum mineral and the hepatic function of broiler chicken experimentally intoxicated using 3 ppm of aflatoxin and submitted to different concentrations of clay sodic montmorillonite on the diet. In this study were used 720 Cobb's broiler chickens that were divided in 6 treatments from 1° to 42° day of life: (T1) control: normal diet; (T2) diet with 3 ppm of aflatoxin; (T3) diet with 0,25% sodic montmorillonite; (T4) diet with 3 ppm of aflatoxin + 0,25% sodic montmorillonite; (T5) diet with 0,50% sodic montmorillonite; (T6) diet with 3 ppm of aflatoxin + 0,50% sodic montmorillonite. The treatment T2 showed significantly ($P < 0.05$) decreased in serum concentrations of total protein, albumin, globulins and aspartate aminotransferase (AST); there was significant decreased on uric acid in treatment T4; in treatment T6 there was significant decrease in serum phosphorus levels; the serum calcium and magnesium were not affected by treatments. The aflatoxin in the diet (3ppm) causes changes in the hepatic function of broiler chickens. The use of sodic montmorillonite is effective in preventing the toxic effects of aflatoxins. However, addition of 0,50% sodic montmorillonite in the diet causes decrease in phosphorus levels.

Key words: broiler chicken, aflatoxin, sodic montmorillonite, minerals, proteins, clay.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas são contaminantes naturais de alimentos (KURTZMAN et al., 1987), e estão entre as mais importantes micotoxinas (OSWEILER, 1990), sendo que a maioria das micotoxicoses são causadas por produtos agrícolas contaminados, como cereais, trigo, milho, arroz, sorgo e aveia (KEDERA et al., 1999). Um quarto dos grãos produzidos no mundo estão contaminados por micotoxinas (MANNON & JONHSON, 1985; SANTURIO, 2000), portanto, o uso de produtos contaminados pela aflatoxina, para fabricação de rações, tem sido um grande problema para a indústria avícola, e vem causando sérias implicações econômicas (LEUDOUX et al., 1998; PARLAT et al., 1999).

Quanto à composição química, as aflatoxinas são metabólitos tóxicos produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (KURTZMAN et al., 1987), e possuem efeitos tóxicos agudos, mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos sobre os seres humanos e várias espécies domésticas (EDDS & BORDTELL, 1983), pois essas toxinas exercem antagonismo ao metabolismo das vitaminas, proteínas e aminoácidos, lipídios e carboidratos, agindo sobre coenzimas ou complexos enzimáticos, principalmente no fígado, além de afetar a estrutura química do DNA (KIESSLING, 1986).

A extrema toxicidade das aflatoxinas para as aves pode ser explicada pela sua rápida absorção no trato gastrointestinal (WYATT, 1991), sendo que o fígado é o órgão alvo da aflatoxicose nesta espécie (TUNG et al., 1972). Uma variedade de efeitos tóxicos pode ser causada por esta micotoxina nas aves, incluindo diminuição da performance, doenças hepáticas, imunossupressão e mudanças no peso relativo dos órgãos (EDDS & BORDTELL, 1983; KUBENA et al., 1998).

Dentre os métodos existentes para minimizar os efeitos tóxicos da aflatoxicose nas aves, o mais frequentemente utilizado é a ligação irreversível da aflatoxina a um adsorvente (DIAZ et al., 2002; OGUZ et al., 2002). Segundo OLVER (1997), os adsorventes possuem a habilidade de se aderir fisicamente à aflatoxina e impedir sua absorção pelo trato gastrintestinal, demonstrando-se inertes e não tóxicos para os animais. A montmorilonita sódica (bentonita sódica) é uma argila que está classificada no grupo dos filosilicatos e é uma substância naturalmente abundante, apresentando uma área de superfície de 800 m²/g, o que a torna um material adsorvente ideal (PHILLIPS et al., 2002).

O objetivo do presente estudo foi definir os impactos da aflatoxina, na concentração de 3 ppm, e da montmorilonita sódica sobre o metabolismo dos minerais cálcio, fósforo e magnésio, e sobre a função hepática de frangos de corte, bem como, avaliar a eficácia de proteção do referido adsorvente contra os efeitos tóxicos da aflatoxina.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A ingestão de alimentos que contenham micotoxinas pode causar graves efeitos sobre a saúde animal e humana (SANTURIO, 2000). O uso de produtos contaminados por estas toxinas, para fabricação de rações, tem sido um grande problema para a indústria avícola, e vem causando sérias implicações econômicas (LEUDOUX et al., 1998; PARLAT et al., 1999).

Micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários produzidos por vários fungos filamentosos, particularmente por espécies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* e *Altemaria* (HUWING et al., 2001), que sob condições favoráveis desenvolvem-se naturalmente nas plantas ou nos grãos, podendo a infecção ocorrer na lavoura ou durante a estocagem (BONNA et al., 1991), dependendo de fatores ambientais como umidade do substrato e temperatura ambiente (SANTURIO, 2000).

Estes metabólitos não têm significância bioquímica no crescimento e no desenvolvimento do fungo, portanto, nem todas as cepas são produtoras de toxinas nocivas. A toxicidade, freqüentemente, é espécie específica e pode ser afetada por muitos fatores incluindo idade, sexo, estresse e rota de contaminação. Em condições de umidade e temperatura apropriadas as colônias produtoras de micotoxinas podem se desenvolver facilmente, facilitando, desta forma, a contaminação (MOSS, 1991).

Entre as micotoxinas mais comuns estão as aflatoxinas, ocratoxina A, tricotecenos, zearalenona e fumonisinas (HUWING et al., 2001), dentre as quais, a aflatoxina é conhecida como a primeira micotoxina documentada por causar doença em aves (WYATT, 1991). Esta é produzida por fungos dos gêneros pelos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nominus* (KURTZMAN et al., 1987), que desenvolvem-se naturalmente em produtos alimentícios (OSWEILER, 1990).

As aflatoxinas foram descobertas em 1960, ao provocarem um surto com alta letalidade em perus na Inglaterra conhecida como “Turkey X diseases”. Neste surto milhares de aves morreram após consumirem torta de amendoim na ração, proveniente do Brasil (SARGEANT, 1961). As aves contaminadas apresentavam evidente necrose do tecido hepático (ASAO et al., 1963).

Consideradas potentes micotoxinas hepatotóxicas e hepatocarcinogênicas, seus quatro principais metabólitos tóxicos têm sido nomeados como aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ (WYATT, 1991), com a aflatoxina B₁ (AFB₁) sendo o metabólito biologicamente ativo mais comum (LEUDOUX et al., 1998).

A aflatoxicose, em aves, é caracterizada por apatia, anorexia com diminuição na taxa de crescimento, deficiente utilização do alimento, diminuição de ganho de peso, diminuição da produção de ovos, aumento da suscetibilidade ao estresse ambiental e aumento da mortalidade (BAILEY et al., 1998; KUBENA et al., 1998).

A toxicidade das aflatoxinas em frangos de corte é caracterizada pela diminuição das concentrações de proteína total, albumina, colesterol, glicose, ácido úrico, fósforo inorgânico e cálcio e no aumento da atividade enzimática da AST e ALT, indicativos de lesões hepáticas (AMER et al., 1998, SANTURIO et al., 1999), portanto, a determinação dos seus efeitos bioquímicos tóxicos é importante para o diagnóstico de aflatoxicose nesta espécie (ROSA et al., 2001).

Uma das causas da extrema toxicidade das aflatoxinas para as aves é sua rápida absorção pelo trato gastrointestinal (WYATT, 1991). Quando absorvida, a AFB₁ é rapidamente ligada, de forma reversível, à albumina e, em menor escala, a outras proteínas. Formas de aflatoxina, ligadas e não ligadas à proteínas séricas, espalham-se pelos tecidos, especialmente o fígado (SANTURIO, 2000), onde são biotransformadas por enzimas microssomais do sistema de oxidases mistas (TUNG et al., 1972), pois muitas micotoxinas, incluindo as aflatoxinas, requerem ativação metabólica para subseqüentes reações com macromoléculas e organelas celulares (WYATT, 1991).

O fígado é o órgão alvo da aflatoxicose nas aves. Os animais acometidos sofrem importantes alterações nas funções hepáticas afetando o metabolismo das proteínas, lipídeos bem como a síntese e cinética enzimática (TUNG et al., 1972). Como o principal local de síntese de proteínas é o fígado (KANEKO, 1997), um dos efeitos da aflatoxicose é a inibição da síntese protéica, devido a uma marcante inibição da enzima RNA-polimerase. Após a toxina entrar no núcleo do hepatócito, une-se ao DNA e deste modo inibe a RNA-polimerase, reduzindo a síntese de RNA-mensageiro, conseqüentemente observa-se uma acentuada redução na produção de proteínas (CLIFORD & REES, 1966).

O citoplasma do hepatócito é rico em Alanina aminotransferase (ALT) (MEYER, et al., 1992; KRAMER & HOFFMANN, 1997), portanto, uma injúria à membrana por toxina ou hipóxia, por exemplo, resulta num aumento da ALT sérica, e nas doenças hepáticas crônicas, principalmente em estágio final (cirrose), o valor da ALT sérica pode estar normal ou somente um pouco aumentado (MEYER, 1992). Mas, mesmo com altos níveis de atividade de ALT no tecido hepático das aves, elevações plasmáticas não são comuns na doença hepatocelular nesta espécie (FUDGE, 2000).

A Aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima citoplasmática e mitocondrial presente em vários tecidos como fígado, músculos esqueléticos e cardíaco, sendo que em todas as espécies domésticas a sua atividade é alta no fígado, portanto, na injúria hepática aguda ou crônica, a atividade sérica de AST está elevada (TENNANT, 1997). Entretanto, FUDGE (2000) explica que um fígado em estágio final, como na severa fibrose ou lipidose, pode produzir pouco extravasamento hepatocelular, resultando em níveis normais ou, em alguns casos, diminuídos de AST.

O ácido úrico é o produto final do metabolismo do nitrogênio mais importante nas aves. Este é um composto não tóxico quando comparado com a amônia, e é essencial para o desenvolvimento do embrião nos ovos de répteis e aves. É sintetizado no fígado e 90% excretado via secreção tubular renal (LUMEIJ, 1997).

Estudos também têm demonstrado que as aflatoxinas afetam direta ou indiretamente o metabolismo do cálcio e do fósforo nas aves (GLAHN et al., 1991). O cálcio é um mineral que representa um papel central na manutenção da homeostasia de animais vertebrados, incluindo contração muscular, coagulação sangüínea, atividade enzimática, excitabilidade neuronal, secreção hormonal e adesão celular, em adição a ser um componente estrutural essencial do esqueleto (CAPEN & ROSOL, 1993). O fósforo, por sua vez, está presente, no corpo dos mamíferos, predominantemente na forma de hidroxiapatita (90%) na matriz mineralizada dos ossos, e os 10% restantes estão nos tecidos moles intracelularmente, sendo o principal ânion intracelular e faz parte de vários processos metabólicos como metabolismo de energia, contração muscular e integridade do esqueleto (DENNIS, 1996).

Flutuações nas concentrações de cálcio e fósforo alteram rapidamente as taxas de secreção do Hormônio Paratireoideo (PTH). Os principais inibidores da síntese e secreção deste hormônio são elevadas concentrações séricas de cálcio e 1,25 dihidroxi vitamina D. A inibição do PTH por

este composto representa um importante "feed back" hormonal entre as células da paratireóide e as células do epitélio renal, porque o PTH estimula a produção renal de 1,25 dihidroxi vitamina D. As concentrações sanguíneas de fósforo não tem influência direta sobre a síntese e secreção de PTH, mas elevados níveis deste mineral levam, indiretamente, à estimulação da paratireóide, por causar diminuição do cálcio sanguíneo. Os principais efeitos biológicos do PTH são: elevar a concentração sanguínea de cálcio; diminuir a concentração sanguínea de fósforo; aumentar a excreção urinária de fosfato por diminuir a sua reabsorção tubular; aumentar a reabsorção tubular de cálcio, resultando em diminuição da perda urinária de cálcio; acelerar a formação do principal metabólito ativo da vitamina D (1,25 dihidrocolecalciferol) pelo rim (ROSOL & CAPEN, 1997).

GLAHN et al. (1991) explicam que os efeitos das aflatoxinas sobre os minerais já citados podem estar relacionados com alterações no metabolismo da vitamina D e do PTH, pois esta micotoxina pode diminuir a síntese de PTH endógeno ou alterar a sensibilidade renal a este hormônio, podendo ainda, reduzir a síntese de 1,25 dihidroxi vitamina D, causando assim, diminuição da excreção de fósforo e aumento na excreção de cálcio.

O magnésio é um elemento essencial da dieta para animais, é um cátion essencialmente intracelular e funciona como um ativador ou catalizador de mais de 300 enzimas no corpo, incluindo fosfatases e enzimas que envolvem ATP (ROSOL & CAPEN, 1997). Este mineral tem um efeito sobre a secreção da paratireóide similar ao cálcio, mas não equivalente a este (MAYER & HURST, 1978).

Vários procedimentos têm sido implementados para minimizar a ingestão de aflatoxinas por aves (OGUZ et al., 2000). Os métodos que objetivam eliminar ou reduzir os níveis de contaminação de micotoxinas dos alimentos levam em consideração estratégias de descontaminação e detoxificação. Isto inclui métodos físicos, químicos e biológicos, desde que estes métodos apresentem efetividade na remoção, destruição e inativação das micotoxinas; ausência de efeitos tóxicos ou carcinogênicos; não alterem as propriedades nutritivas nem a palatabilidade dos alimentos; e sejam econômica e tecnologicamente viáveis, não alterando o preço final do produto (DIAZ & SMITH, 2005).

HUWING et al. (2001) explicam que os métodos biológicos envolvem a degradação das micotoxinas por microrganismos; métodos químicos induzem a destruição de micotoxinas por diferentes produtos químicos (ácidos ou básicos) ou tratamentos por ozonização e amoniação; e

os físicos fazem a remoção das micotoxinas através da utilização de diferentes substâncias inorgânicas, denominadas adsorventes, adicionadas às dietas contaminadas.

Dentre estes métodos, o mais frequentemente utilizado é a ligação irreversível da aflatoxina a um adsorvente (DIAZ et al., 2002), na tentativa de se minimizar os efeitos tóxicos da aflatoxina nas aves (OGUZ et al., 2002). Segundo OLVER (1997), os adsorventes possuem a habilidade de se aderir fisicamente à aflatoxina e impedir sua absorção pelo trato gastrointestinal demonstrando-se inerte e não tóxico para os animais.

Desde o início da década de 90, estudos baseados em adsorventes têm sido realizados para remover as aflatoxinas contaminantes dos alimentos e minimizar seus efeitos tóxicos nas aves. Os adsorventes como as zeolitas naturais e sintéticas, bentonitas (montmorilonita) e clinoptilolitas têm sido os preferidos devido a sua alta capacidade de adsorção das aflatoxinas e sua redução dos efeitos da absorção destas no trato gastrointestinal (OGUZ et al, 2002).

A montmorilonita sódica (bentonita sódica) é uma argila que está classificada no grupo dos filosilicatos, estes têm sido empregados na indústria como agentes descorantes e como filtros para água e produtos alimentícios. A funcionalidade desta classe de minerais reside nas propriedades químicas e estruturais das camadas de sílica. São estruturas estratificadas constituídas por placas tetraédricas e octaédricas, onde as placas tetraédricas são compostas por 4 moléculas de SiO_4 ligadas entre si. As placas octaédricas consistem de dois planos de grupos OH^- os quais formam um arranjo hexagonal. A carga negativa desta estrutura é neutralizada pela presença de cátions nos espaços octaédricos entre as camadas, geralmente os íons Mg^{+2} ou Al^{+3} . A molécula de filosilicato pode apresentar diferentes arranjos, dependendo da forma como as placas podem estar conectadas, formando assim arranjos 1:1 (uma camada tetraédrica ligada a uma camada octaédrica) ou 2:1 (uma camada octaédrica ligada por ambos os lados a camadas tetraédricas). Como a molécula apresenta carga negativa, cátions como sódio e cálcio, são atraídos para as regiões internas (intercamadas) com a finalidade de neutralização das cargas (PHILLIPS et al., 2002).

Devido a sua capacidade de troca iônica, estes produtos têm sido amplamente utilizado como agentes seqüestrantes de micotoxinas (DIAZ & SMITH, 2005). Associado a este fato, os cátions internos são sujeitos a hidratação e, assim, quando a água penetra nas regiões internas da argila, promove a sua expansão (PHILLIPS et al., 2002).

Estudos sobre a adsorção da AFB1 em montmorilonita têm mostrado que a quantidade máxima de adsorção em solução aquosa, a um pH 2 e 8, foi de 613,5 µg (80%) e 628,9 µg (90%) de AFB1/g de montmorilonita, respectivamente (DESHENG et al., 2005). Isto indica que este agente tem forte habilidade de adsorção (DIAZ et al., 2002), pois é uma substância naturalmente abundante e apresenta uma área de superfície tão alta quanto 800 m²/g (PHILLIPS et al., 2002). SANTURIO et al. (1999) observaram que a montmorilonita sódica, quando incluída na concentração de 0,5%, melhorou os ganhos de peso, consumo alimentar e eficácia produtiva.

CAPÍTULO 2

Avaliação dos minerais séricos e da função hepática de frangos de corte intoxicados experimentalmente com aflatoxina e submetidos a diferentes concentrações de montmorilonita sódica na dieta

Evaluation of the minerals and of the hepatic functions of broiler chicken experimentally intoxicated by aflatoxin and submitted to different concentration of sodic montmorilonite on the diet

Carina Franciscato⁽¹⁾, Sonia Terezinha dos Anjos Lopes⁽²⁾, Janio Morais Santurio⁽³⁾, Patrícia Wolkmer⁽⁴⁾, Roberto Marinho Maciel⁽¹⁾, Maribel Trindade de Paula⁽²⁾, Bruna Carolina Garmatz⁽²⁾, Marcio Machado Costa⁽²⁾, Alexandre Rosa⁽⁵⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Autor para Correspondência: Carina Franciscato, RS 509, Km 05, nº 3112, CEP: 97110-620, Santa Maria, RS. E-mail: carinafranciscato@yahoo.com.br, roberto.marinho@uol.com.br

⁽²⁾UFSM, Departamento de Clínica de Pequenos Animais. E-mail: sonia@smail.ufsm.br, maribelvet@hotmail.com, brunagar@yahoo.com.br, marmcvet@yahoo.com.br

⁽³⁾UFSM, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. E-mail: santurio@ccr.ufsm.br

⁽⁴⁾Médica Veterinária Autônoma. E-mail: patiwol@hotmail.com

⁽⁵⁾UFSM, Departamento de Zootecnia. E-mail: alexandre@ccr.ufsm.br

RESUMO

Aflatoxinas são metabólitos tóxicos produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, podendo ocorrer como contaminantes naturais dos alimentos. Esta toxina causa uma variedade de efeitos nas aves, incluindo diminuição da performance, doenças hepáticas, imunossupressão e mudanças no peso relativo dos órgãos. A determinação de seus efeitos bioquímicos tóxicos é importante para o diagnóstico de aflatoxicose em frangos de corte. Este estudo teve como objetivo avaliar os minerais séricos e a função hepática em frangos de corte

submetidos à intoxicação experimental com 3 ppm de aflatoxina, e submetidos a diferentes concentrações da argila montmorilonita sódica na dieta. Foram utilizados 720 frangos de corte, da linhagem Cobb, divididos em 6 tratamentos do 1º ao 42º dia de vida: (T1) Controle: dieta normal; (T2) dieta com 3 ppm de aflatoxina; (T3) dieta com 0,25% de montmorilonita sódica; (T4) dieta com 3 ppm de aflatoxina + 0,25% de montmorilonita sódica; (T5) dieta com 0,50% de montmorilonita sódica; (T6) dieta com 3 ppm de aflatoxina + 0,50% de montmorilonita sódica. A dieta contendo somente aflatoxina (T2) resultou em uma significativa ($P < 0.05$) diminuição na concentração sérica de proteínas totais, albumina, globulinas e aspartato amino transferase (AST); a concentração sérica de ácido úrico diminuiu significativamente no tratamento T4; foi encontrada uma diminuição significativa nos níveis séricos de fósforo no tratamento T6; os níveis séricos de cálcio e magnésio não foram afetados pelos tratamentos. A aflatoxina na concentração de 3 ppm na dieta causa alteração na função hepática de frangos de corte. O uso da montmorilonita sódica é eficaz na prevenção dos efeitos tóxicos da aflatoxina. No entanto, a adição de 0,5% de montmorilonita sódica na dieta com aflatoxina diminui os níveis séricos de fósforo.

Palavras-chave: frangos de corte, aflatoxinas, montmorilonita sódica, minerais, proteínas, argila.

ABSTRACT

Aflatoxins are toxic metabolites produced by *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *A. nomius* genus fungi and can occur as natural contaminants of foods. Aflatoxins cause a variety of effects in poultry, including poor performance, liver pathology, immunosuppression and changes in relative organ weights. Determination of biochemical toxic effects of aflatoxins is important for diagnosis of aflatoxicosis in broiler chickens. The aim of this research was to evaluate the serum mineral and the hepatic function of broiler chicken experimentally intoxicated using 3 ppm of aflatoxin and submitted to different concentrations of clay sodic montmorilonite on the diet. In this study were used 720 Cobb's broiler chickens that were divided in 6 treatments from 1º to 42º day of life: (T1) control: normal diet; (T2) diet with 3 ppm of aflatoxin; (T3) diet with 0,25% sodic montmorilonite; (T4) diet with 3 ppm of aflatoxin + 0,25% sodic montmorilonite; (T5) diet with 0,50% sodic montmorilonite; (T6) diet with 3 ppm of aflatoxin + 0,50% sodic

montmorilonite. The treatment T2 showed significant ($P < 0.05$) decrease in serum concentrations of total protein, albumin, globulins and aspartate aminotransferase (AST); there was significant decrease on uric acid in treatment T4; in treatment T6 there was significant decrease in serum phosphorus levels; there was not variation on the serum values of calcium and magnesium. The aflatoxin in the diet (3ppm) causes changes in the hepatic function of broiler chickens. The use of sodic montmorilonite is effective in preventing the toxic effects of aflatoxins. However, addition of 0,50% sodic montmorilonite in the diet cause decreases in phosphorus levels.

Key words: broiler chicken, aflatoxin, sodic montmorilonite, minerals, proteins, clay.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas são contaminantes naturais de alimentos (KURTZMAN *et al.*, 1987), e estão entre as mais importantes micotoxinas (OSWEILER, 1990), sendo que maioria das micotoxicoses são causadas por produtos agrícolas contaminados, como cereais, trigo, milho, arroz, sorgo e aveia (KEDERA *et al.*, 1999). STRINGHINI *et al.* (2000) cita que danos mecânicos nos grãos ocorrem no transporte, na limpeza, secagem e colheita, dando origem a grãos quebrados e trincados, o que aumenta o teor de umidade destes, favorecendo o desenvolvimento de fungos. Portanto, o milho, que representa um importante papel na avicultura (DALE, 1994), em condições inadequadas de armazenamento, pode sofrer perdas no valor quantitativo e qualitativo devido ao ataque de pragas e fungos, desde o campo até a época de consumo (LOPES *et al.*, 1988). Um quarto dos grãos produzidos no mundo estão contaminados por micotoxinas (MANNON & JONHSON, 1985; SANTURIO, 2000), portanto, o uso de produtos contaminados pela aflatoxina, para fabricação de rações, tem sido um grande problema para a indústria avícola, e vem causando sérias implicações econômicas (LEDOUX *et al.*, 1998; PARLAT *et al.*, 1999).

Quanto à composição química, as aflatoxinas são metabólitos tóxicos produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (KURTZMAN *et al.*, 1987), e possuem efeitos tóxicos agudos, mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos nos seres humanos e várias espécies domésticas (EDDS & BORDTELL, 1983), pois essas toxinas exercem antagonismo ao metabolismo das vitaminas, proteínas e aminoácidos, lipídios e carboidratos, agindo sobre

coenzimas ou complexos enzimáticos, principalmente no fígado, além de afetar a estrutura química do DNA (KIESSLING, 1986).

A extrema toxicidade das aflatoxinas para as aves pode ser explicada pela sua rápida absorção no trato gastrointestinal (WYATT, 1991), sendo que o fígado é o órgão alvo da aflatoxicose nesta espécie (TUNG et al., 1972). Uma variedade de efeitos tóxicos podem ser causados por esta micotoxina nas aves, incluindo diminuição da performance, doenças hepáticas, imunossupressão e mudanças no peso relativo dos órgãos (EDDS & BORDTELL, 1983). O fígado, caracteristicamente, está pálido e aumentado de volume como resultado da aflatoxicose, com alterações microscópicas como degeneração gordurosa, necrose hepática e hiperplasia biliar (LEDOUX, 1998).

A determinação dos efeitos bioquímicos tóxicos da aflatoxina é importante para o diagnóstico de aflatoxicose em frangos de corte (ROSA et al., 2001). A sua toxicidade nestes animais é caracterizada pela diminuição das concentrações de proteína total, albumina, colesterol, glicose, ácido úrico, fósforo inorgânico e cálcio e no aumento da atividade enzimática da AST e ALT, indicativos de lesões hepáticas (AMER et al., 1998, SANTURIO et al., 1999).

Dentre os métodos existentes para minimizar os efeitos tóxicos da aflatoxicose nas aves, o mais freqüentemente utilizado é a ligação irreversível da aflatoxina a um adsorvente (DIAZ et al., 2002; OGUZ et al., 2002). Segundo OLVER (1997), os adsorventes possuem a habilidade de se aderir fisicamente à aflatoxina e impedir sua absorção pelo trato gastrintestinal demonstrando-se inertes e não tóxicos para os animais. A montmorilonita sódica (bentonita sódica) está no grupo dos filosilicatos e é uma substância naturalmente abundante, apresentando uma área de superfície de 800 m²/g, o que a torna um material adsorvente ideal (PHILLIPS et al., 2002).

O objetivo do presente estudo foi definir os impactos da aflatoxina, na concentração de 3 ppm, e da montmorilonita sódica sobre o metabolismo dos minerais cálcio, fósforo e magnésio, e sobre a função hepática de frangos de corte, bem como, avaliar a eficácia de proteção do referido adsorvente contra os efeitos tóxicos da aflatoxina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 720 aves de linhagem Cobb, machos, provenientes do incubatório do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. As aves foram mantidas do 1º dia até 42º dias de vida, neste mesmo Setor, permanecendo separadas

em 36 lotes, com 20 aves por box, divididas em 6 tratamentos (tabela 1), com 6 repetições por tratamento. O programa de iluminação utilizado foi constante, com 24 horas de luminosidade, nos primeiros 21 dias de idade, após foi utilizado apenas iluminação natural com o objetivo de reduzir o stress das aves. A água foi fornecida *ad libitum* durante todo o experimento. A ração foi formulada de acordo com a fase de desenvolvimento das aves, conforme tabela 2.

A aflatoxina foi produzida pelo Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) – UFSM, conforme metodologia de SHOTWELL et al. (1966), a partir da fermentação controlada do fungo *Aspergillus parasiticus*, cepa NRRL 2999 em arroz parboilizado. Tanto a aflatoxina quanto a montmorilonita sódica¹ foram adicionadas à ração durante a formulação desta.

Quando os frangos atingiram 42 dias de idade, foram selecionados aleatoriamente 12 aves de cada tratamento, totalizando 72 aves. De cada ave coletou-se 10 mL de sangue por punção cardíaca após dessensibilização por corrente elétrica. O soro foi separado por centrifugação e estocado à -20°C para posterior análise das concentrações séricas de cálcio, fósforo, magnésio, proteínas totais, albumina, aspartato aminotransferase (AST) e ácido úrico. As provas bioquímicas foram efetuadas por meio de processo cinético em analisador semi-automático², utilizando-se kits comerciais³. As globulinas foram determinadas pela diferença entre proteínas e albumina.

A análise estatística incluiu análise de variância, teste F e teste de Tukey. O nível de significância foi o de 5 % de probabilidade. As análises foram efetuadas utilizando-se o pacote estatístico SAS, versão 8.02.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão demonstrados na tabela 3, e representam as alterações nos valores bioquímicos séricos de frangos de corte intoxicados experimentalmente com aflatoxina e submetidos a diferentes concentrações de montmorilonita sódica na dieta. Os animais que receberam somente aflatoxina (T2) apresentaram perda de peso, retardo no crescimento e mortalidade, concordando com (BAILEY et al., 1998; KUBENA et al.,1998), que descrevem estes como sendo alguns dos sinais apresentados por aves com aflatoxicose.

¹ SANPHAR – Química e Farmacêutica Ltda, Campinas – SP, Brasil

² Bioplus - Bio 200 FL, São Paulo, Brasil.

³ Labtest Diagnóstica, Centerlab, Porto Alegre - RS, Brasil.

Neste trabalho, não houve diminuição nos níveis de cálcio sérico, diferindo dos relatos de GLAHN et al. (1991), FERNANDEZ et al. (1994) e ERASLAN et al. (2005) que descrevem diminuição na concentração sérica deste mineral na toxicose causada por aflatoxinas em aves. No entanto, ocorreu diminuição significativa nos valores de fósforo dos animais tratados com aflatoxina e 0,5% de montmorilonita sódica (T6), concordando com SANTURIO et al. (1999) que observaram redução de 30% dos níveis séricos de fósforo devido a inclusão do adsorvente. ERASLAN et al. (2005) consideram que esta diminuição é devido à alta capacidade adsorvente da bentonita sódica (montmorilonita sódica), que pode adsorver também cálcio e fósforo, além da aflatoxina, no trato gastrointestinal, porém, neste estudo não ocorreu a adsorção do cálcio, somente do fósforo.

Não houve alterações nos níveis de magnésio, comprovando que a aflatoxina não afeta o metabolismo deste mineral. CHESTNUT et al. (1992) relataram que o uso do adsorvente aluminossilicato sódio-cálcio hidratado (HSCAS) em ovelhas prejudicou a absorção de magnésio. No presente experimento, o uso de montmorilonita sódica nas aves não alterou os níveis séricos deste mineral, portanto, este adsorvente, nas concentrações de 0,25% e 0,5%, não afeta a absorção intestinal de magnésio.

Conforme HUFF et al., (1986a) e KEÇECI et al., (1998), a diminuição dos níveis séricos de proteína e albumina são indicadores confiáveis de hepatotoxicidade em frangos e perus devido a aflatoxicose. Nesta pesquisa, observou-se diminuição das proteína totais, albumina e globulinas nos animais que receberam somente aflatoxina (T2), concordando com os resultados obtidos por TUNG et al. (1972), HARVEY et al. (1988), OGUZ (2000), BATINA et al. (2005) e CELIK et al. (2005), que também obtiveram diminuição de proteína totais e albumina em intoxicações experimentais por aflatoxina, portanto, sugere-se que estes animais apresentaram comprometimento de suas funções hepáticas.

Houve diminuição significativa nos níveis de AST nos animais tratados somente com aflatoxina (T2) quando comparados com os outros tratamentos. Como os animais do tratamento T2 apresentaram comprometimento de suas funções hepáticas, caracterizado por diminuição das proteína totais, albumina e globulinas, a diminuição dos níveis séricos de AST associada aos sinais de ascite e icterícia hepática observados na necrópsia, sugere que estes animais estivessem desenvolvendo cirrose hepática, causada pela ingestão de elevadas concentrações de aflatoxina por 42 dias consecutivos. HARVEY et al. (1988) já relataram alterações histológicas, como

fibrose interlobular, no fígado de aves com aflatoxicose. E, conforme explica FUDGE (2000), um fígado em estágio final, como na severa fibrose ou lipidose, pode produzir pouco extravasamento hepatocelular, resultando em níveis normais ou diminuídos de AST.

No tratamento T2, observou-se uma diminuição numérica na concentração de ácido úrico, mesmo não sendo significativa, essa alteração pode ser uma das conseqüências da aflatoxina sobre a função hepática, pois este é sintetizado no fígado (LUMEIJ, 1997). Já no tratamento T4, os níveis séricos de ácido úrico apresentaram-se significativamente diminuídos, demonstrando que a montmorilonita, na concentração de 0,25%, não foi capaz de prevenir os efeitos tóxicos da aflatoxina sobre o metabolismo do ácido úrico. A diminuição sérica de ácido úrico está de acordo com HUFF et al. (1986b), ABO-NORAG et al. (1995), OGUZ et al. (2000) e BATINA et al. (2005) que observaram resultados semelhantes em frangos com aflatoxicose experimentalmente induzida. ABO-NORAG et al. (1995) afirmam que essa menor concentração de ácido úrico em tratamentos com aflatoxina é um reflexo da prejudicada utilização das proteínas.

Animais dos tratamentos T4 e T6, que receberam 3 ppm de aflatoxina na dieta, mas que foram tratados concomitantemente com 0,25% ou 0,5% de montmorilonita sódica, respectivamente, não apresentaram diminuição nos níveis séricos de proteína totais, albumina, globulinas e AST, comprovando a eficácia de proteção deste adsorvente contra os efeitos tóxicos da aflatoxina sobre estes parâmetros. Porém, este adsorvente só evitou a diminuição sérica de ácido úrico quando foi administrado na concentração de 0,5%, o que está de acordo com SANTURIO et al. (1999) e BATINA et al. (2005), que utilizaram o mesmo adsorvente, em frangos de corte intoxicados por aflatoxina na dieta, e concluíram que a adição de montmorilonita sódica é capaz de prevenir os efeitos da aflatoxicose.

Os animais que receberam apenas montmorilonita sódica nas concentrações de 0,25% e 0,5% na dieta (T3 e T5, respectivamente) não apresentaram alterações nos parâmetros analisados, concordando com BATINA et al. (2005), que já demonstraram que este adsorvente não tem efeito sobre a dieta ou biodisponibilização de nutrientes.

CONCLUSÃO

A aflatoxina na concentração de 3 ppm causa diminuição da função hepática, evidenciada pela diminuição dos níveis séricos de proteínas totais, albumina, globulinas e AST. O uso da

montmorilonita sódica nas concentrações de 0,5% é eficaz na prevenção dos efeitos tóxicos da aflatoxina sobre a função hepática. No entanto, a montmorilonita sódica na concentração de 0,5%, adicionada à dieta com aflatoxina, diminui os níveis séricos de fósforo em frangos de corte.

AGRADECIMENTOS

Ao professor José Henrique Souza da Silva, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, pela orientação nas análises estatísticas deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

ABO-NORAG, M.; EDRINGTON, T.S.; KUBENA, L.F.; HARVEY, R.B. Influence of hydrated sodium calcium aluminosilicate and virginiamycin on aflatoxicosis in broiler chicks. **Poultry Science**, v.74, p.626– 632, 1995.

AMER, A.M.M.; FAHIN, E.M.M.; IBRAHIM, R.K. Effect of aflatoxicosis on kinetic behaviour of ceftiofur in chickens. **Research Veterinary Science**, v.65, p.115-118, 1998.

BATINA, P.N.; LOPES, S.T.A.; SANTURIO, J.M.; SOUZA, C.; MARTINS, D.B. Efeitos da adição de montmorilonita sódica na dieta sobre o perfil bioquímico de frangos de corte intoxicados com aflatoxina. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.826-831, 2005.

CELIK, S.; ERDOGAN, Z.; ERDOGAN, S.; BAL, R. Efficacy of tribasic copper choride (TBCC) to reduce the harmful effects of aflatoxin in broilers. **Turk Journal of Veterinary Animal Science**, v.29, p.909-916, 2005.

CHESTNUT, A.B.; ANDERSON, P.D., COCHRAN, M.A.; FRIBOURG, H.A.; GWINM, K.D. Effects of hidrated sodium calcium aluminosilicate on fescue toxicosis and mineral absorption. **Journal of Animal Science**, v.70, p.2838-2846, 1992.

DALE, N. Matching corn quality and nutritional value. **Feed Mix**, v.2, n.1, p.26-29, 1994.

DIAZ, D.E.; HAGLER, W.M.Jr.; HOPKINS, B.A.; WHITLOW, L.W. Aflatoxin binders I: in vitro binding assay for aflatoxin B₁ by several potential sequestering agents. **Mycopathologia**, v.156, p.223-226, 2002.

EDDS, G.T., BORTELL, R.A. Biological effects of aflatoxins: poultry toxin and *Aspergillus flavus* in corn. In: U.L. DIERNER, R.L ASQUIT, J.W. DICKENS. **Bulletin of Alabama Agricola Experiment Station**, Alabama : Auburn University, 1983. p. 64-66.

ERASLAN, G.; ESSIZ, D.; AKDOGAN, M.; SAHINDOKUYUCU, F.; ALTINTAS, L. The effects of aflatoxin and soduim bentonite combined and alone on some blood electrolyte levels in broiler chickens. **Turk Journal of Veterinary Animal Science**, v.29, p.601-605, 2005.

FERNANDEZ, A.; VERDE, M., GASCON, M., RAMOS, J.; GOMEZ, J.; LUCO, D.F.; CHAVEZ, G. Variations of clinical, bichemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin-containing feed. **Avian Pathology**, v.23, n.37-47, 1994.

FUDGE, A.M. Avian liver and gastrointestinal testing. In: FUDGE, A.M. **Laboratory medicine - avian and exotic pets**. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 2000. p.35-55.

GLAHN, R.P.; BEERS, K.W.; BOTTJE, W.G.; WIDEMAN, R.F.Jr.; HUFF, W.E.; THOMAS, W. Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium, and vitamin D metabolism. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v.34, p.309-321, 1991.

HARVEY, R.B.; HUFF, W.E.; KUBENA, L.F.; CORRIER, D.E.; PHILLIPS, T.S. Progression of aflatoxicosis in growing barrows. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, n.4, p.482-487, 1988.

HUFF, W.E.; KUBENA, L.F.; HARVEY, R.B.; CORRIER, D.E.; MOLLENHAUER, H.H. Progression of aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science**, v.65, p.1891-1899, 1986a.

HUFF, W.E.; KUBENA, L.F.; HARVEY, R.B.; PHILLIPS, T.D.; HAGLER, W.M.; SORENSON, S.P.; GIEGLER, C.R. Individual and combined effect of aflatoxin and deoxynivalenol (DON, Vomitoxin) in broiler chicken. **Poultry Science**, v.65, p.1291-1298, 1986b.

KEÇEÇI, T.; OGUZ, H.; KURTOGLU, V.; DEMET, O. Effects of polyvinylpyrrolone, synthetic zeolite and betonite on serum biochemical and haematological charactes of broiler chickens during aflatoxicosis. **British Poultry Science**, v.39, p. 452-458, 1998.

KEDERA, C.J.; PLATTNER, R.D.; DESJARDINS, A.E. Incidence of *Fusarium spp.* and levels of fumonisin B1 in maize in western Kenya. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p.41-45, 1999.

KIESSLING, K. Biochemical mechanism of action of mycotoxins. **Pure and Applied Chemistry**, v.58, n.2, p.327-328, 1986.

KURTZMAN, C.P.; HORN, B.W.; HESSELTINE, C.W. *Aspergillus nominus*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamari*. **Antonie Leeuwenhoek**, v.53, p.147-158, 1987.

LEDOUX, D.R.; ROTTINGHAUS, G.E.; BERMUDEZ, A.J.; ALONSO-DEBOLT, M. Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chickens. **Poultry Science**, v.77, p.204-210, 1998.

LOPES, D.C.; FONTES, R.A.; DONZELE, J.L. et al. Perda de peso e mudanças na composição química do milho (*Zea mays*) devido ao carunchamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.17, n.4, p.367-371, 1988.

LUMEIJ, J.T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. London : Academic Press, 1997. p.857-883.

MANNON, J.; JONHSON, E. Fungi down on the farm. **New Scientist**, v.105, p.12-16, 1985.

OGUZ, H.; KEÇEÇI, T.; BIRDANE, Y.O.; ÖNDER, F.; KURTOGLU, V. Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. **Research Veterinary Science**, v.69, p.83-93, 2000.

OGUZ H.; KURTOGLU, F.; KURTOGLU, V.; BIRDANE, Y.O. Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. **Research Veterinary Science**, v.73, p.101-103, 2002.

OLVER, M.D. Effects of feeding clinoptilolite (zeolite) on the performance of three strains of laying hens. **Poultry Science**, v.38, p.220-222, 1997.

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

PARLAT, S.S.; YILDIZ, A.O.; OGUZ, H. Effects of clinoptilolite on fattening performance of Japanese quail (*Coturnixcoturnix japonica*) during experimental aflatoxicosis. **British Poultry Science**, v.40, p.495-500, 1999.

PHILLIPS, T.D.; LEMKE, S.L.; GRANT,P.G. Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxins. In: DEVRIES, J.W.; TRUCKSESS, M.W.; JACKSON, L.S. **Mycotosins and food safety**. New York : Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002. p.157-171.

ROSA, C.A.R.; MIAZZO, R.; MAGNOLI, C.; SALVANO, M.; CHIACCHIERA, S.M.; FERRERO, S.; SALUZ, M.; CARVALHO, E.C.Q.; DALCERO, A. Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. **Poultry Science**, v.80, p.139-144, 2001.

SANTURIO, J.M.; MALLMANN, C.A.; ROSA, A.P.; APPEL, G.; HEER, A.; DAGEFORDE, S.; BOTTCHEER, M. Effect of sodium bentonite on performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. **British Poultry Science**, v.40, p.115-119, 1999.

SANTURIO, J.M. Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.1, p.01-12, 2000.

SHOTWELL, O.L.; HESSELTINE, C.W., STUBBLEFIELD, R.D.; SORENSON, W.G. Production of aflatoxin on rice. **Applied Microbiology**, v.14, n.3, p.425-428, 1966.

STRINGHINI, J.H.; MOGYCA, N.S., ANDRADE, M.A., ORSINE, G.F.; CAFÉ, M.B.; BORGES, S.A. Efeito da qualidade do milho no desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.191-198, 2000.

TUNG, H.T., DONALDSON, W.E. & HAMILTON, P.B. Altered lipid transport during aflatoxicosis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.22, p.795-800, 1972.

WYATT, R.D. Poultry. IN: SMITH, J.E; HENDENSON, R.S. **Mycotoxins and Animal Foods**. Boca Raton : CRC Press, 1991. p.553-605.

Tabela 1 – Tratamentos de frangos de corte com 3 ppm de aflatoxina e diferentes concentrações de montmorilonita sódica.

TRATAMENTOS	AFLATOXINA (ppm)	MONTMORILONITA SÓDICA (%)
1	0	0
2	3	0
3	0	0,25
4	3	0,25
5	0	0,5
6	3	0,5

Tabela 2 – Composição estimada das dietas basais da fase inicial, crescimento e final de frangos de corte.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA	Fases		
	Inicial (1- 21 dias)	Crescimento (22 – 36 dias)	Final (36 – 42 dias)
Proteína Bruta (%)	22,00	20,00	20,00
Ener. Met. (kcal/kg)	3050	3100	3200
Cálcio (%)	1,00	0,96	0,90
Fósforo Útil (%)	0,45	0,45	0,40
Lisina (%)	1,30	1,17	1,10
Metionina (%)	0,56	0,54	0,52
Met+Cist (%)	0,92	0,89	0,88
Treonina (%)	0,80	0,71	0,71
Triptofano (%)	0,20	0,22	0,22

Tabela 3 - Concentrações séricas de cálcio, fósforo, magnésio, proteínas totais, albumina, aspartato aminotransferase (AST) e ácido úrico em frangos de corte intoxicados experimentalmente com aflatoxina e submetidos a diferentes concentrações de montmorilonita sódica.

Aflatoxina (ppm)	MMS* (%)	Cálcio (mg/dL)	Fósforo (mg/dL)	Magnésio (mg/dL)	Proteína (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulina (g/dL)	AST (U/L)	Ácido Úrico (mg/dL)
0	0	10,63 ^a	8,10 ^a	2,64 ^a	3,17 ^a	1,16 ^a	2,01 ^a	307,08 ^{a,b}	5,8 ^{a,b}
3	0	9,10 ^a	7,71 ^{a,b}	2,50 ^a	1,75 ^b	0,79 ^b	0,96 ^b	255,25 ^b	5 ^{a,b}
0	0,25	9,28 ^a	7,10 ^{a,b}	2,82 ^a	2,99 ^a	1,24 ^a	1,75 ^a	342,33 ^a	6,07 ^{a,b}
3	0,25	9,83 ^a	6,65 ^{a,b}	2,69 ^a	2,66 ^a	0,98 ^{a,b}	1,68 ^a	262,08 ^{a,b}	4,55 ^b
0	0,5	9,10 ^a	7,37 ^{a,b}	2,58 ^a	2,94 ^a	1,22 ^a	1,72 ^a	323,25 ^{a,b}	6,65 ^a
3	0,5	9,79 ^a	6,54 ^b	2,62 ^a	3,02 ^a	1,23 ^a	1,79 ^a	277,58 ^{a,b}	5,47 ^{a,b}

Na coluna, médias seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente

*Montmorilonita Sódica

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABO-NORAG, M. et al. Influence of hydrated sodium calcium aluminosilicate and virginiamycin on aflatoxicosis in broiler chicks. **Poultry Science**, v.74, p.626– 632, 1995.

AMER, A.M.M. et al. Effect of aflatoxicosis on kinetic behaviour of ceftiofur in chickens. **Research Veterinary Science**, v.65, p.115-118, 1998.

ASAO, T. et al. Aflatoxins B1 and G1. **Journal American Chemical Society.**, v.85, p.706–1707, 1963.

BATINA, P.N. et al. Efeitos da adição de montmorilonita sódica na dieta sobre o perfil bioquímico de frangos de corte intoxicados com aflatoxina. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.826-831, 2005.

BAILEY, R.H. et al. Efficacy of various inorganic sorbents to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin en broiler chickens. **Poultry Science**, v.77, p.1623-1630, 1998.

BONNA, R.J. et al. Efficacy if hydrated sodium calcium aluminosilicate and activated charcoal in reducing the toxicity of dietary aflatoxin to mink. **Archives Environmental Contamination and Toxicology**, v.20, p.441-447, 1991.

CAPEN, C.C.; ROSOL, T.J. Hormonal control of mineral metabolism. In: BOJRAB, M.J. **Disease mechanisms in small animal surgery**. Philadelphia : Lea & Febiger, 1993. p.841-857.

CELIK, S. et al. Efficacy of tribasic copper choride (TBCC) to reduce the harmful effects of aflatoxin in broilers. **Turk Journal of Veterinary Animal Science**, v.29, p.909-916, 2005.

CHESTNUT, A.B. et al. Effects of hidrated sodium calcium aluminosilicate on fescue toxicosis and mineral absorption. **Journal of Animal Science**, v.70, p.2838-2846, 1992.

CLIFORD, J.I.; RESS, K.R. Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell. **Nature**, v.209, p.312-313, 1966.

DALE, N. Matching corn quality and nutritional value. **Feed Mix**, v.2, n.1, p.26-29, 1994.

DENNIS, V.W. Phosphate metabolism: contribution of different cellular compartments. **Kidney international**, v.49, p.938-942, 1996.

DESHENG, Q. et al. Adsorption of aflatoxin B₁ on montmorillonite. **Poultry Science**, v.84, p.959-961, 2005.

DIAZ, D.E.; SMITH, T.K. Mycotoxin sequestering agents: practical tools for the neutralization of mycotoxins. In: DIAZ, D.E. **The mycotoxin blue book**. Nottingham : University Press, 2005. p.323-339.

DIAZ, D.E. et al. Aflatoxin binders I: in vitro binding assay for aflatoxin B₁ by several potential sequestering agents. **Mycopathologia**, v.156, p.223-226, 2002.

EDDS, G.T., BORTELL, R.A. Biological effects of aflatoxins: poultry toxin and *Aspergillus flavus* in corn. In: DIERNER, U.L. et al. **Bulletin of Alabama Agricola Experiment Station**, Alabama : Auburn University, 1983. p. 64-66.

ERASLAN, G. et al. The effects of aflatoxin and sodium bentonite combined and alone on some blood electrolyte levels in broiler chickens. **Turk Journal of Veterinary Animal Science**, v.29, p.601-605, 2005.

FERNANDEZ, A. et al. Variations of clinical, biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin-containing feed. **Avian Pathology**, v.23, n.37-47, 1994.

FUDGE, A.M. Avian liver and gastrointestinal testing. In: FUDGE, A.M. **Laboratory medicine - avian and exotic pets**. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 2000. p.35-55.

GLAHN, R.P. et al. Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium, and vitamin D metabolism. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 34, n. 3, p. 309-321, 1991.

HARVEY, R.B. et al. Progression of aflatoxicosis in growing barrows. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, n.4, p.482-487, 1988.

HOERR, F.J. Mycotoxicosis. In: CALNEK, B.W. et al. **Diseases of poultry**. 10th ed. Ames : Iowa State University Press, 1997. p.958-962.

HUFF, W.E. et al. Progression of aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science**, v.65, p.1891-1899, 1986a.

HUFF, W.E. et al. Individual and combined effect of aflatoxin and deoxynivalenol (DON, Vomitoxin) in broiler chicken. **Poultry Science**, v.65, p.1291-1298, 1986b.

HUWING, A. et al. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. **Toxicology Letters**, v.122, p.170-188, 2001.

KEÇEÇI, T. et al. Effects of polyvinylpyrrolone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological charactes of broiler chickens during aflatoxicosis. **British Poultry Science**, v.39, p. 452-458, 1998.

KEDERA, C.J. et al. Incidence of *Fusarium spp.* and levels of fumonisin B1 in maize in western Kenya. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p.41-45, 1999.

KIESSLING, K. Biochemical mechanism of action of mycotoxins. **Pure and Applied Chemistry**, v.58, n.2, p.327-328, 1986.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. London : Academic Press, 1997. p.117-138.

KRAMER, J.W.; HOFFMANN, W.E. Clinical enzymology. In: KANEKO, J.J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. London : Academic Press, 1997. p.303-325.

KUBENA, L.F. et al. Effects of hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-BindTM) on mycotoxicosis in young broiler chickens. **Poultry Science**, v.77, p.1502-1509, 1998.

KURTZMAN, C.P. et al. *Aspergillus nominus*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamari*. **Antonie Leeuwenhoek**, v.53, p.147-158, 1987.

LEDOUX, D.R. et al. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. **Poultry Science**, v.77, p.204-210, 1998.

LOPES, D.C. et al. Perda de peso e mudanças na composição química do milho (*Zea mays*) devido ao carunchamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.17, n.4, p.367-371, 1988.

LUMEIJ, J.T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. London : Academic Press, 1997. p.857-883.

MANNON, J.; JONHSON, E. Fungi down on the farm. **New Scientist**, v.105, p.12-16, 1985.

MAYER, G.P.; HURST, J.G. Comparision of the effects of calcium and magnesium on parathyroid hormone secretion rate in calves. **Endocrinology**, v.102, p.1803-1807, 1978.

MEYER, D.J. et al. **Veterinary laboratory medicine, interpretation & diagnosis**. Philadelphia : W. B. Saunders, 1992. 350p.

MEYER, D.J. et al. **Medicine de laboratório veterinária, interpretação e diagnóstico.** São Paulo : Roca, 1995. 308p.

MOSS, M.O. The environmental factors controlling mycotoxin formation. In: SMITH, J.E., ANDERSON, R.A. **Mycotoxins and Animal Foods.** Boca Raton : CRC Press, 1991. p. 37–56.

OGUZ, H. et al. Preventive efficacy of clinoptilolite in broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) exposure. **Research Veterinary Science**, v. 69, p. 197-201, 2000.

OGUZ H, et al. Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. **Research Veterinary Science**, v.73, p.101-103, 2002.

OLVER, M.D. Effect of feeding clinoptilolite (zeolite) on the performance of three strains of laying hens. **British Poultry Science**, v.38, p.220-222, 1997.

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

PARLAT, S.S. et al. Effects of clinoptilolite on fattening performance of Japanese quail (*Coturnixcoturnix japonica*) during experimental aflatoxicosis. **British Poultry Science**, v.40, p.495-500, 1999.

PHILLIPS, T.D. et al. Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxins. In: DEVRIES, J.W.; TRUCKSESS, M.W.; JACKSON, L.S. **Mycotoxins and food safety.** New York : Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002. p.157-171.

ROSA, C.A. et al. Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. **Poultry Science**, v.80, p.139-144, 2001.

ROSOL, T.J.; CAPEN, C.C. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. London : Academic Press, 1997. p.619-702.

SANTURIO, J.M. et al. Effect of sodium bentonite on performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. **British Poultry Science**, v.40, p.115-119, 1999.

SANTURIO, J.M. Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.1, p.01-12, 2000.

SARGEANT, K. et al. The assay of a toxic principle in certain groundnut meals. **Veterinary Record**, v.73, p.1219-1223, 1961.

SHOTWELL, O.L. et al. Production of aflatoxin on rice. **Applied Microbiology**, v.14, n.3, p.425-428, 1966.

STRINGHINI, J.H. et al. Efeito da qualidade do milho no desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.191-198, 2000.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p. 327-352.

TUNG, H.T. et al. Altered lipid transport during aflatoxicosis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.22, p.795-800, 1972.

WYATT, R.D. Poultry. IN: SMITH, J.E; HENDENSON, R.S. **Mycotoxins and animal foods**. Boca Raton : CRC Press, 1991. p.553-605.