

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ESTUDO META-ANALÍTICO DAS  
INTERAÇÕES PRODUTIVAS E NUTRICIONAIS  
DAS MICOTOXINAS NA ALIMENTAÇÃO  
DE SUÍNOS E FRANGOS DE CORTE**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Ines Andretta**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2011**

**ESTUDO META-ANALÍTICO DAS INTERAÇÕES  
PRODUTIVAS E NUTRICIONAIS DAS MICOTOXINAS NA  
ALIMENTAÇÃO DE SUÍNOS E FRANGOS DE CORTE**

**por**

**Ines Andretta**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Alberto Lovatto**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2011**

A561e    Andretta, Ines  
          Estudo meta-analítico das interações produtivas e nutricionais das micotoxinas  
          na alimentação de suínos e frangos de corte / por Ines Andretta. – 2011.  
          101 f. ; il. ; 30 cm

          Orientador: Paulo Alberto Lovatto  
          Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de  
          Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, RS, 2011

          1. Zootecnia 2. Nutrição animal 3. Aflatoxinas 4. Deoxinivalenol  
          5. Tricotecenos 6. Micotoxicologia 7. Bioquímica sérica I. Lovatto, Paulo Alberto  
          II. Título.

          CDU 636.084

Ficha catalográfica elaborada por Cláudia Terezinha Branco Gallotti – CRB 10/1109  
Biblioteca Central UFSM

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

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

**ESTUDO META-ANALÍTICO DAS INTERAÇÕES PRODUTIVAS E  
NUTRICIONAIS DAS MICOTOXINAS NA ALIMENTAÇÃO  
DE SUÍNOS E FRANGOS DE CORTE**

elaborada por  
**Ines Andretta**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Zootecnia**

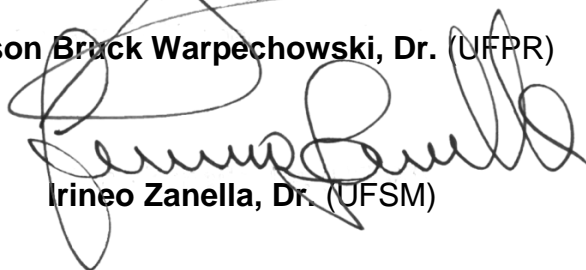
**Comissão Examinadora:**



**Paulo Alberto Lovatto, Dr.**  
(Presidente/Orientador)



**Marson Bruck Warpechowski, Dr. (UFPR)**



**Irineo Zanella, Dr. (UFSM)**

**Santa Maria, 18 de fevereiro de 2011.**

*Ao meu marido **Marcos Kipper da Silva**, pelo amor, companheirismo e presença em cada momento da realização deste trabalho.*

*Aos meus pais **Iria e Ivanir Andretta**, verdadeiros mestres, pelo afeto e incentivo incondicional.*

*Ao meu irmão **Ismael Andretta**, pelo apoio e por me auxiliar no fundamental exercício da paciência.*

*Aos meus avós **Ivo e Anair Andretta**, pelo exemplo irrestrito.*

*A vocês, minha querida família, **dedico este trabalho** e todas as conquistas que virão!*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por iluminar cada passo de minha vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Paulo Alberto Lovatto, pela orientação, incentivo e amizade durante toda minha formação profissional.

Aos professores Gerson Garcia e Irineo Zanella, pelos ensinamentos e apoio.

A equipe do Setor de Suínos e do Grupo de Modelagem Animal, em especial aos colegas Marcos Kipper da Silva, Cheila Roberta Lehnen e Luciano Hauschild, pela amizade e auxílio.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## **RESUMO**

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **ESTUDO META-ANALÍTICO DAS INTERAÇÕES PRODUTIVAS E NUTRICIONAIS DAS MICOTOXINAS NA ALIMENTAÇÃO DE SUÍNOS E FRANGOS DE CORTE**

AUTOR: INES ANDRETTA

ORIENTADOR: PAULO ALBERTO LOVATTO

**Local e Data da Defesa: Santa Maria, 18 de fevereiro de 2010.**

Dois trabalhos foram desenvolvidos com o objetivo de estudar, através de meta-análise, a relação das micotoxinas com o desempenho e o peso de órgãos de suínos e frangos de corte. As bases de dados totalizaram 13.196 suínos (85 artigos publicados entre 1968 e 2010) e 37.371 frangos de corte (98 artigos, entre 1980 e 2009). A meta-análise foi realizada através de três análises sequenciais: estudos gráficos, de correlação e de variância-covariância. Suínos desafiados por micotoxinas apresentaram redução de 18% no consumo de ração e de 21% no ganho de peso. Frangos de corte desafiados apresentaram redução de 12% no consumo de ração e 14% no ganho de peso. As micotoxinas com maior impacto sobre o desempenho foram deoxinivalenol e aflatoxinas para os suínos, e ocratoxinas e aflatoxinas para as aves. A concentração de micotoxinas nas dietas e a idade dos animais ao desafio foram as variáveis que mais ajustaram o coeficiente de determinação nas equações para estimar o efeito das micotoxinas sobre o ganho de peso. O efeito das micotoxinas sobre o crescimento foi maior nos animais jovens. Além disso, a análise de resíduos mostrou que a maior parte da variação no ganho de peso foi explicada pela variação no consumo de ração (87% nos suínos e 65% nas aves). A variação no ganho de peso em animais desafiados também foi influenciada pela ingestão de nutrientes, como proteína e metionina. O efeito das micotoxinas sobre o ganho de peso foi maior nos suínos machos (-19%) que nas fêmeas (-15%). A taxa de mortalidade e alguns parâmetros hematológicos também foram influenciados pelas micotoxinas nos frangos de corte. O peso relativo dos órgãos aumentou nos suínos (fígado, rins e coração) e nas aves (fígado, rins, pulmões e moela) desafiadas. As micotoxinas influenciam o desempenho, os índices produtivos e o peso dos órgãos em suínos e frangos de corte. No entanto, a magnitude destes efeitos varia com o tipo e a concentração de micotoxinas, o sexo e a idade do animal, bem como com fatores nutricionais.

**Palavras-chave:** aflatoxinas; deoxinivalenol; micotoxicologia; nutrição; tricotecenos

## **ABSTRACT**

Master Dissertation  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **META-ANALYTICAL STUDY OF PRODUCTIVE AND NUTRITIONAL INTERACTIONS OF MYCOTOXINS IN PIGS AND BROILERS**

AUTHOR: INES ANDRETTA

ADVISOR: PAULO ALBERTO LOVATTO

**Site and Date of Defense: Santa Maria, February, 18, 2010.**

Two studies were performed in order to evaluate, through meta-analysis, the relationship of mycotoxins with performance and organ weights in pigs and broilers. The databases totaled 13,196 pigs (85 articles published between 1968 and 2010) and 37,371 broilers (98 articles, between 1980 and 2009). Meta-analysis followed three sequential analyses: graphical, correlation and variance-covariance. Pigs challenged by mycotoxins reduced feed intake by 18% and weight gain by 21% in relation to the control group. Challenged broilers presented a reduction of 12% in feed intake and 14% in weight gain. Mycotoxins with the greatest impact on performance were deoxynivalenol and aflatoxins in pigs, and ochratoxins and aflatoxins in broilers. The mycotoxin concentration in diets and the animal age at challenge were the variables that more improved the coefficient of determination in equations for estimating the mycotoxin effect on weight gain. The mycotoxin effect on growth was greater in younger animals. In addition, the residual analysis demonstrated that the greater part of the variation in weight gain was explained by the variation in the feed intake (87% in pigs and 65% in broilers). The variation in weight gain in challenged animals was also influenced by nutrient ingestion, such as protein and methionine. The mycotoxin effect on growth was greater in male pigs (-19%) compared to females (-15%). Mortality rate and some hematological parameters were also influenced by mycotoxins in broilers. Relative weight of organs increased in challenged pigs (liver, kidneys and heart) and broilers (liver, kidneys, lungs and gizzard). Mycotoxins influence on performance, productive indexes and organ weight in pigs and broilers. However, the magnitude of the effects varies with the type and concentration of mycotoxin, sex and age of the animal, as well as nutritional factors.

**Keywords:** aflatoxins; deoxynivalenol; mycotoxicology; nutrition; trichothecenes



## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 – Consumo de ração e ingestão de nutrientes, obtidos por meta-análise, para suínos desafiados por micotoxinas, aflatoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas ou zearalenona.....	48
TABELA 2.2 – Desempenho, obtido por meta-análise, de suínos desafiados por micotoxinas, aflatoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas ou zearalenona .....	49
TABELA 2.3 – Equações para estimar a redução no ganho de peso dos suínos desafiados por aflatoxinas, deoxinivalenol ou fumonisinas .....	50
TABELA 2.4 – Equações para estimar o ganho de peso de suínos desafiados por micotoxinas em função da ingestão de proteína bruta e metionina total .....	51
TABELA 2.5 – Peso de órgãos, obtidos por meta-análise, em suínos desafiados por micotoxinas, aflatoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas ou zearalenona .....	52
TABELA 3.1 – Desempenho, obtido por meta-análise, de frangos de corte desafiados por micotoxinas, aflatoxinas, deoxinivalenol, toxina T2, ocratoxinas, fumonisinas ou zearalenona.....	67
TABELA 3.2 – Equações para estimar o ganho de peso de frangos de corte desafiados por micotoxinas em função da ingestão de proteína bruta e metionina total .....	68
TABELA 3.3 – Equações para estimar a redução no ganho de peso de frangos de corte desafiados por aflatoxinas, ocratoxinas, deoxinivalenol ou toxina T2 .....	69
TABELA 3.4 – Índices produtivos, obtidos por meta-análise, de frangos de corte desafiados por micotoxinas, aflatoxinas, deoxinivalenol, toxina T2 ou fumonisinas..	70
TABELA 3.5 – Peso relativo de órgãos, obtidos por meta-análise, de frangos de corte desafiados por micotoxinas, aflatoxinas, deoxinivalenol, toxina T2, ocratoxinas ou fumonisinas .....	71
TABELA 4.1 – Desempenho, obtido por meta-análise, de suínos alimentados com dietas controle, contendo micotoxinas isoladas ou micotoxinas em associação .....	78
TABELA 4.2 – Hemograma, obtido por meta-análise, de frangos de corte alimentados com dietas controle ou com micotoxinas .....	83
TABELA 4.3 – Parâmetros bioquímicos, obtidos por meta-análise, de frangos de corte alimentados com dietas controle ou com micotoxinas .....	84
TABELA 4.4 – Variação nos parâmetros bioquímicos de frangos de corte desafiados por aflatoxinas em função do fornecimento de aditivos anti-micotoxinas nas dietas.	87

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Fluxo de biotransformação da aflatoxina B1 .....	17
FIGURA 1.2 – Mecanismo de ação das fumonisinas. ....	22
FIGURA 1.3 – Semelhanças na conformação da zearalenona e do 17 $\beta$ -estradiol ...	24
FIGURA 1.4 – Evolução das publicações científicas envolvendo meta-análise.....	28
FIGURA 2.1 – Redução no ganho médio diário de peso em suínos desafiados por micotoxinas, aflatoxinas, deoxinivalenol ou fumonisinas em função da concentração de micotoxinas nas dietas .....	53
FIGURA 3.1 – Redução no ganho médio diário de peso de frangos de corte desafiados por aflatoxinas, ocratoxinas, deoxinivalenol ou toxina T2 em função da concentração de micotoxinas nas dietas.....	72
FIGURA 4.1 – Variação nas concentrações médias e máximas de aflatoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas e zearalenona nas bases de dados.....	75
FIGURA 4.2 – Variação percentual nas concentrações séricas de enzimas e de proteína total em função da concentração de aflatoxinas nas dietas para frangos de corte. ....	85

## LISTA DE ABREVIATURAS

AAM	Aditivos anti-micotoxinas
AFLA	Aflatoxinas
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
C	Dietas controle
DON	Deoxinivalenol
FA	Fosfatase alcalina
FMN	Fumonisinias
GGT	$\gamma$ -glutamil transferase
HCM	Hemoglobina corpuscular média
LDH	Lactato desidrogenase
M	Dietas com micotoxinas
MA	Micotoxinas em contaminação associada
MI	Micotoxinas em contaminação individual
MYC	Micotoxinas
OCHR	Ocratoxinas
PT	Proteínas totais
T2	Toxina T2
ZEA	Zearalenona

## **LISTA DE APÊNDICES**

APÊNDICE A – Produção bibliográfica durante o curso .....	100
---	-----

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>CAPÍTULO 1 – Estudo bibliográfico</b> .....	<b>13</b>
1.1. <b>Micotoxinas em um cenário geral</b> .....	<b>13</b>
1.2. <b>Importância das micotoxinas na alimentação animal</b> .....	<b>15</b>
1.3. <b>Principais micotoxinas e toxicologia em suínos e aves</b> .....	<b>16</b>
1.3.1. Aflatoxinas .....	16
1.3.2. Tricotecenos .....	18
1.3.3. Ocratoxinas .....	20
1.3.4. Fumonisinias .....	21
1.3.5. Zearalenona .....	23
1.4. <b>Lacunas em micotoxicologia</b> .....	<b>25</b>
1.5. <b>Meta-análise</b> .....	<b>26</b>
1.5.1. Contextualização .....	26
1.5.2. Vantagens e objetivos da técnica .....	28
<b>CAPÍTULO 2 – Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in pigs</b> .....	<b>31</b>
Abstract .....	32
Implications .....	33
Introduction.....	33
Material and methods .....	34
Results and discussion.....	37
Conclusions and perspectives .....	43
References .....	44
<b>CAPÍTULO 3 – Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in broilers</b> .....	<b>54</b>
Abstract.....	55
Introduction.....	56
Materials and methods .....	57
Results and discussion.....	59
References .....	64
<b>CAPÍTULO 4 – Discussão Geral</b> .....	<b>73</b>
<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b> .....	<b>89</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>90</b>
<b>APÊNDICES</b> .....	<b>100</b>

## INTRODUÇÃO

A suinocultura e a avicultura têm se destacado nas últimas décadas como atividades dinâmicas, com alta produtividade e que utilizam tecnologias recentes e inovadoras. Nestes sistemas de criação, graves problemas produtivos e econômicos podem ser gerados a partir da presença de fatores interferentes no desempenho dos animais, com destaque para a contaminação de dietas por micotoxinas.

As micotoxinas são substâncias produzidas por linhagens específicas de fungos filamentosos pertencentes a diversos gêneros, em especial *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Em condições favoráveis, estes fungos se desenvolvem nas culturas de grãos ainda no campo ou durante o armazenamento (PITT, 2000).

Estruturalmente, as micotoxinas formam um grupo complexo de substâncias com ocorrência natural em diversos substratos, inclusive em alimentos destinados ao consumo humano e animal. Cerca de 45% de todas as amostras de alimentos no Brasil apresentam contaminação por aflatoxinas, fumonisinas ou deoxinivalenol (MALLMANN et al., 2007). Além da elevada prevalência, as micotoxinas são importantes pela toxicidade aos animais, que inclui alterações em funções metabólicas importantes (HUSSEIN & BRASEL, 2001).

As micotoxicoses são problemas graves, frequentemente associados com prejuízos na produção animal (DAGHIR, 2008). Porém, os mecanismos de toxicidade são específicos a cada tipo de micotoxina e seus efeitos tóxicos podem variar com diversos fatores (D'MELLO & MACDONALD, 1997). Neste contexto, os resultados observados em intoxicações naturais ou experimentais são geralmente inconstantes e pouco conclusivos em alguns aspectos.

Diante do cenário brasileiro de prevalência de micotoxinas e das lacunas observadas em micotoxicologia, nos pareceu oportuno e necessário estudar os efeitos das micotoxinas em suínos e frangos de corte através da meta-análise, como forma de integrar diferentes variáveis e estabelecer respostas ajustadas à diversidade experimental. Nosso problema de pesquisa e as questões a serem respondidas são apresentados nesta dissertação através de um estudo bibliográfico, dois artigos científicos, uma discussão geral e as conclusões e perspectivas mais importantes.

# CAPÍTULO 1

## ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

### 1.1. Micotoxinas em um cenário geral

Nas últimas décadas, o aumento da demanda intensificou atividades como a suinocultura e a avicultura, concentrando a produção e maximizando a eficiência técnico-econômica nestes setores. As alterações nas práticas de manejo apresentaram um efeito notável na evolução dos desafios sanitários. Assim, na medida em que se intensificou a produção, aumentou a necessidade de controlar os prejuízos causados pelos diversos agentes potencialmente patogênicos aos animais.

Alguns dos mais importantes entraves produtivos possuem origem alimentar. Isto porque os cereais, componentes principais nas dietas de suínos e aves, estão sujeitos à contaminação por uma microbiota diversa, que varia em sua composição com as condições climáticas no campo e com os processos de colheita, transporte e armazenamento (LACEY & MAGAN, 1991).

Os fungos podem alterar direta e indiretamente a qualidade dos cereais, influenciando negativamente em algumas propriedades dos grãos (BHATTACHARYA & RAHA, 2002). A contaminação pode favorecer a deterioração dos cereais, provocando descoloração, aquecimento da massa de grãos e diminuindo severamente o valor nutricional do produto armazenado (MAGAN et al., 2003). Além disso, em condição de estresse, alguns fungos produzem metabólitos tóxicos denominados micotoxinas (DILKIN, 2002).

A palavra micotoxina é derivada de: "mukes" referindo-se a "fungos" do grego e "toxicum" referindo-se a "veneno" do latim (BHAT et al., 2010). A principal via de produção das micotoxinas envolve o metabolismo fúngico secundário. As rotas secundárias diferem do metabolismo primário na natureza aleatória da sua ativação, na diversidade de compostos formados e na especificidade das cepas envolvidas (YIANNIKOURIS & JOUANY, 2002). Embora alguns metabólitos secundários

possam causar ou agravar doenças em plantas, há poucas evidências de que a produção de micotoxinas aumente a capacidade de crescimento fúngico (BENNETT & KLICH, 2003). Embora não sejam completamente conhecidas as razões pelas quais os fungos produzam micotoxinas, se reconhece que o metabolismo secundário não está associado diretamente com o desenvolvimento ou com a sobrevivência fúngica.

Fatores ambientais, como umidade e temperatura são críticos para o desenvolvimento fúngico. O nível inicial de contaminação, o período de armazenamento e a integridade física e sanitária dos grãos também modulam a prevalência dos fungos em condições naturais (YU et al., 2008). A contaminação dos grãos pode iniciar no campo, antes mesmo da colheita, e persistir ou mesmo evoluir durante o armazenamento. Em alguns casos, os fungos toxigênicos possuem ligação ecológica com os cereais, sendo que algumas espécies são patogênicas para as culturas, enquanto outras se apresentam como contaminantes de ambiente. Contudo, a população fúngica observada naturalmente na produção de alimentos é dominada por três gêneros: *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (PITT, 2000).

Assim como o desenvolvimento fúngico, a síntese de micotoxinas depende de condições ambientais favoráveis. Então, a atividade micotoxigênica nos grãos deve ser analisada no contexto do ecossistema fúngico, a fim de compreender a dominância de certas espécies em condições ambientais específicas (MAGAN et al., 2003). Deste modo, as espécies do gênero *Fusarium*, agentes patogênicos comuns para as plantas em crescimento, produzem micotoxinas antes ou imediatamente após a colheita. Já os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, mais comumente observados como contaminantes durante a secagem dos cereais, são reconhecidos pela produção de toxinas de armazenamento (YU et al., 2008).

Entre 300 e 400 compostos são atualmente identificados como micotoxinas (ABDEL-WAHHAB & KHOLIF, 2008). Destes, apenas algumas dezenas recebem atenção como ameaças para a saúde humana e animal (BENNETT & KLICH, 2003). As micotoxinas formam um conjunto heterogêneo de compostos naturais com baixo peso molecular. O grupo apresenta grande diversidade de estruturas químicas, o que imprime efeitos biológicos variados nos animais. Além disso, as toxinas apresentam atividades tóxicas complexas e sobrepostas e, em função de sua natureza específica, podem ser carcinogênicas, mutagênicas, teratogênicas,



estrogênicas, neurotóxicas ou imunotóxicas, dentre outras complicações metabólicas (D'MELLO & MACDONALD, 1997).

Embora todas as micotoxinas apresentem origem fúngica, nem todos os compostos produzidos por fungos podem ser considerados micotoxinas. O alvo e a concentração necessária para a manifestação da toxicidade são importantes nesta definição. Assim, são consideradas micotoxinas apenas os produtos fúngicos que, em baixas concentrações, são tóxicos para animais vertebrados (BENNETT & KLICH, 2003). Excluem-se desta denominação, portanto, os metabólitos fúngicos com toxicidade em plantas (fitotoxinas) e aqueles com toxicidade em animais, porém, apenas em altas concentrações (etanol, por exemplo).

A classificação das micotoxinas é complexa e pode variar em função da temática proposta para a pesquisa (D'MELLO & MACDONALD, 1997; BENNETT & KLICH, 2003). De maneira geral, estes compostos podem ser classificados pelo fungo produtor (por exemplo: toxinas *Fusarium*, toxinas *Aspergillus*, toxinas *Penicillium*), pelo órgão ou sistema afetado nas intoxicações (hepatotoxinas, nefrotoxinas, neurotoxinas, imunotoxinas), pela estrutura química, dentre outras.

## **1.2. Importância das micotoxinas na alimentação animal**

O risco micotoxicológico existe desde os primórdios da agricultura (PITTET, 1998). Algumas alusões a micotoxicoses são encontradas no Antigo Testamento (SCHOENTAL, 1984). Outras referências relacionam as micotoxinas com acontecimentos históricos, como o declínio da civilização Etrusca e a crise em Atenas (toxinas *Fusarium*); ou fatos misteriosos, como as mortes de vários arqueólogos no Egito (ocratoxina A) (ABDEL-WAHHAB & KHOLIF, 2008). Porém, as micotoxinas receberam atenção científica apenas a partir da década de 60, quando as aflatoxinas foram relacionadas com a morte de milhares de perus na Europa (MALLMANN & DILKIN, 2007).

Uma estimativa genérica é de que um quarto dos cereais produzidos no mundo apresente contaminação por micotoxinas (CAST, 2003). Pela prevalência em produtos destinados à alimentação animal, as micotoxinas são consideradas entraves para a manutenção de índices técnicos satisfatórios. Quando são ingeridas,

as micotoxinas produzem uma ampla gama de efeitos nocivos nos animais, tais como redução na produtividade, aumento da incidência de doenças devido à imunossupressão, lesões em órgãos vitais, interferência sobre a capacidade reprodutiva e, em casos extremos, a morte (BENNETT & KLICH, 2003; ABDEL-WAHAB & KHOLIF, 2008). De maneira geral, as micotoxinas expressam seus efeitos através de alguns mecanismos primários. Queda na ingestão de alimento e alterações na absorção de nutrientes são alguns destes mecanismos (HAUSCHILD et al., 2006; ANDRETTA et al., 2010). Além disso, a interferência sobre os sistemas endócrino e exócrino também é observada como desencadeadora das sintomatologias nas intoxicações (GAUMY et al., 2001).

As micotoxinas geram graves problemas de ordem sanitária que variam com a forma de intoxicação. As manifestações crônicas, envolvendo doses baixas ou moderadas, são mais prevalentes (DILKIN, 2002). Além da dose ingerida, a estrutura química e o mecanismo de ação de cada micotoxina podem ser base para a compreensão dos efeitos patológicos observados. Como as micotoxinas apresentam estruturas e mecanismos diferenciados, nos pareceu conveniente apresentar uma breve descrição das principais micotoxinas envolvidas em intoxicações de suínos e aves.

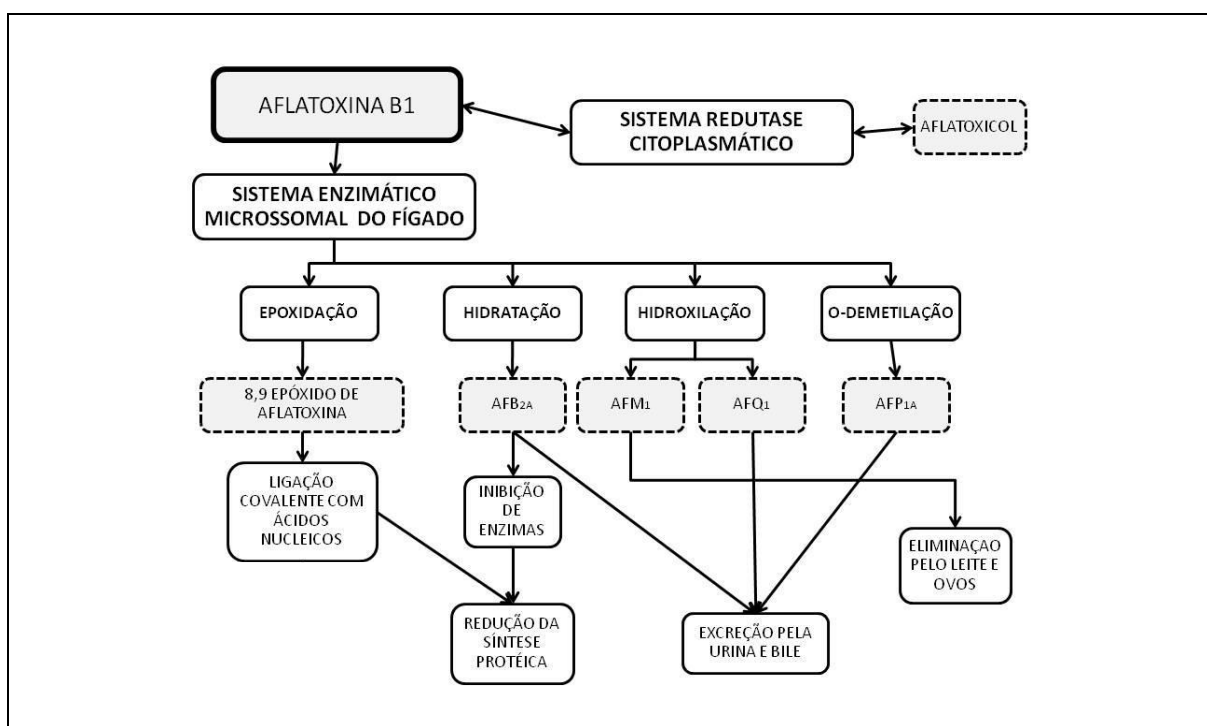
### **1.3. Principais micotoxinas e toxicologia em suínos e aves**

#### **1.3.1. Aflatoxinas**

As aflatoxinas são substâncias com toxicidade elevada, produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, principalmente *A. flavus*, *A. parasiticus* e, em menor quantidade, *A. nominus* e *A. pseudotamarii* (COULOMBE, 1993). São conhecidos cerca de 17 compostos similares designados por aflatoxinas. Apesar da estrutura química semelhante, estes compostos diferem pela frequência em contaminações naturais e pelo grau de atividade biológica, sendo mais tóxica a aflatoxina B1, seguida por G1, B2 e G2 (OLIVEIRA & GERMANO, 1997). Estas substâncias possuem diversas propriedades, como mutagênicas e teratogênicas, e a aflatoxina

B1 é descrita como o mais potente pró-carcinógeno conhecido (MEISSONNIER et al., 2005).

As aflatoxinas têm sido encontradas em aproximadamente 38% das rações para suínos no Brasil (DILKIN, 2002), impactando na atividade de forma expressiva. Após ingeridas pelos animais, as aflatoxinas são absorvidas pelo trato gastrointestinal e chegam ao fígado, onde sofrem reações diversas (SHARMA & FARMER, 2004; MALLMANN & DILKIN, 2007), como ilustrado na Figura 1.1.



**Figura 1.1 – Fluxo de biotransformação da aflatoxina B1**

Fonte: Adaptado de Mallmann & Dilkin (2007).

O fígado é o principal órgão atingido pelas aflatoxinas, sendo a necrose com infiltração de células inflamatórias frequentemente observada em intoxicações agudas (MEISSONNIER et al., 2005). A ação hepatotóxica da micotoxina pode, em parte, explicar as alterações no desempenho dos animais que recebem dietas contaminadas. Os metabólitos derivados das aflatoxinas reagem com macromoléculas celulares como o DNA e o RNA, interferindo nas propriedades funcionais do fígado e na síntese proteica (OLIVEIRA & GERMANO, 1997). A

ligação com estas moléculas forma adutos e representa a lesão primária das aflatoxinas (GUO et al., 2006).

Relatos de aflatoxicose incluem imunossupressão, alterações na síntese e cinética de algumas enzimas e no metabolismo de proteínas e lipídeos (MARIN et al., 2002). Suínos desafiados por aflatoxinas ( $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) apresentam redução no coeficiente de metabolização da energia e na retenção relativa de nitrogênio (HAUSCHILD et al., 2006). Outros sinais clínicos de aflatoxicose em suínos e aves são anorexia, imunossupressão e hepatopatias (MARIN et al., 2002).

A aflatoxicose pode ocorrer por exposição crônica ou aguda. Na primeira (doses baixas por longo tempo) ocorrem manifestações neoplásicas, perdas produtivas e imunossupressão. Na exposição aguda (doses altas) ocorrem lesões bioquímicas graves com morte celular, hepatopatias agudas e subagudas, podendo levar o animal a óbito (OLIVEIRA & GERMANO, 1997; MEISSONNIER et al., 2005).

A interferência na síntese proteica altera a biologia celular em diversos sistemas. Nas células hepáticas ocorre degeneração gordurosa e proliferação dos ductos biliares, que induzem a várias alterações séricas (OLIVEIRA & GERMANO, 1997). Outra consequência é a diminuição nos níveis de fatores de coagulação, o que gera hemorragias. Nas aves, estas hemorragias ocorrem principalmente nos músculos do peito e da coxa, prejudicando o rendimento dos cortes na indústria (GIACOMINI et al., 2006). Intestino, baço, linfonodos e rins também podem ser afetados, principalmente em animais não ruminantes (MARIN et al., 2002).

### 1.3.2. Tricotecenos

Os tricotecenos são um grupo de micotoxinas sesquiterpenóides produzidas por várias espécies de fungos, principalmente do gênero *Fusarium*. São reconhecidos cerca de 180 representantes deste grupo de micotoxinas com distribuição cosmopolita, frequentes em cereais como trigo, milho, cevada e aveia.

Genericamente, os tricotecenos são descritos como irritantes da pele e agentes inflamatórios com rápida destruição das células em divisão (SANTIN et al., 2001). Além disso, a administração de tricotecenos inibe a síntese de DNA e RNA

ao nível ribossomal, o que caracteriza as micotoxinas como potentes inibidores da síntese proteica (MALLMANN & DILKIN, 2007).

Os tricotecenos constituem uma família com alta similaridade química (DESJARDINS et al., 1993) e são subdivididos em macrocíclicos (roridinas, miotoxinas, miofitocenos e verrucarol) e não-macroscíclicos. Os tricotecenos não-macroscíclicos são ainda classificados em tipos A, B, C e D, sendo os dois primeiros de maior importância. Os principais representantes do grupo A são a toxina T2, a toxina HT2 e o diacetoxiscirpenol; enquanto os principais integrantes do grupo B são o deoxinivalenol (também conhecido por vomitoxina) e o nivalenol. Nesta revisão, serão apresentados apenas as toxinas T2 e o deoxinivalenol, por serem as substâncias estudadas nos trabalhos que compõe a base de dados.

A toxina T2 é considerada a micotoxina mais potente do grupo. A exposição a altas doses da toxina resulta em diarreia, vômito e danos hematopoiéticos. Lesões cáusticas no trato digestório superior ocorrem após o contato direto com a toxina. Em suínos, podem causar lesões no focinho (pelo contato com a toxina na dieta) e perianais (devido ao contato com a toxina ainda remanescente nas fezes) (MALLMANN & DILKIN, 2007). Em aves, as lesões orais decorrentes da intoxicação se traduzem em necrose, erosões ou ulcerações na base da língua, no palato e na comissura do bico (DERSJANT-LI et al., 2003). Essas lesões orais inicialmente se apresentam como degeneração hidrópica do tecido, consequência de desequilíbrio no controle do gradiente osmótico em nível de membrana citoplasmática e de interferência nos mecanismos de absorção, eliminação de água e eletrólitos intracelulares. Macroscopicamente, a área afetada apresenta aumento do volume tecidual, tonalidade pálida e perda de elasticidade no tecido. Em suínos e aves, devido ao desconforto causado pelas lesões orais, ocorre diminuição na ingestão de alimentos e, conseqüente, perda de peso.

O deoxinivalenol, também conhecido como vomitoxina, é outro representante importante dos tricotecenos. A intoxicação com esta micotoxina é relacionada com prejuízos no desempenho dos animais, especialmente com recusa do alimento, vômitos e lesões no trato gastrintestinal (MALLMANN & DILKIN, 2007). Em decorrência desta intoxicação também são relatadas nefrose branda, redução do tamanho da tireoide, hiperplasia da mucosa gástrica e alterações em parâmetros hematológicos e imunológicos (HE et al., 1993; KUBOSAKI et al., 2008).

Doses agudas de deoxinivalenol podem induzir vômitos em suínos, enquanto o prejuízo ao crescimento é o principal efeito nas intoxicações com doses baixas. Da mesma forma que nas intoxicações por toxina T2, os efeitos no consumo voluntário de alimento podem ser relacionados com as lesões orais, que dificultam a ingestão de ração (KUBENA et al., 1989; FAIXOVÁ et al., 2007). Outra possível explicação envolve a atividade da serotonina, um importante neurotransmissor responsável por características de comportamento e apetite. A partir da inibição da síntese proteica, há um aumento do nível sérico de aminoácidos circulantes, entre eles, do triptofano. Como este aminoácido é precursor da serotonina, há um aumento demasiado em sua produção, o que resulta em animais prostrados e com excesso na sensação de saciedade (SMITH & SEDDON, 1998).

### 1.3.3. Ocratoxinas

Ocratoxinas são compostos tóxicos produzidos por espécies dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* geralmente em condições inadequadas de armazenamento (MARQUARDT & FROHLICH, 1992). As ocratoxinas são observadas tanto em climas tropicais quanto em climas temperados e são frequentes em amostras de aveia, cevada, trigo e milho. Diversas formas de ocratoxinas já foram identificadas, sendo A e B as mais importantes.

A micotoxina tem recebido atenção considerável nos últimos anos, não apenas pelos prejuízos causados na produtividade animal, mas também pelos efeitos adversos na saúde humana. A toxicidade das ocratoxinas varia amplamente em função do sexo, da espécie animal e da via de administração. Para diversas espécies, incluindo suínos e aves, as ocratoxinas são consideradas muito tóxicas, sendo o rim o principal órgão alvo (MARQUARDT & FROHLICH, 1992; POHLAND et al., 1992). Entre seus efeitos são observadas toxicidade cardíaca e hepática (PFOHL-LESZKOWICZ & MANDERVILLE, 2007).

As ocratoxinas são rapidamente absorvidas no estômago, propriedade favorecida pelo ambiente ácido, e mais lentamente no intestino delgado. Uma das características toxicocinéticas mais relevantes das ocratoxinas é a alta afinidade

com proteínas plasmáticas, o que permite a persistência da toxina no sangue e favorece sua manifestação tóxica (CERAIN et al., 2000). Os principais sinais nas intoxicações agudas são anorexia, perda de peso, polidipsia, poliúria, hemorragia no trato digestório e desidratação (MALLMANN & DILKIN, 2007).

O principal mecanismo de ação das ocratoxinas é a inibição competitiva da síntese proteica (CERAIN et al., 2000). Adicionalmente, a toxina afeta o metabolismo renal de carboidratos, danificando o epitélio dos túbulos proximais, o que diminui a reabsorção de eletrólitos e aumenta a excreção de água através de diurese osmótica (LEESON et al., 1995). Outros mecanismos de ação propostos para as ocratoxinas incluem peroxidação lipídica e sequestro de cálcio microssomal (POHLAND et al., 1992; CERAIN et al., 2000).

Em frangos de corte e em suínos, foram descritos prejuízos no desempenho e lesões intestinais e renais graves (ELLING et al., 1975; PRIOR et al., 1980). Além disso, muitas organelas nas células epiteliais podem ser danificadas, sendo comum a ocorrência de prejuízos na integridade de membranas (PFOHL-LESZKOWICZ & MANDERVILLE, 2007).

#### 1.3.4. Fumonisinias

Fumonisinias são micotoxinas recentemente descobertas. São substâncias fortemente polares pertencentes ao grupo das toxinas produzidas por fungos do gênero *Alternaria* e *Fusarium*, especialmente *F. verticilloides* ou *F. moniliforme* e *F. proliferatum* (MALLMANN & DILKIN, 2007). Vinte e oito séries de fumonisinias estruturalmente relacionadas já foram isoladas e descritas (VOSS et al., 2007). Destes análogos (classificados em tipos A, B, C ou P), as fumonisinias B1, B2 e B3 são as mais frequentes em alimentos (LINO et al., 2004). A fumonisina B1 é o metabólito mais tóxico e abundante deste grupo, representando cerca de 70% da concentração total de fumonisinias em rações naturalmente contaminadas.

A produção de fumonisinias nos grãos acontece especialmente no período pré-colheita, em condições de alta umidade e temperaturas amenas. O *F. verticilloides* é um dos patógenos mais frequentes em grãos como o milho. Pela

relação, as fumonisinas são mundialmente encontradas como contaminantes naturais neste cereal e em seus derivados (POZZI et al., 2002).

Quando ingeridas, as fumonisinas apresentam baixa biodisponibilidade, sendo rapidamente metabolizadas e excretadas (NORRED et al., 1998). O modo proposto para a ação das fumonisinas relaciona sua toxicidade com interferência na biossíntese de esfingolipídios (MALLMANN & DILKIN, 2007). Estes compostos, encontrados nas membranas das células (especialmente das nervosas), são importantes na comunicação e diferenciação celular, na regulação de fatores do crescimento e da permeabilidade nas células endoteliais (MINAMI et al., 2004; SORIANO et al., 2005).

As diferentes séries de fumonisinas são análogas das bases esfingóides, como a esfinganina, e atuam inibindo a esfinganina N-aciltransferase e a esfingosina N-aciltransferase (ceramida sintetase), responsáveis pela biossíntese dos esfingolipídios (MINAMI et al., 2004). Uma breve descrição do ciclo metabólico envolvendo as fumonisinas é apresentada na Figura 1.2.

As consequências imediatas da inibição da ceramida sintetase são aumento da esfinganina intracelular e, em menor grau, de esfingosina (YOO et al., 1992). No entanto, um acúmulo das bases esfingóides só ocorre quando a capacidade de metabolização destas bases for ultrapassada (RILEY et al., 1994).

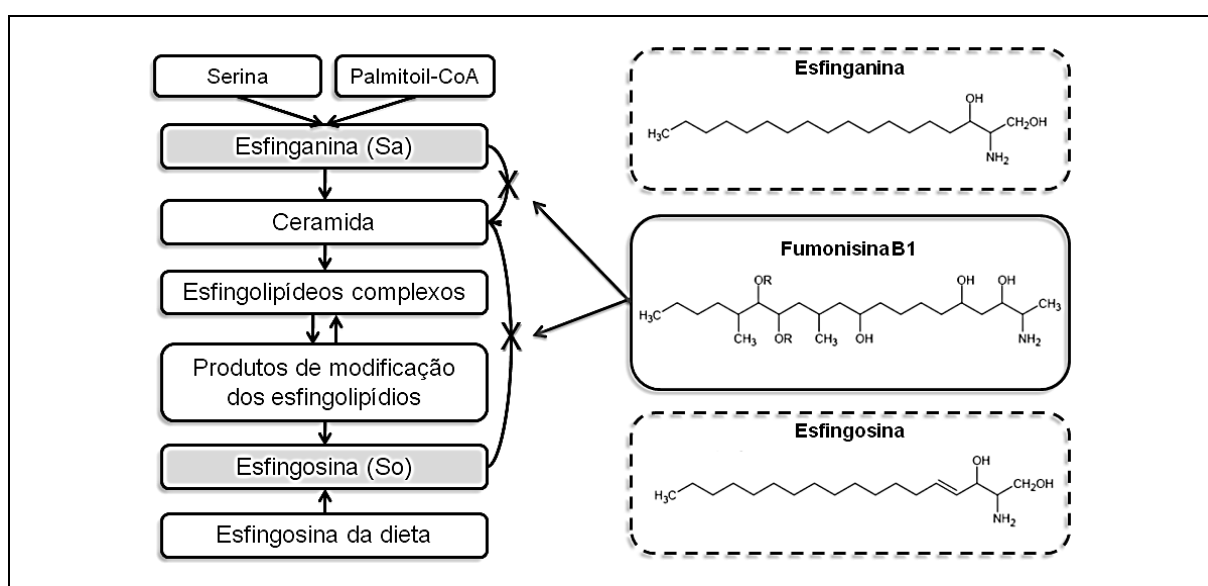


Figura 1.2 – Mecanismo de ação das fumonisinas



Em condição de homeostase, a concentração de esfingosina é 3 a 5 vezes maior que a de esfinganina, mas pela ação das fumonisinas, pode ocorrer uma mudança nesta relação (Sa/So) (MINAMI et al., 2004). A redução dos esfingolipídios complexos e o acúmulo de intermediários bioativos interferem em processos como o crescimento e a diferenciação celular, o que pode explicar parte da toxicidade das fumonisinas (PIVA et al., 2005). Entretanto, seu efeito tóxico parece não ser unicamente relacionado com a inibição da ceramida sintetase e, provavelmente, diversos eventos bioquímicos são necessários para a manifestação plena da toxicidade (POZZI et al., 2002). Como os outros mecanismos continuam pouco elucidados, a perturbação no metabolismo dos esfingolipídeos é considerada evento chave aos demais sinais tóxicos.

Os suínos estão entre os animais domésticos mais sensíveis aos efeitos das fumonisinas. Na espécie, a manifestação clínica mais relevante é o edema pulmonar. Fisiologicamente, o edema pulmonar pode ser causado por insuficiência ventricular, que aumenta a pressão hidrostática nos capilares dos pulmões, e pelo aumento da permeabilidade vascular após as lesões nos alvéolos (HASCHEK et al., 2001). Outras manifestações características em intoxicações de suínos por fumonisinas são dispnéia, cianose, icterícia, hidrotórax e morte (DILKIN et al., 2004; MALLMANN & DILKIN, 2007). Sinais de insuficiência cardíaca obtidos com fumonisina B1, incluindo disfunção ventricular esquerda, podem ser associados aos efeitos inotrópicos negativos do fator de necrose tumoral  $\alpha$ , que reduz a contratilidade cardíaca (SORIANO et al., 2005). Nos suínos e em outros animais domésticos, as fumonisinas podem induzir degeneração hepatocelular, alterações no sistema imune, inibição metabólica em vários tecidos e efeitos deletérios sobre a morfologia intestinal (D'MELLO & MACDONALD, 1997; DILKIN et al., 2004).

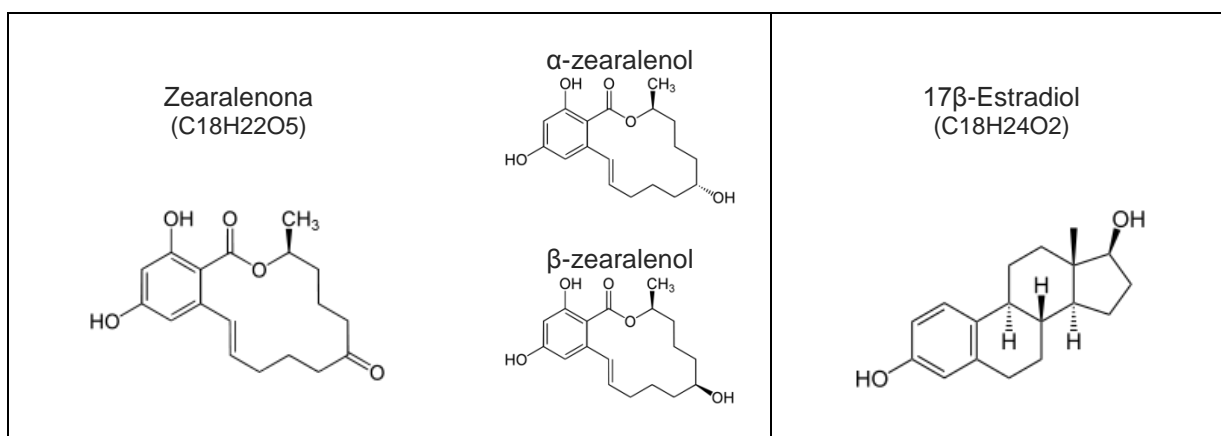
#### 1.3.5. Zearalenona

A zearalenona é uma micotoxina estrogênica não esteróide, quimicamente descrita como uma lactona do ácido fenólico resorcílico (GAUMY et al., 2001). A micotoxina é produzida por várias espécies de fungos do gênero *Fusarium*,

principalmente *F. culmorum*, *F. graminearum* e *F. crookwellense*, as quais colonizam cereais, especialmente em estações com umidade elevada e temperatura amena (PLACINTA et al., 1999). Bastante resistente à maioria dos tratamentos utilizados no fabrico dos alimentos, esta micotoxina possui metabolismo complexo, onde predominam reações de conjugação (GAUMY et al., 2001).

Os efeitos tóxicos da zearalenona estão associados principalmente a problemas reprodutivos, demonstrando atividade anabólica e estrogênica em várias espécies (DIEKMAN & GREEN, 1992). Entre os animais domésticos, os suínos possuem a maior sensibilidade à presença da zearalenona (BAUER et al., 1987).

Após a ingestão, a micotoxina é rapidamente absorvida pelas células do trato gastrointestinal (RAMOS et al., 1996), sendo a absorção estimada em 85% nos animais monogástricos (MALEKINEJAD et al., 2005). A flexibilidade na conformação espacial da zearalenona e dos produtos de sua biotransformação hepática permite a competição com o 17 $\beta$ -estradiol (Figura 1.3) por receptores estrogênicos das células uterinas, hipotalâmicas, hipofisárias e das glândulas mamárias (KUIPER-GOODMAN et al., 1987). Esta interação incrementa a síntese proteica e se manifesta pelo aumento de volume nos tecidos do trato reprodutivo (BAUER et al., 1987).



**Figura 1.3 – Semelhanças na conformação da zearalenona e do 17 $\beta$ -estradiol**

A zearalenona apresenta maior efeito estrogênico comparada ao 17 $\beta$ -estradiol devido ao modo de ação e ao tempo de permanência dos metabólitos no núcleo das células (GAUMY et al., 2001). A alta sensibilidade dos suínos pode ser explicada pela metabolização da micotoxina predominantemente em  $\alpha$ -zearalenol.

Este processo pode ser considerado ativador da toxina, uma vez que o isômero  $\alpha$  é o mais tóxico dos metabólitos da zearalenona (MALEKINEJAD et al., 2006).

A zearalenona apresenta atividade anabólica e estrogênica em várias espécies e seus efeitos tóxicos são frequentemente associados com complicações nas funções reprodutivas (DIEKMAN & GREEN, 1992). Na suinocultura, os principais efeitos da micotoxina são redução na taxa de concepção acompanhada de repetição de cio, nascimento de leitões fracos e natimortos e, muitas vezes, surtos da síndrome dos membros abertos (MALEKINEJAD et al., 2006).

Embora pouco explorados, os efeitos tóxicos da zearalenona podem interferir na síntese lipídica e proteica dos animais (SZKUDELSKA et al., 2002). A zearalenona não é associada a baixos índices de desempenho (D'MELLO & MACDONALD, 1997). Em leitões jovens, a micotoxina não influencia a conversão alimentar e o ganho de peso (GREEN et al., 1990; ANDRETTA et al., 2008; ANDRETTA et al., 2010). A zearalenona também não altera a digestibilidade das dietas e o metabolismo proteico ou energético de suínos (HAUSCHILD et al., 2007). Porém, algumas alterações metabólicas são descritas em ratos quando desafiados por níveis elevados da micotoxina (NOGOWSKI, 1996; SZKUDELSKA et al., 2002). Assim, efeitos negativos no desempenho dos suínos poderiam ser esperados quando da exposição alimentar a altas concentrações de zearalenona, evidenciando mecanismos adicionais de toxicidade (ABID-ESSEFI et al., 2004).

Estudos relativos às propriedades mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas da zearalenona são ainda antagônicos. Porém, a atividade estrogênica por si só pode não explicar os diversos, e aparentemente adversos, efeitos da micotoxina nos animais domésticos (ABID-ESSEFI et al., 2004). Outros mecanismos, apesar de ainda pouco conhecidos, também poderiam ser estudados como fatores influentes sobre o desempenho dos animais.

#### **1.4. Lacunas em micotoxicologia**

Os anos entre 1960 e 1975 foram denominados como “a corrida do ouro” em micotoxicologia (BENNETT & KLICH, 2003). Neste período, o interesse de diversos

cientistas foi combinado com a disponibilidade de financiamento para as pesquisas na área. Assim, boa parte das informações disponíveis é relativamente recente.

A qualidade da literatura na área é variável. O campo de pesquisa em micotoxinas é grande e segmentado. Isto faz com que algumas áreas apresentem pesquisas mais precisas, enquanto outras ainda carecem de informações. De forma geral, os conhecimentos sobre estrutura química, biossíntese, espécies fúngicas produtoras e manifestações clínicas são bem descritos.

A rápida progressão e a diversidade de sinais clínicos são fatores que dificultam o estudo e o diagnóstico das intoxicações por micotoxinas (WHITLOW & AGLE JR., 2002). Apesar disso, os critérios de estabelecimento das micotoxicoses são bem estudados. As principais lacunas estão em áreas que relacionam os perfis toxicológicos nos animais com os diversos fatores com influência potencial.

A gravidade da micotoxicose depende de fatores como o tipo de micotoxina envolvida, a dose ingerida, o período da exposição e o estado nutricional do indivíduo. Os sinais observados nas micotoxicoses também variam com a idade, saúde e sexo do animal exposto (BENNETT & KLICH, 2003). O sinergismo entre as substâncias é outro fator que pode influenciar os efeitos tóxicos observados (SMITH & SEDDON, 1998). Assim, o estudo das relações entre os fatores influentes é complexo e constitui uma das áreas de maior interesse em micotoxicologia.

## **1.5. Meta-análise**

### **1.5.1. Contextualização**

Em diversas áreas de pesquisa, inclusive em produção animal e em micotoxicologia, o volume de dados a ser considerado por profissionais e pesquisadores está em constante expansão. O aumento no número de publicações e na velocidade da divulgação destes trabalhos tornou praticamente impossível ler, avaliar criticamente e sintetizar o estado do conhecimento atual em determinadas áreas.

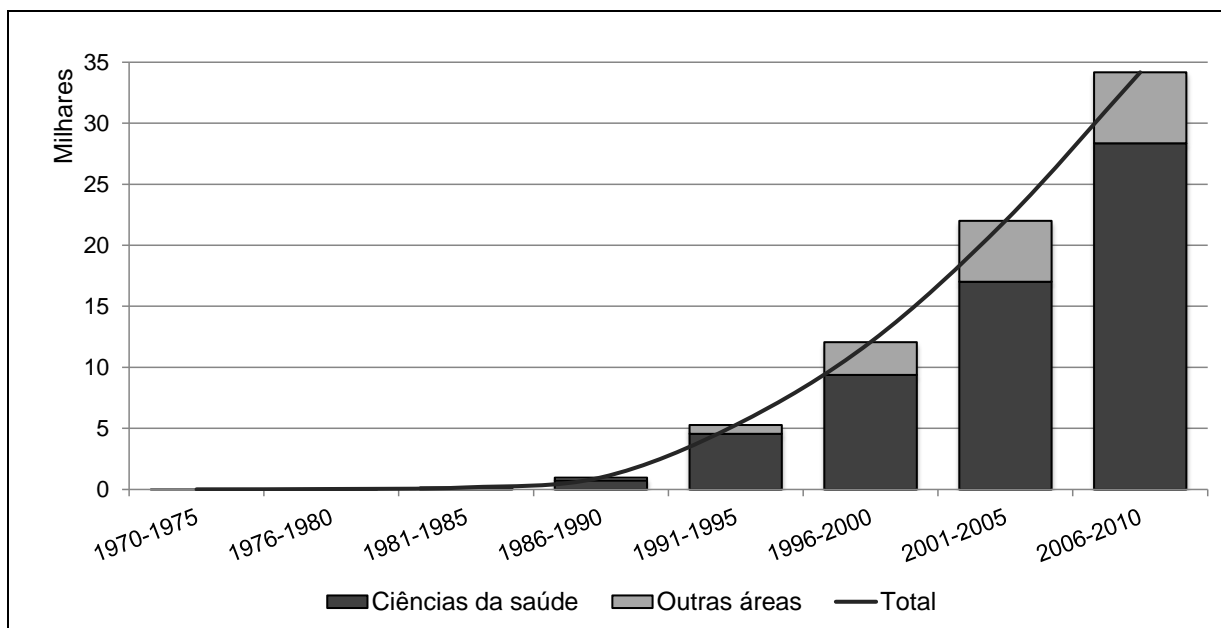
O maior número de trabalhos publicados pode não refletir avanços qualitativos, pois muitos estudos possuem resultados pouco conclusivos, geralmente devido ao pequeno número de observações. Assim, a diversidade de informações existentes pode não atender a determinadas expectativas dos pesquisadores. Neste contexto, as revisões tornaram-se ferramentas essenciais para acompanhar evidências que se acumulam em um determinado campo de interesse.

A meta-análise foi definida por Glass (1976) como a análise estatística de uma grande coleção de resultados em estudos individuais com o objetivo de integrar suas respostas. Porém, o esforço para combinar os resultados de muitos estudos individuais não é novo. Antes mesmo desta data, diversos trabalhos foram desenvolvidos utilizando técnicas estatísticas para combinar ou reunir dados pré-existentes (LUIZ, 2002), como o trabalho com vacinas contra a febre tifoide realizado por Karl Pearson em 1904 (LITTELL et al., 2008).

Conforme a definição anterior, a meta-análise é uma técnica desenvolvida para integrar os resultados de diversos estudos em um mesmo tema de pesquisa e extrair informações adicionais destes dados (LEANDRO, 2005). O termo também se refere a um conjunto de procedimentos para estimar a direção e a magnitude dos efeitos (ALLEN, 2002).

O interesse pela técnica tem aumentado nos últimos anos. Em uma busca por “meta-analysis”, utilizando o Google Acadêmico, foi possível observar 61 mil referências para o termo entre os anos de 1990 e 2000, e 849 mil referências entre 2000 e 2010. Referências recentes (desde 2010) são também bastante expressivas, em número de 46 mil, valor próximo ao observado para toda a década de 90. Entre os pesquisadores brasileiros, o interesse pela técnica parece recente. A busca pelo mesmo termo em revistas brasileiras, utilizando o Scielo, resultou em 142 artigos, a maior parte (77% do total) publicada a partir de 2006 em ciências da saúde (81% do total).

A Figura 1.4 apresenta os resultados da busca via Scopus pelo termo “meta-analysis” em títulos, resumos e palavras-chaves de artigos científicos. A evolução no uso do termo é exponencial, alcançando aproximadamente 35 mil publicações nos últimos 5 anos.



**Figura 1.4 – Evolução das publicações científicas envolvendo meta-análise**

Embora a meta-análise tenha iniciado nas ciências sociais e de comportamento, a medicina é a área de pesquisa que mais avançou no uso da técnica, provavelmente pelas dificuldades práticas, riscos, custos e implicações éticas que envolvem os experimentos com seres humanos (LUIZ, 2002). A meta-análise ainda não está bem estabelecida na agropecuária, embora em algumas de suas áreas seja comum a análise conjunta de experimentos, como no melhoramento genético. Na busca pelo termo “meta-analysis” no Scielo (em periódicos brasileiros) foram encontrados apenas 18 trabalhos com temas relacionados à agropecuária (sete produzidos pelo Grupo de Modelagem Animal – GModel – UFSM).

### 1.5.2. Vantagens e objetivos da técnica

A meta-análise é uma das várias técnicas que podem ser utilizados para revisar uma área de pesquisa (DURLAK & LIPSEY, 1991). Porém, se distingue da revisão bibliográfica usual pela aplicação de uma ou mais técnicas estatísticas (LUIZ, 2002). Devido ao aumento do tamanho das amostras por combinação dos

estudos, a síntese produzida por meta-análise sobre um conjunto de dados com boa validade reduz o grau de incerteza sobre os resultados (LOVATTO et al., 2007).

O principal objetivo da síntese é entender os resultados de um estudo no contexto de todos os outros (BORENSTEIN, 2009). As principais razões para utilizar a técnica são resumir os resultados em um domínio de investigação, aumentar o poder estatístico de uma comparação, investigar como os resultados podem variar em função das características dos estudos revisados, oferecer recomendações para investigações futuras e extrair implicações práticas (DURLAK & LIPSEY, 1991; LEANDRO, 2005). A meta-análise também pode ser útil em caso de resultados aparentemente conflitantes ou para avaliar efeitos adicionais que demandam características de delineamento não compatíveis com os testes individuais (WHITEHEAD, 2002).

Entre as principais vantagens da revisão sistemática e da meta-análise estão tornar o estudo mais transparente (EGGER et al., 2001) e impor disciplina ao processo de revisão (LITTELL et al., 2008). Sob o ponto de vista prático, uma das principais vantagens da meta-análise é otimizar os resultados obtidos em pesquisas anteriores, sem depender de grande volume de recursos financeiros. Além disso, a meta-análise pode ser utilizada como recurso para tomada de decisão em diversas áreas do conhecimento, avaliando variáveis moderadas em função das características de delineamento, tratamento ou unidade experimental (LITTELL et al., 2008).

A meta-análise permite obter estimativas mais precisas que em uma série de pequenos estudos. Determinados efeitos, como o estudo da relação dose-resposta ou comparações entre parcelas específicas da população (como categorias de idade ou sexo), que dificilmente seriam passíveis de estudo em trabalhos isolados (GOOD & HARDIN, 2009). Isto porque a maioria dos trabalhos quando individualizados são muito pequenos para responder com confiança a todas as questões abordadas pela pesquisa ou para permitir a tomada de decisão (LOVATTO et al., 2007).

Diversas das características descritas para as áreas que poderiam ser bem exploradas utilizando meta-análise são observadas em micotoxicologia e em produção animal. Existe uma grande diversidade de estudos envolvendo contaminações de dietas com micotoxinas para suínos e aves. Estes estudos, apesar de contemplar um grande volume de informação, não são conclusivos em

diversos aspectos. Os trabalhos apresentam resultados variados e os fatores de variação são pouco explorados para o estudo deste efeito. Além disso, o custo para a realização dos ensaios e as dificuldades (práticas e éticas) de protocolos experimentais impedem a caracterização e a quantificação dos diversos fatores potencialmente moduladores. Assim, a meta-análise pode ser adequada para o estudo da relação entre as micotoxinas e as respostas de desempenho em suínos e frangos de corte.



## **CAPITULO 2**

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas para publicação na Revista **Animal**.

Artigo submetido em Março de 2011, Revista Animal.

Running head: **Meta-analysis of mycotoxins in pig feed**

**Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in growing pigs**

**Abstract**

A meta-analysis was carried out in order to study the association of mycotoxins with performance and organ weights in growing pigs. Eighty five articles published between 1968 and 2010 were utilized, totaling 1,012 treatments and 13,196 animals. Meta-analysis followed three sequential analyses: graphical, correlation and variance-covariance. Mycotoxin presence in diets was seen to reduce the feed intake by 18% and the weight gain in 21% in relation to control group. Deoxynivalenol and aflatoxins were the mycotoxins with the greatest impact on the feed intake and growth of pigs, reducing by 26 and 16% in the consumption of feed and by 26 and 22% in the weight gain. The mycotoxin concentration in diets and the animal age at challenge were the variables that more improved the coefficient of determination in equations for estimating the effect of mycotoxins on weight gain. The mycotoxin effect on growth was greater in younger animals. In addition, the residual analysis demonstrated that the greater part of the variation in weight gain was explained by the variation in feed intake (87%). The levels of protein and methionine in diets could influence the feed consumption and the weight gain of challenged animals. The weight gain in challenged pigs demonstrated a positive correlation with the methionine level in diets (0.68). The mycotoxin effect on growth was greater in males compared to females. The reduction in weight gain was of 15% in the female group and 19% in the male group. Mycotoxin presence in pig diets has interfered in the relative weight of liver, kidneys and heart. Mycotoxins influence on performance and

organ weight in pigs. Although, the magnitude of the effects varies with type and concentration of mycotoxin, sex and age of animal, as well as nutritional factors.

**Keywords:** aflatoxins, deoxynivalenol, nutrition, swine, trichothecenes.

### **Implications**

The mycotoxin effect on animal performance is recognized. However, this effect may be modified by several factors, which is noticeable in the large variability observed in previous results. This study is innovative, because it seeks to understand and quantify interactions among mycotoxins and other factors such as nutrition, sex or growth phase of the pigs. The meta-analysis used the complementarities among previous studies in order to highlight gaps in mycotoxicology, hardly studied in traditional experimental designs. Furthermore, to assist in understanding the mycotoxin effects, this approach can support in the determination of dynamic growth standards for challenged animals.

### **Introduction**

Mycotoxins constitute a group of substances with diverse structures, produced by secondary metabolism from toxigenic fungi. It is estimated that 25% of the world's cereal production demonstrates contamination by mycotoxins (CAST, 2003). Apart from this high prevalence, these substances play an important role in a range of toxic mechanisms, which includes the compromising of several metabolic functions in both humans and domestic animals.

Mycotoxicoses are common and important in swine production, since pigs are considered to be very sensitive to mycotoxin effects. Mycotoxins can interfere in pig feed intake and growth (D'Mello *et al.*, 1999, Dersjant-Li *et al.*, 2003). However, the animal susceptibility is influenced by several factors, such as sex and age (Cote *et*

*al.*, 1985, Dortant *et al.*, 2001). Furthermore, each mycotoxin possesses an action mechanism with different clinical manifestations, according to the ingested dose (Coulombe Jr, 1993, Hussein and Brasel, 2001). In this context, the results observed in previous publications with pigs challenged by mycotoxins are usually variable and inconclusive in some aspects, such as the relationship of mycotoxins with nutritional components in diet.

An alternative to this problem is the meta-analytic technique which allows integrating different variables and establishing systematic responses adjusted to the diversity of available experimental publications. In addition, to help to understand the mycotoxin effects, this approach can contribute to the determination of growth patterns for challenged animals. Although, this study was performed with the objective of investigating, through meta-analysis, the relationship of mycotoxins with organ weights and performance in challenged pigs according to nutrition, age and sex.

## **Material and methods**

Indexed publications with *in vivo* experiment results on pigs challenged by mycotoxins were selected. Different online data sources were search with keywords in several languages (English, Portuguese, Spanish, French and Italian). The main criteria for the publication selection were: (a) experimental intoxications with mycotoxins, (b) nursery, growth or finish phases, (c) performance response (feed intake and weight gain) and complementary results, such as organ weight. After the selection of the articles and the subsequent exploratory analysis, the information relative to the proposed theoretical model and other variables were tabulated, in order to permit a descriptive analysis on those studies included in the database. This

information was selected from the sections of material and methods or results in the articles, and tabulated using a database from an electronic data spreadsheet.

The methodology used for defining the dependent and independent variables, as well as for data encoding followed the proposals described in the literature (Sauvant *et al.*, 2005; Lovatto *et al.*, 2007). Some encoding were used with a qualitative grouping criteria, such as recourses for associating homogeneous groups in certain characteristics and including them in the analytical models as a variation source. In this particular, the main encodings used were for the challenge (control or contaminated diets) and for the mycotoxin type being studied (control diet or contaminated with specific mycotoxins). Other encodings were used as moderating variables in the analysis with the purpose of considering the variability of the compiled studies (article, *inter* and *intra* effects). For encoding the article effect (or general effect), specific sequential numbers was used for each study inserted in the database. The *inter* codification was formed by uniting the general encoding with sequential numbers in such a way so as to give a specific code for each different treatment within the database. The *intra* codification, similarly to previous procedure, was attributed to each group with repeated measurements (body weight, age, mycotoxin concentration in diets).

The analyzed variables were the experimental characteristics (challenge period, type and concentration of mycotoxins in diets, animal age, body weight and sex), diet composition, nutrient ingestion, performance (feed intake, weight gain and feed conversion ratio) and relative weight of the organs (liver, kidneys, lungs, heart, spleen and uterus). For better comparison of averages, the daily weight gain and feed intake variables were corrected for the animal metabolic weight (adjusted variable = variable/kg of body weight<sup>0.6</sup>).

The meta-analysis followed three sequences analysis: graphical (to control the database quality and observe the biological coherence of data); correlation (between the diverse variables, to identify the related factors); and variance-covariance (to compare the groups and obtain the prediction equations). The factors with the highest correlation coefficients and the codifications for general, *intra* and *inter* effects were used in the models for variance-covariance analyses (Lovatto *et al.* 2007). Regression equations were obtained through the analysis of variance-covariance using the GML procedure. The variance decomposition was used to observe the intensity of model variables on the response under analysis. All the analytical studies were made through the MINITAB 15 (2007) software.

#### *Database characterization*

Database was composed from 85 articles (list available upon consultation with the authors), published between 1968 and 2010 (mode: 2002), and occupied 1,012 lines and 62 columns in an electronic spreadsheet. The most frequently used periodicals were: Journal of Animal Science (25% of the articles), Archives of Animal Nutrition (5%), Journal of Veterinary Diagnostic Investigation (5%), Animal Feed Science and Technology (4%), and Food and Chemical Toxicology (4%). The greater part of the experiments was performed in American (28% of the articles), French (23%), German (18%), Canadian (15%) and Brazilian institutions (10%).

The study included a total of 13,196 pigs, with an average of 17 animals per treatment (mode: 12). The average initial age of the animals was 44 days (ranging from 21 to 160, mode: 28) and the final average age was 68 (from 27 to 224, mode: 56) days. Piglets in the nursery were used in 64% of the studies. The growth phase

was studied in 18%, the finish phase in 3% and the whole period (growth and finish) in 15% of the articles.

Genetics were addressed in 64% of the articles (from this, 44% of the animals used were from known crossed origins, 32% used commercial genetics and 24% used pure bred). The largest number of studies (37%) used mixed sex groups, 34% used male pigs, 15% females and 14% of the studies did not define the sex.

The average allotment area was 1.56 m<sup>2</sup> per animal, with 4 pigs per experimental group. The average duration of the experiments was from 26 days, and 168 days being the longest. Accommodation using pens for 88% of the studies and metabolic cages were utilized in 5% of the papers (7% of the authors did not define the installation type used in the experiments).

The feed system was *ad libitum* in 81% of the studies, controlled or restricted accounted for 5% and for the remaining 14% the authors did not define how the feed was given. Corn and soybean-meal were the main ingredients in 43% of the diets. Average nutritional density was 3,229 kcal/kg of metabolizable energy (ranging from 2,961 to 3,427 kcal/kg); 18.9% of crude protein (12 to 29.4%) and 0.32% of total methionine (0.29 to 0.40%). The average concentration of mycotoxins in the diets was from 0.485 ppm for aflatoxins (0 to 4 ppm), from 3.63 ppm for deoxynivalenol (0 to 72 ppm), from 1.14 ppm for zearalenone (0 to 9 ppm) and from 23.2 ppm for fumonisins (0 to 120 ppm).

## **Results and discussion**

### *Mainly Effects on the Performance*

The feed intake presented a negative correlation with the concentration of aflatoxins (-0.20;  $P < 0.01$ ) and deoxynivalenol in diets (-0.22;  $P < 0.01$ ). Despite the

significance, the correlations were low, indicating that other factors, apart from the mycotoxin dosage, may have interfered in the feed consumption of challenged animals.

The mycotoxin presence in diets reduced the feed intake by 18% ( $P < 0.05$ ) (Table 2.1). The feed intake was 16% lower ( $P < 0.05$ ) in animals that consumed diets containing aflatoxins and 26% lower ( $P < 0.05$ ) in animals that received diets containing deoxynivalenol in comparison to control groups. The feed consumption data adjusted for the animal metabolic weight was also inferior ( $P < 0.05$ ) in groups fed diets contaminated with mycotoxins (-16%), aflatoxins (-11%) and deoxynivalenol (-18%). Fumonisin and zearalenone did not alter ( $P < 0.05$ ) the pig feed intake.

Mycotoxins reduced ( $P < 0.05$ ) by 12% the crude protein intake and by 12% the methionine intake. The same variables were influenced ( $P < 0.05$ ) in the groups challenged by aflatoxins, deoxynivalenol and fumonisins.

The dip that was observed in the feed consumption variables could be attributed to specific action mechanisms of each toxin. Some substances, such as alimentary toxins, can also act as limiting factors in the diet selection, since animals may relate the consumption of contaminated feed with discomfort sensations (Hedman *et al.*, 1997; Forbes, 2007). In naturally contaminated diets, a reduced consumption can also be related to organoleptic changes caused by fungal contaminants (Akande *et al.*, 2006). However, each mycotoxin has a diverse mechanism through which it can reduce feed consumption and, in some cases, this mechanism is not fully known.

Pigs challenged by mycotoxins presented a feed conversion ratio 14% worse ( $P < 0.05$ ) in relation to the animals in the control group. Deoxynivalenol increased ( $P < 0.05$ ) the feed conversion by 25%. This variable was also influenced ( $P < 0.05$ ) in



animals that received diets containing aflatoxins (+12%) and fumonisins (+6%). Zearalenone did not influence ( $P > 0.05$ ) the weight gain or the feed conversion in pigs, as had been observed in previous studies (Andretta *et al.*, 2008).

Weight gain was 21% lower ( $P < 0.05$ ) in pigs challenged by mycotoxins than in control group (Table 2.2). Aflatoxins, deoxynivalenol and fumonisins reduced ( $P < 0.05$ ) weight gain by 22, 26 and 10% respectively. The weight gain adjusted for animal metabolic weight was 17% lower ( $P < 0.05$ ) in pigs fed with diets containing mycotoxins, 13% in groups challenged by aflatoxins, 23% by deoxynivalenol and 13% by fumonisins.

The variance decomposition demonstrated that 87% of variance in weight gain was due to the feed consumption ( $P < 0.01$ ) and only 4% due to the presence of mycotoxins in diets ( $P < 0.01$ ). The decrease in protein synthesis is the primary mechanism by which mycotoxins reduce weight gain in animals. This interference is observed in intoxications by aflatoxins and trichothecenes (Lindemann *et al.*, 1993, Lin *et al.*, 2006, Wallea *et al.*, 2009). Pigs fed diets containing aflatoxins presented reduction in the energy metabolism and in nitrogen retention (Hauschild *et al.*, 2006). Direct upsets in the functioning of some organs, especially liver, and the partition of nutrients for activities besides body growth, also increases the animal demand for protein and energy (Hamilton, 1977) and could also contribute to the deleterious effect on performance of challenged pigs.

In general, the reduction in the growth rate in challenged animals is explained by combined effects of reduction in feed consumption and in the efficiency of protein deposition. In our study, it was possible to observe that the greater part of variation in weight gain is explained by the variation in feed intake. Thus, an increase in

nutritional density of diets could be studied as an alternative to reduce the mycotoxin effects in animal growth.

#### *Interaction with dosage, age and sex*

The mycotoxin concentration in the diets was one of the most explanatory variables for calculating the reduction in weight gain (Figure 2.1). For each additional 1 ppm of aflatoxin in the diets, there was a reduction of 3.9% in pig weight gain. Similarly there was a reduction of 0.28% in the weight gain per ppm of deoxynivalenol and 0.17% per ppm of fumonisins in the diets.

The inclusion of age as a co-variable in the equations for estimating the reduction in weight gain on challenged animals (Table 2.3), improved the determination coefficient of models for all studied mycotoxins (on average of 27 perceptual points). The mycotoxin effect on pig weight gain does not appear to be constant in all growth phases. Since, the effect of mycotoxins on growth was greater in younger pigs.

It is likely that the sensitivity observed in young animals is associated with a reduced capacity or quantity of hepatic enzymes for detoxification. Some studies with rats suggest that young animals are deficient in key factors involved in hepatic bio-transformation of aflatoxin B1 (Klein *et al.*, 2002). Furthermore, the quantity of the aflatoxin-glutathione transferase conjugate is greater in adult animals, suggesting a greater capacity for detoxification within this category (Behroozikha *et al.*, 1992). Therefore young animals' livers can be considered less efficient in the mycotoxin elimination metabolism, which determines an increase in the resistance with the maturity.

The mycotoxin effect on the performance on the male pigs was greater than on the females. The mycotoxin presence in diets reduced feed intake by 6% in females and by 10% in males. The reduction in weight gain was 15% in female group and by 19% in male group. Furthermore, challenged females presented a feed conversion ratio 8% worse, whilst the feed conversion ratio for males was 10% worse in relation to respective control groups.

A similar relationship was observed in pigs challenged by aflatoxins to the feed intake (reduction of 24% in females and of 30% in males) and weight gain (reduction of 23% in females and 27% in males). The deoxynivalenol effect was even more pronounced in males compared to females for feed intake (reduction of 3% in females and 20% in males) and weight gain (reduction of 2% in females and by 34% in males).

The sex influence on the sensitivity to mycotoxins had already been reported in rodents (Gurtoo and Motycka, 1976, Castegnaro *et al.*, 1998) and in birds (Bryden *et al.*, 1980). In challenged pigs, clinical and immunological parameters can also be influenced by sex (Cote *et al.*, 1985, Rotter *et al.*, 1996, Marin *et al.*, 2006). Some authors suggest that the greater susceptibility of males would be related to differences in the mycotoxin hepatic metabolism (Gurtoo and Motycka, 1976, Castegnaro *et al.*, 1998). Although, this hypothesis needs to be confirmed.

#### *Nutritional interactions*

Considering only the animals that consumed diets containing mycotoxins, there was a positive correlation between weight gain and daily ingestion of protein (0.27;  $P < 0.01$ ) and methionine (0.68;  $P < 0.01$ ). In addition, the ingestion of methionine presented a strong correlation with weight gain in animals challenged by

aflatoxins (0.78;  $P < 0.01$ ), deoxynivalenol (0.70;  $P = 0.04$ ) and fumonisins (0.65;  $P < 0.01$ ).

Adjusting the nutritional content in diets could influence the growth of challenged pigs. The equations for estimating the pig weight gain on the basis of ingestion of nutrients are presented in Table 2.4. In pigs challenged by mycotoxins, there was an increase of 1.2 g in the daily weight gain for each increase in one unit of ingested methionine (g of methionine/kg of animal metabolic weight). A similar relationship was observed for aflatoxins, where for each increase of one ingested unit of methionine, there was an increase of 1.8 g in the daily weight gain.

Methionine is an amino acid with an important hepatic-protective role, as it has anti-oxidant and anti-toxic properties. The relationship between the methionine levels and the performance of challenged animals may involve an endogenous system that minimizes the effect of toxic products, through glutathione (Reed, 1990). This way of detoxification assists in the elimination of the aflatoxin form activated by epoxidation. The metabolite is highly interactive and can be connected with macromolecules, such as DNA, RNA and proteins (Lin *et al.*, 2006). These links represent the primary biochemical lesion produced by aflatoxins and determine the reduction in protein biosynthesis and, consequently, in the animal growth. Conversely, aflatoxin-epoxide can also be connected with glutathione, constituting an important way of detoxification of this composite (Fatemi *et al.*, 2006). However, the level of glutathione in the cells is dependent on the availability of cysteine, an amino acid partially formed by methionine. Therefore, the increase in methionine ingestion can increase the hepatic glutathione content (Seligson and Rotruck, 1983), and consequently, the excretion of metabolites and the detoxification (Coffey *et al.*, 1989).

## Organs

The mycotoxin presence in diets interfered ( $P < 0.05$ ) in the relative weight of liver, kidneys and heart (Table 2.5). Aflatoxins increased ( $P < 0.05$ ) the relative weight of liver by 19%, kidneys by 18% and heart by 11%, but did not influence ( $P > 0.05$ ) the weight of lungs or spleen. Deoxynivalenol increased ( $P < 0.05$ ) the relative weight of liver by 19%, kidneys by 21% and heart by 13%, without influencing ( $P > 0.05$ ) the relative weight of spleen. Fumonisin did not influence the weight of kidneys and spleen, but increased the relative weight of liver, heart and lungs. Zearalenone did not influence ( $P > 0.05$ ) the relative weight of liver, kidneys and spleen, but increased ( $P > 0.05$ ) the relative weight of uterus by 22%.

In general, the liver was the main target organ for mycotoxins. The correlation between the relative weight of liver is positive when subjected to diet concentration of deoxynivalenol (0.48;  $P < 0.05$ ) and aflatoxins (0.65;  $P < 0.01$ ). For each 1 ppm of aflatoxins in diet, an increase of 0.29% is expected in the relative weight of the liver ( $-2.47 + 0.29\text{ppm}$ ;  $R^2: 0.79$ ). Changes in the hepatic functions are observed in pigs fed with diets containing aflatoxins (Meissonnier, 2007) and the increase in the organ weight can be attributed to the fatty liver (Newberne, 1969).

## Conclusions and perspectives

The meta-analysis performed in this study allowed to address and quantify systematically the association of mycotoxins with productive alterations in pigs. Animals fed with diets containing mycotoxins presented a reduction in feed intake, weight gain, feed conversion ratio and final body weight in relation to the control group. The mycotoxin ingestion interferes with the relative weights of liver, kidneys and heart. Deoxynivalenol and aflatoxins are the mycotoxins with the greater impact

on feed intake and growth. In addition to assisting in understanding the mycotoxin effects, this approach can support in the determination of dynamic standards for the growth of the challenged animals. The results of this study indicate a possibility to explore the relationship of mycotoxins with several factors, such as age and sex of the animals, mycotoxin type and concentration, and ingestion of protein or methionine.

## References

Akande KE, Abubakar MM, Adegbola TA and Bogoro SE 2006. Nutritional and health implications of mycotoxins in animal feeds: a review. *Pakistan Journal of Nutrition* 5, 398-403.

Andretta I, Lovatto PA, Hauschild L, Dilkin P, Garcia GG, Lanferdini E, Cavazini NC and Mallmann CA 2008. Alimentação de leitoas pré-púberes com dietas contendo zearalenona. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 60, 1227-1233.

Behroozikha M, Saidee M and Allameh A 1992. Comparison of aflatoxin B1-DNA binding and glutathione conjugate formation by liver preparations from rats of different ages. *Cancer Letters* 66, 69-76.

Bryden WL, Cumming RB and Lloyd AB 1980. Sex and strain responses to aflatoxin B1 in the chicken. *Avian Pathology* 9, 539 - 550.

CAST (Council for Agricultural Science and Technology) 2003. *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems. Task Force Report*, 139.

Castegnaro M, Mohr U, Pfohl-Leskowicz A, Estève J, Steinmann J, Tillmann T, Michelon J and Bartsch H 1998. Sex- and strain-specific induction of renal tumors by ochratoxin A in rats correlates with DNA adduction. *International Journal of Cancer* 77, 70-75.

Coffey MT, Hagler WM, Jr. and Cullen JM 1989. Influence of dietary protein, fat or amino acids on the response of weanling swine to aflatoxin B1. *Journal of Animal Science* 67, 465-472.

Cote LM, Beasley VR, Bratich PM, Swanson SP, Shivaprasad HL and Buck WB 1985. Sex-related reduced weight gains in growing swine fed diets containing deoxynivalenol. *Journal of Animal Science* 61, 942-950.

Coulombe Jr RA 1993. Biological action of mycotoxins. *Journal of Dairy Science* 76, 880-891.

D'Mello JPF, Placinta CM and Macdonald AMC 1999. Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal feed science and technology* 80, 183-205.

Dersjant-Li Y, Verstegen MWA and Gerrits WJJ 2003. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry. *Nutrition Research Reviews* 16, 223-239.

Dortant PM, Peters-Volleberg GWM, Van Loveren H, Marquardt RR and Speijers GJA 2001. Age-related differences in the toxicity of ochratoxin A in female rats. *Food and Chemical Toxicology* 39, 55-65.

Fatemi F, Allameh A, Dadkhah A, Forouzandeh M, Kazemnejad S and Sharifi R 2006. Changes in hepatic cytosolic glutathione S-transferase activity and expression of its class-P during prenatal and postnatal period in rats treated with aflatoxin B1. *Archives of Toxicology* 80, 572-579.

Forbes JM 2007. Voluntary food intake and diet selection of farm animals. CAB International, Wallingford, UK.

Gurtoo HL and Motycka L 1976. Effect of sex difference on the *in vitro* and *in vivo* metabolism of aflatoxin B1 by the rat. *Cancer Research* 36, 4663-4671.

Hamilton PB 1977. Interrelationships of mycotoxins with nutrition. Federation Proceedings 36, 1899-1902.

Hauschild L, Lovatto PA, Kunrath MA, Carvalho AA, Garcia GG and Mallmann CA 2006. Digestibilidade de dietas e balanços metabólicos de suínos alimentados com dietas contendo aflatoxinas. *Ciência Rural* 36, 1570-1575.

Hedman R, Thuvander A, Gadhasson I, Reverter M and Pettersson H 1997. Influence of dietary nivalenol exposure on gross pathology and selected immunological parameters in young pigs. *Natural Toxins* 5, 238-246.

Hussein HS and Brasel JM 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 167, 101-134.

Klein PJ, Van Vleet TR, Hall JO and Coulombe JRA 2002. Biochemical factors underlying the age-related sensitivity of turkeys to aflatoxin B1. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 132, 193-201.

Lin WC, Liao YC, Liao MC, Lii CK and Sheen LY 2006. Inhibitory effect of CDA-II, a urinary preparation, on aflatoxin B1-induced oxidative stress and DNA damage in primary cultured rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology* 44, 546-551.

Lindemann MD, Blodgett DJ, Kornegay ET and Schurig GG 1993. Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling/growing swine. *Journal of Animal Science* 71, 171-178.

Lovatto PA, Lehnen CR, Andretta I, Carvalho ADA and Hauschild L 2007. Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36, 285-294.

Marin DE, Taranu I, Pascale F, Lionide A, Burlacu R, Bailly J-D and Oswald IP 2006. Sex-related differences in the immune response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin extract. *British Journal of Nutrition* 95, 1185-1192.



Meissonnier GM, Laffitte J, Loiseau N, Benoit E, Raymond I, Pinton P, Cossalter AM, Bertin G, Oswald IP and Galtier P 2007. Selective impairment of drug-metabolizing enzymes in pig liver during subchronic dietary exposure to aflatoxin B1. *Food and Chemical Toxicology* 45, 2145-2154.

Minitab 2007. Minitab Inc. Versão 15.1.

Newberne PM and Butler WH 1969. Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals: a review. *Cancer Research*. 29, 236-250.

Reed DJ 1990. Glutathione: toxicological implications. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 30, 603-631.

Rotter B, Thompson B, Prelusky D, Trenholm H, Stewart B, Miller J and Savard M 1996. Response of growing swine to dietary exposure to pure fumonisin B1 during an eight-week period: growth and clinical parameters. *Journal of Natural Toxins* 4, 42-50.

Sauvant D, Schmidely P and Daudin JJ 2005. Les méta-analyses des données expérimentales: applications en nutrition animale. *INRA Productions Animales* 18, 63-73.

Seligson FH and Rotruck JT 1983. Tissue nonprotein sulfhydryl content and weight gain of rats as affected by dietary methionine level. *Journal of Nutrition* 113, 98-104.

Wallea JVD, Sergenta T, Pironb N, Toussaintb O, Schneidera Y-J and Larondellea Y 2010. Deoxynivalenol affects in vitro intestinal epithelial cell barrier integrity through inhibition of protein synthesis. *Toxicology and Applied Pharmacology* 245, 291-298.

**Table 2.1** Feed intake and nutrient ingestion, obtained through meta-analysis, for pigs challenged by mycotoxins (MYC), aflatoxins (AFLA), deoxynivalenol (DON), fumonisins (FMN) or zearalenone (ZEA)

Variables	MYC	AFLA	DON	FMN	ZEA
Daily feed intake (kg)					
Control	1.48	1.31	1.66	1.27	1.14
Challenged	1.21	1.10	1.24	1.27	0.92
RSD <sup>a</sup>	0.18	0.14	0.13	0.11	0.16
P <sup>b</sup>	*	***	***	ns	ns
R <sup>2</sup>	0.96	0.78	0.87	0.84	0.91
Adjusted daily feed intake (g/kg BW <sup>0.6</sup> )					
Control	195.2	190.6	209.5	176.2	161.5
Challenged	169.8	168.9	171.2	168.6	159.0
RSD	4.2	2.5	3.1	6.9	5.0
P	**	***	***	ns	ns
R <sup>2</sup>	0.71	0.66	0.55	0.85	0.51
Daily ingestion of crude protein (g/kg BW <sup>0.6</sup> )					
Control	38.1	36.7	40.0	38.8	31.8
Challenged	33.6	32.2	34.6	35.8	29.9
RSD	0.2	4.6	4.1	5.2	3.6
P	***	***	**	*	ns
R <sup>2</sup>	0.66	0.49	0.49	0.60	0.49
Daily ingestion of methionine (g/kg BW <sup>0.6</sup> )					
Control	0.59	0.58	0.58	0.60	0.56
Challenged	0.52	0.49	0.53	0.54	0.53
RSD	0.07	0.06	0.08	0.07	0.05
P	***	***	*	*	ns
R <sup>2</sup>	0.66	0.59	0.65	0.60	0.49

<sup>a</sup> Residual standard deviation.

<sup>b</sup> Significance level indicated by <sup>ns</sup>  $P > 0.05$ , \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Table 2.2** Performance, obtained through meta-analysis, for pigs challenged by mycotoxins (MYC), aflatoxins (AFLA), deoxynivalenol (DON), fumonisins (FMN) or zearalenone (ZEA)

Variables	MYC	AFLA	DON	FMN	ZEA
Daily weight gain (g)					
Control	646	713	633	595	531
Challenged	511	557	467	537	447
RSD <sup>a</sup>	19	10	88	12	17
P <sup>b</sup>	***	***	***	**	ns
R <sup>2</sup>	0.83	0.35	0.57	0.50	0.74
Adjusted daily weight gain (g/kg BW <sup>0.6</sup> )					
Control	87.2	90.7	84.1	92.0	85.8
Challenged	72.6	78.8	64.9	80.4	65.9
RSD	5.4	5.8	9.39	2.9	6.5
P	***	***	***	**	ns
R <sup>2</sup>	0.67	0.43	0.46	0.52	0.58
Feed conversion ratio (g/g)					
Control	2.37	2.58	2.43	2.06	2.05
Challenged	2.71	2.89	3.04	2.18	2.10
RSD	0.39	0.39	0.40	0.34	0.22
P	**	*	*	*	ns
R <sup>2</sup>	0.98	0.52	0.43	0.57	0.86

<sup>a</sup> Residual standard deviation.

<sup>b</sup> Significance level indicated by <sup>ns</sup>  $P > 0.05$ , \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Table 2.3** *Equations, obtained through variance-covariance analysis, to estimate the reduction (%) in average daily weight gain in pigs challenged by aflatoxins, deoxynivalenol or fumonisins*

Challenge	Intercept	Mycotoxin concentration (ppm)	Animal age (days)	R <sup>2</sup>
Aflatoxins	-24.71	-0.094	0.232	0.98
Deoxynivalenol	-18.97	-0.001	0.114	0.96
Fumonisins	-6.001	-0.009	0.038	0.93

**Table 2.4** Equations, obtained through variance-covariance analysis, to estimate the daily weight gain (kg) of pigs fed with diets containing mycotoxins relative to the ingestion of crude protein or total methionine

Challenge	Intercept	Daily nutrient ingestion (g/kg BW <sup>0.6</sup> )		R <sup>2</sup>
		Protein	Methionine	
Mycotoxins	-0.188	0.004		0.75
	-0.064		1.197	0.73
Aflatoxins	-0.094	0.018		0.82
	-0.363		1.810	0.74
Deoxynivalenol	-0.063	0.002		0.86
	-0.037		1.227	0.67
Zearalenone	-0.059	0.015		0.92
	-0.026		1.117	0.62
Fumonisin	-0.154	0.024		0.84
	-0.138		1.259	0.73

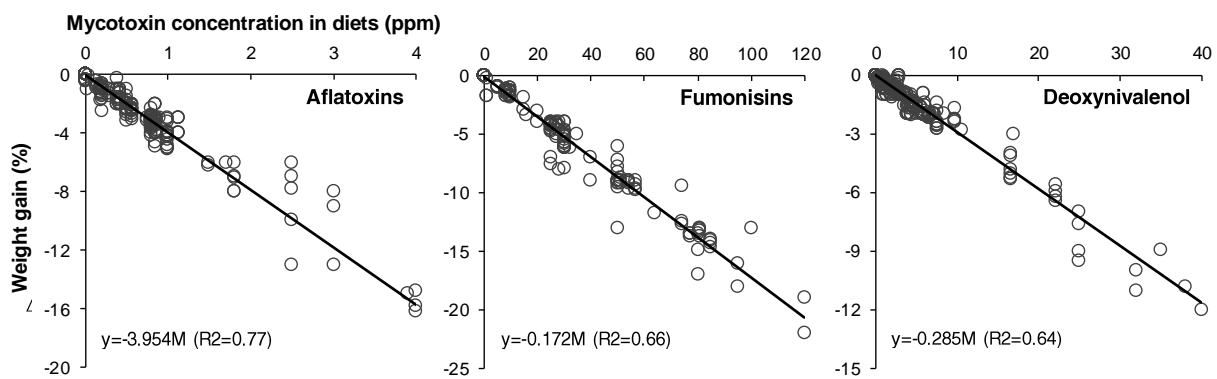
**Table 2.5** Relative organ weights, obtained through meta-analysis, for pigs challenged by mycotoxins (MYC), aflatoxins (AFLA), deoxynivalenol (DON), fumonisins (FMN) or zearalenone (ZEA)

Variables	MYC	AFLA	DON	FMN	ZEA
<b>Liver (% BW)</b>					
Control	3.15	2.49	3.59	2.59	3.16
Challenged	3.21	2.96	4.44	2.74	3.20
RSD <sup>a</sup>	0.33	0.35	0.28	0.23	0.23
P <sup>b</sup>	***	***	***	***	ns
R <sup>2</sup>	0.98	0.75	0.99	0.71	0.66
<b>Kidneys (% BW)</b>					
Control	0.62	0.45	0.78	0.47	0.55
Challenged	0.67	0.53	0.99	0.48	0.52
RSD	0.04	0.02	0.04	0.04	0.02
P	**	*	***	ns	ns
R <sup>2</sup>	0.99	0.44	0.99	0.40	0.68
<b>Lungs (% BW)</b>					
Control	1.19	1.18	-	1.19	-
Challenged	1.22	1.21	-	1.25	-
RSD	0.11	0.17	-	0.01	-
P	ns	ns	-	*	-
R <sup>2</sup>	0.50	0.46	-	0.46	-
<b>Heart (% BW)</b>					
Control	0.44	0.45	0.40	0.42	-
Challenged	0.47	0.50	0.45	0.53	-
RSD	0.03	0.04	0.02	0.04	-
P	*	ns	***	ns	-
R <sup>2</sup>	0.84	0.74	0.91	0.60	-
<b>Spleen (% BW)</b>					
Control	0.32	0.17	0.44	0.20	0.15
Challenged	0.28	0.16	0.42	0.18	0.15
RSD	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00
P	ns	ns	ns	ns	ns
R <sup>2</sup>	0.99	0.64	0.99	0.52	0.41
<b>Uterus (% BW)</b>					
Control	-	-	-	-	2.37
Challenged	-	-	-	-	2.89
RSD	-	-	-	-	0.36
P	-	-	-	-	***
R <sup>2</sup>	-	-	-	-	0.92

<sup>a</sup> Residual standard deviation.

<sup>b</sup> Significance level indicated by <sup>ns</sup>  $P > 0.05$ , \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Figure 2.1** Reduction in average daily weight gain, obtained through variance-covariance analysis, in pigs challenged by aflatoxins, deoxynivalenol or fumonisins relative to mycotoxin concentration in diets



<sup>M</sup> Mycotoxin concentration in diets.

## **CAPITULO 3**

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas para publicação na Revista **Poultry Science**.

Artigo submetido em Março de 2011, Revista Poultry Science.



## META-ANALYSIS OF MYCOTOXINS IN BROILER FEED

### Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in broilers

#### ABSTRACT

A meta-analysis was carried out to study the association of mycotoxins with performance, productive indexes and organ weights in broilers. Ninety-eight papers published between 1980 and 2009 were used, totaling 1,401 diets and 37,371 animals. Meta-analysis followed three sequential analyses: graphical, correlation and variance-covariance. The mycotoxin presence in diets reduced ( $P < 0.05$ ) feed intake by 12% and weight gain by 14% compared to control group. Ochratoxins and aflatoxins were the mycotoxins with the greatest impact on feed intake and bird growth, reducing ( $P < 0.05$ ) feed ingestion by 17 and 11%, and weight gain by 20 and 11%. The mycotoxin concentration in diets and the animal age at challenge were the variables that more improved the coefficient of determination for equations to estimate mycotoxin effect on weight gain. The mycotoxin effect on growth proved to be greater in young poultry. The residual analysis revealed that 65% of the variation in weight gain was explained by the feed consumption. The variation in weight gain of challenged broilers in relation to unchallenged ones was also influenced by nutrient ingestion, such as protein and methionine. Mortality was 8.8 and 2.8 times greater ( $P < 0.05$ ) in groups that received diets with deoxynivalenol or aflatoxins. Mycotoxins also increased ( $P < 0.05$ ) the relative weight of liver by 15%, of kidneys by 11%, of lungs by 9% and of gizzard by 3%. Mycotoxins influenced broiler performance, productive indexes and organ weights. However, the magnitude of the effects varies with type and concentration of mycotoxin, animal age and nutritional factors.

**Key Words:** Aflatoxin, Poultry, Deoxynivalenol, Nutrition, Trichothecene.

## INTRODUCTION

Some fungi contaminant in cereals produce secondary toxic metabolites called mycotoxins. In general, these metabolites have no importance in normal development of fungi and are produced as an adaptive response to environmental conditions (Pitt, 2000). Structurally, mycotoxins compose a complex group of low molecular weight substances, naturally occurring in diverse substrates, including foods for human and animal consumption.

Twenty-five percent of the world's cereal production is estimated to be contaminated by mycotoxins (CAST, 2003). Besides their high prevalence, mycotoxins are important due to the diversity of toxic mechanisms, which include carcinogenesis and compromising of several metabolic functions in animals (Hussein & Brasel, 2001; Miazzo et al., 2005).

Mycotoxicooses are an important problem in commercial poultry farming, interfering negatively in several productive variables. Mycotoxins can reduce feed intake and broiler weight gain (Kubena et al., 1997; Gentles et al., 1999; Dagher, 2008). However, their toxicity mechanisms are specific to each mycotoxin type and the effects observed in animals are varied and modulated by several factors (D'Mello & Macdonald, 1997). Besides being inconsistent, the results are little conclusive in some aspects, especially in the relationship between mycotoxins and nutritional components of diets.

In face of the variability in experimental results, it would be interest to study the effects of mycotoxins in broilers through meta-analysis, a technique that allows integrating different variables and establishing systematic responses adjusted to experimental diversity. In addition, to help to understand the mycotoxin effects, this approach can contribute to the determination of growth patters to challenged animals. Although, this study was performed, at using meta-analysis, to investigate the relationship of mycotoxins with performance, productive indexes and organ weights in broilers.

## MATERIALS AND METHODS

Indexed publications with *in vivo* experiment results on broilers challenged by mycotoxins were selected. The research strategy for papers was to consult different online data sources with keywords in several languages (English, Portuguese, Spanish, French and Italian). The main criteria for selecting publications were: (a) experimental intoxications with mycotoxins, (b) commercial broiler strains, and (c) responses of animal performance and organ weights. After selection of the studies and the subsequent exploratory analysis, information related to the proposed theoretical model and other variables were tabulated in order to permit the descriptive analysis of studies included into the database. The information was selected from material and methods and results sections in the articles and then tabulated in a database.

The methodology for defining dependent and independent variables and for data encoding followed the propositions described in literature (Sauvant et al., 2005; Lovatto et al., 2007). Some encoding were used with qualitative grouping criteria as a resource to associate groups that are homogenous in certain characteristics and include them in analytical models as a variation source. In this particular, the main encodings used were for challenge (control or contaminated diets) and for mycotoxin type under study (control or contaminated diets for specific mycotoxins). Other encodings were used in analyses as moderating variables with the objective of considering the variability of compiled studies (article, *inter* and *intra* effects). A specific sequential number was attributed to each study inserted in the database for codification of the article effect (general). *Inter* codification was formed by uniting the general encoding and sequential numbers, to attribute a specific code to each database treatment. *Intra* codification, similarly to previous procedure, was attributed to groups with repeated measurements (body weight, age, mycotoxin concentration in diets).

The analyzed variables were experimental characteristics (challenge period, mycotoxin type and concentration in diets, broiler age, body weight and sex), diet composition, nutrient ingestion (crude protein and total methionine), performance (feed intake, weight gain and feed conversion ratio), productive indexes (productive efficiency and mortality index) and relative weight of organs (liver, kidneys, lungs, gizzard, heart, bursa and proventricle). For a better comparison of averages, daily weight gain and feed intake data were corrected for the animal metabolic weight (Adjusted variable = Variable/Body weight<sup>0.75</sup>). The productive efficiency index (PEI) was calculated from data available in the papers, considering  $[PEI=(BW*SI)/(FC*A)*100]$ ; BW= average body weight in grams; SI= survival index [100-mortality], in %; FC= feed conversion ratio; A= age, in days.

The meta-analysis followed three sequential analyses: graphical (to control database quality and observe biological coherence of data), correlation (between the diverse variables to identify related factors) and variance-covariance (to compare the groups and obtain the prediction equations). The factors with higher coefficients of correlations and the codifications for general, *inter* or *intra* effects were used in the models for variance-covariance analyses (Lovatto et al., 2007). Regression equations were obtained through the variance-covariance analysis using the GLM procedure. The variance decomposition was used to observe the intensity of model variables on the response under analysis. The dispersion measure used to evaluate the results was the residual standard deviation since it better characterizes *intra* and model variability. All analyses were made using MINITAB 15 (2007) software.

### ***Description of the Database***

The database occupied 1,401 lines and 189 columns on a spreadsheet composed from 98 articles (available upon consultation with the authors) published between 1980 and 2009

(mode: 2004). The most frequently periodicals in the database were: Poultry Science (30% of the papers), The Journal of Applied Poultry Research (6%), International Journal of Poultry Science (6%), Ciência Rural (5%) and Research in Veterinary Science (4%). Most of the experiments were conducted in American (28% of the papers) and Brazilian (19%) institutions.

The studies included in the database totaled 37,731 broilers, with an average of 253 animals per paper (mode: 140) and 58 per treatment (mode: 30). The genetics was described in 64% of the papers (54% Ross, 17% Cobb, 11% Arbor and 7% Hubbard). Initial average age of the broilers was 9 days (ranging from 1 to 43, mode: 1) and final average age was 27 days (from 7 to 56, mode: 21). Average experiment duration was 18 days and the longest being 55 days. Most (61%) of the papers used male broilers, 4% used females, 16% mixed lots and 18% did not describe broiler gender in the study. The installations used included boxes (57%) and cages (26%), and 17% of the authors did not present the installation type.

Corn and soybean meal were the main ingredients, used in 65% of the diets. Average nutritional density was 3,088 kcal/kg of metabolizable energy (ranging from 2,651 to 3,941 kcal/kg), 21.1% of crude protein (18 to 25.5%) and 0.57% of average total methionine (0.35 to 0.85%). Average mycotoxin concentrations were 0.95 ppm for aflatoxins (0 to 5 ppm); 4.29 ppm for deoxynivalenol (0 to 15 ppm); 2.87 ppm for T2 toxin (0 to 13.5 ppm); 0.78 ppm for ochratoxins (0 to 4.18 ppm); 5.05 ppm for zearalenone (0 to 111 ppm) and 112.8 ppm for fumonisins (0 to 400 ppm).

## RESULTS AND DISCUSSION

### *Performance*

Mycotoxin concentration in diets presented a negative correlation with daily feed intake (- 0.24;  $P < 0.01$ ), with daily weight gain (- 0.30;  $P < 0.01$ ) and with broiler final body

weight (- 0.27;  $P < 0.01$ ). Broiler weight at the end of the experiments also presented a negative correlation with the concentration of aflatoxins (- 0.22;  $P < 0.01$ ), deoxynivalenol (- 0.35;  $P = 0.04$ ), T2 toxin (- 0.19;  $P = 0.03$ ), ochratoxins (- 0.18;  $P = 0.04$ ), fumonisins (- 0.15;  $P = 0.03$ ) and zearalenone (- 0.15;  $P = 0.04$ ). Although significant, the correlations were low indicating that other factors may interfere in broiler performance.

Mycotoxins reduced ( $P < 0.05$ ) feed intake by 12% and animal weight gain by 14% (Table 3.1). This negative interference ( $P < 0.05$ ) was maintained after adjusting feed consumption and weight gain data to animal metabolic weight. Mycotoxins influenced negatively ( $P < 0.05$ ) the broiler feed conversion ratio by 7%. Furthermore, final weight of broilers that received diets containing mycotoxins was 14% lower ( $P < 0.05$ ) compared to control animals.

The mycotoxins with the greatest impact on feed intake were ochratoxins and aflatoxins, reducing ( $P < 0.05$ ) the variable by 17 and 11%. Interference ( $P < 0.05$ ) in daily feed intake was also observed in broilers that were given diets with deoxynivalenol (- 9%) and T2 toxin (- 7%).

The observed reduction in feed intake can be attributed to the specific action mechanisms of each toxin. Frequent oral lesions found in trichothecene intoxication are an example (Sokolović et al., 2008). Some substances, like alimentary toxins, also act as limiting factors in diet selection, since animals relate their consumption with metabolic consequences of discomfort (Forbs, 1995). However, each mycotoxin has a diverse means through which it can reduce feed consumption, and in some cases, this mechanism is not fully known.

Feed conversion ratio was worse ( $P < 0.05$ ) in animals that received diets with aflatoxins (6%), deoxynivalenol (12%), T2 toxin (6%) and ochratoxins (8%) in relation to the respective control groups, but was not influenced ( $P > 0.05$ ) by the ingestion of fumonisins and zearalenone. Broilers fed diets containing ochratoxins presented a 20% reduction ( $P <$

0.05) in daily weight gain and 22% in final body weight. The reduction ( $P < 0.05$ ) in the same variables was 11 and 9% for contaminations with aflatoxins, 8 and 5% for T2 toxin and 5 and 6% for deoxynivalenol. Zearalenone and fumonisins did not influence ( $P > 0.05$ ) broiler growth.

The variance decomposition demonstrated that 65% of the variation in weight gain is due to feed consumption ( $P < 0.01$ ) and only 3% to the presence of mycotoxins in diets ( $P < 0.01$ ). The negative interference of aflatoxins and trichothecenes on nutrient absorption and protein synthesis can influence weight gain in challenged animal (Verma et al., 2002). Direct disturbance in the functions of some organs, especially the liver, and the partition of nutrients for activities besides body growth also increases challenged animal demands for protein and energy (Hamilton, 1977). Thus, the explanation for disturbance in challenged broiler growth is in the association of a reduction in feed intake with alterations in protein deposition efficiency. This meta-analysis permitted observing that most of the variation in weight gain was explained by the variation in feed consumption. Thus, the increase in nutritional density of diets could be studied as a practice to reduce the mycotoxin effects on animal growth.

### ***Interactions Between Performance and Nutrition in Challenged Animals***

Weight gain in non-challenged animals increased 2.08 g with each gram of protein ingested (Table 3.2). The same proportion in challenged animals was 2.05 g. The difference between regression coefficients in the equations for weight gain suggests alterations in challenged animal metabolism with the possible use of nutrients for other functions besides body growth.

Variation in weight gain of challenged broilers in relation to unchallenged ones was also influenced by nutrient ingestion, such as protein and methionine. Deficit in broiler weight

gain caused by aflatoxins was 0.23% lower with each one gram increase in daily protein ingestion and 7.3% lower with each one gram increase in daily methionine ingestion.

Weight gain had a positive correlation with methionine content in contaminated diets (0.25;  $P < 0.01$ ). Analyzing only data from aflatoxin challenged broilers, the correlation between weight gain and methionine content was higher (0.50;  $P < 0.01$ ).

The interaction between nutrient intake and challenged broiler performance show that some mycotoxins, like aflatoxins, increase the need for diet protein to obtain a certain productivity index. Furthermore, some nutrients have important functions in mycotoxicoses. For example, methionine is related to an oxidation-reduction process that uses hepatic glutathione, partially formed by methionine and cysteine, as a means for detoxifying metabolites such as aflatoxin B<sub>1</sub>-epoxide (Reed, 1990; Fatemi et al., 2006). However, nutritional practices are still little studied as methods of reducing the effect of mycotoxins in domestic animals.

### ***Mycotoxin Dosage and Broiler Age***

The mycotoxin type had a differentiated influence on animal weight gain. For each ppm of aflatoxins in diets, there is an expected reduction of 16% in broiler weight gain (Figure 3.1). Likewise, there is an expected reduction of 1.2% in weight gain per ppm of deoxynivalenol; 4.25% per ppm of T2 toxin and 13.3% per ppm of ochratoxins in diets.

The inclusion of age as a co-variable in equations for estimating the reduction in weight gain of challenged broilers improved (on average 20 perceptual points) the determination coefficient of the models for all mycotoxins studied (Table 3.3). Equations indicated that the effect of mycotoxins on broiler weight gain is not constant in all growth phases. Since that, the effect of mycotoxins on growth was greater in young broilers. Although these equations are empirical, the inclusion of age as a variable makes them



dynamic, permitting their application in mathematical models. These results are important because the lack of dynamic information makes several models deficient since it does not simulate animal growth considering the effect of sanitary challenges, like mycotoxins.

### ***Mortality, Productive Efficiency Index and Organ Weights***

The presence of aflatoxins and deoxynivalenol in diets increased ( $P < 0.05$ ) mortality, whereas T2 toxin and fumonisins did not influence ( $P > 0.05$ ) this index (Table 3.4). The increase observed in mortality rates of lots that were given contaminated diets can be considered a direct effect of mycotoxins, but it is probable that the immunosuppressive action of these substances in chronic intoxications can increase the incidence of secondary infections and be relevant in the observed condition (Bouhet & Oswald, 2005). Mycotoxin action on target organs can also contribute on the mortality rate variability among mycotoxins. Liver damage, for example, reduces detoxification activity, collaborating towards a worsening of observed clinical charts.

The mycotoxin concentration in the diets presented a negative correlation with the productive efficiency index (-0.61;  $P < 0.01$ ). Challenged groups presented a 40% reduction ( $P < 0.05$ ) in the productive efficiency, which was influenced ( $P < 0.05$ ) by aflatoxins, deoxynivalenol and T2 toxin.

The relative weight of liver presented a positive correlation with the dose of mycotoxins (0.23;  $P < 0.01$ ), aflatoxins (0.40;  $P < 0.01$ ), deoxynivalenol (0.23;  $P = 0.03$ ) and fumonisins (0.31;  $P = 0.02$ ). Presence of mycotoxins in diets increases relative weight of liver by 15% ( $P < 0.05$ ), kidneys by 11%, lungs by 9% and gizzards by 3% (Table 3.5). The proventricle was 2.3 times heavier ( $P < 0.05$ ) in challenged birds, however the mainly effect appears to be of the aflatoxin. The relative weight of the heart was influenced ( $P < 0.05$ ) only

by the presence of aflatoxins. Bursa and pancreas weights were not influenced ( $P > 0.05$ ) by mycotoxins studied.

Aflatoxins presented the most important effects of all mycotoxins on organ weight. Broilers challenged by aflatoxins presented a 22% increase ( $P < 0.05$ ) in relative liver weight, 36% in kidneys, 29% in lungs, 23% in the proventricle, 10% in the heart and 4% in the gizzard. Each 1 ppm of aflatoxin in the diet increased the relative weight of the liver by 0.23% ( $2.89 + 0.23 * \text{ppm}$ ;  $R^2: 0.72$ ).

The liver is affected by most mycotoxins. Alterations in liver functions are observed in broilers challenged by aflatoxins (Maciel et al., 2007) and the increase in this organ weight can be attributed to fatty degeneration (Safameher, 2008). Furthermore, some alterations in blood circulation in liver can be related to cardiac hypertrophy (Lee et al., 2007).

Mycotoxins are important in poultry industry due to the severe damage to animal health and profitability of the productive system. The meta-analysis performed in this study allowed to addressing and quantifies systematically the association of mycotoxins with broiler performance. In addition to assist in understanding the effects of mycotoxins, this approach collaborated to the determination of dynamic standards for the growth of challenged animals. The results of this study point to the possibility of exploring the relationship of mycotoxins with several factors, such as animal age, mycotoxin type and concentration, and ingestion of protein and methionine.

## REFERENCES

- Bouhet, S., and I. P. Oswald. 2005. The effects of mycotoxins, fungal food contaminants, on the intestinal epithelial cell-derived innate immune response. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 108:199-209.
- CAST: Council for Agricultural Science and Technology. 2003. *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems.* Task Force Report No. 139.

- D'Mello, J. P. F., and A. M. C. Macdonald. 1997. Mycotoxins. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 69:155-166.
- Daghir, N. J. 2008. Mycotoxins in poultry feeds. Pages 197-226 in *Poultry production in hot climates*. N. J. Daghir, ed. CAB International, Wallingford, UK.
- Fatemi, F., Allameh, A., Dadkhah, A., Forouzandeh, M., Kazemnejad, S., and R. Sharifi. 2006. Changes in hepatic cytosolic glutathione-S-transferase activity and expression of its class-P during prenatal and postnatal period in rats treated with aflatoxin B1. *Arch Toxicol.* 80: 572-579.
- Forbes, J. M. 1995. *Voluntary food intake and diet selection by farm animals*, 532p. CAB International, Wallingford, UK.
- Gentles, A., E. E. Smith, L. F. Kubena, E. Duffus, P. Johnson, J. Thompson, R. B. Harvey, and T. S. Edrington. 1999. Toxicological evaluations of cyclopiazonic acid and ochratoxin A in broilers. *Poult. Sci.* 78:1380-1384.
- Hamilton, P. B. 1977. Interrelationships of mycotoxins with nutrition. *Fed. Proc.* 36:1899-1902.
- Hussein, H. S., and J. M. Brasel. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology.* 167:101-134.
- Kubena, L. F., R. B. Harvey, S. A. Buckley, T. S. Edrington, and G. E. Rottinghaus. 1997. Individual and combined effects of moniliformin present in *Fusarium fujikuroi* culture material and aflatoxin in broiler chicks. *Poult. Sci.* 76:265-270.
- Lee, R. F., T. K. Glenn, and S. S. Lee. 2007. Complications of cirrhosis. *Best Pract. Res. Cl. Ga.* 21:125-140.
- Lovatto, P. A., C. R. Lehnen, I. Andretta, A. D. A. Carvalho, and L. Hauschild. 2007. Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias. *Rev. Bras. Zoot.* 36:285-294.
- Maciel R. M., S. T. A. Lopes, J. M. Santurio, D. B. Martins, A. P. Rosa, and M. P. Emanuelli. 2007. Função hepática e renal de frangos de corte alimentados com dietas com aflatoxinas e clinoptilolita natural. *Pesq. Agropec. Bras.* 42:1221-1225.

- Miazzo, R., M. F. Peralta, C. Magnoli, M. Salvano, S. Ferrero, S. M. Chiacchiera, E. C. Carvalho, C. A. Rosa, and A. Dalcero. 2005. Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. *Poult. Sci.* 84:1-8.
- Minitab 2007. Minitab Inc. Versão 15.1.
- Pitt, J. I. 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *Br. Med. Bull.* 56:184-192.
- Reed, D. J. 1990. Glutathione: toxicological implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30: 603-631.
- Safameher, A. 2008. Effects of clinoptilolite on performance, biochemical parameters and hepatic lesions in broiler chickens during aflatoxicosis. *J. Anim. Vet. Adv.* 7:381-388.
- Sauvant, D., P. Schmidely, and J. J. Daudin. 2005. Les méta-analyses des données expérimentales: Applications en nutrition animale. *INRA Prod. Anim.* 18:63-73.
- Sokolović, M., V. Garaj-Vrhovac, and B. Šimpraga. 2008. T-2 toxin: Incidence and toxicity in poultry. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 59:43-52.
- Verma, J., B. K. Swain, and T. S. Johri. 2002. Effect of various levels of aflatoxin and ochratoxin A and combinations thereof on protein and energy utilization in broilers. *J. Sci. Food Agric.* 82:1412-1417.

**Table 3.1** Performance, obtained through meta-analysis, for broilers challenged by mycotoxins (MYC), aflatoxins (AFLA), deoxynivalenol (DON), toxin T2 (T2), ochratoxins (OCHR), fumonisins (FMN) or zearalenone (ZEA)

Variables	MYC	AFLA	DON	T2	OCHR	FMN	ZEA
<b>Daily feed intake (g)</b>							
Control	84.01	87.58	95.04	64.43	68.03	67.07	88.36
Challenged	73.91	78.07	86.57	59.63	56.39	59.61	78.94
RSD <sup>1</sup>	19.02	17.12	11.53	7.34	16.82	11.84	10.53
P <sup>2</sup>	***	***	ns	***	*	ns	ns
<b>Adjusted daily feed intake (g/g BW<sup>0.75</sup>)</b>							
Control	96.30	95.62	102.00	97.06	94.56	96.06	98.93
Challenged	94.33	93.90	102.38	92.00	90.99	94.72	99.91
RSD	18.95	18.68	21.33	4.75	10.04	12.34	17.42
P	*	*	ns	*	*	ns	ns
<b>Daily weight gain (g)</b>							
Control	42.29	43.48	41.51	36.57	38.22	34.21	42.99
Challenged	36.45	38.49	39.53	33.52	30.55	31.16	37.82
RSD	7.05	6.58	7.59	6.07	4.97	8.93	7.76
P	***	***	**	***	**	ns	ns
<b>Adjusted daily weight gain (g/g BW<sup>0.75</sup>)</b>							
Control	60.79	60.02	56.57	71.16	60.66	69.22	51.82
Challenged	58.40	56.22	55.76	63.47	56.99	65.92	49.74
RSD	11.16	11.89	12.34	3.88	6.09	8.00	8.35
P	***	*	ns	***	ns	ns	ns
<b>Feed conversion ratio (g/g)</b>							
Control	1.73	1.75	1.91	1.59	1.71	1.60	2.07
Challenged	1.85	1.86	2.13	1.68	1.85	1.60	2.33
RSD	0.29	0.28	0.54	0.09	0.15	0.16	0.92
P	***	***	*	***	*	ns	ns
<b>Body weight (g)</b>							
Control	1,075	1,130	1,292	667	935	698	1,533
Challenged	923	1,034	1,215	635	733	619	1,556
RSD	61	60	99	10	51	19	10
P	***	***	*	***	*	ns	ns

<sup>1</sup> Residual standard deviation.

<sup>2</sup> Significance level values indicated by <sup>ns</sup>  $P > 0.05$ , \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Table 3.2** Equations, obtained through variance-covariance analysis, to estimate the daily weight gain or the reduction in weight gain in challenged broilers relative to the ingestion of crude protein or total methionine

Challenge	Unit	Intercept	Nutrient ingestion (g/day)		R <sup>2</sup>
			Protein	Methionine	
Control	g	9.36	2.08		0.94
Mycotoxins	g	7.42	2.05		0.91
Mycotoxins	%	-32.26	1.42		0.92
	%	-36.44		16.32	0.89
Aflatoxin	%	-18.14	0.23		0.85
	%	-24.92		7.27	0.87
Deoxynivalenol	%	-32.60	0.68		0.75
	%	-28.47		9.14	0.62

**Table 3.3** Equations, obtained through variance-covariance analysis, to estimate the reduction (%) in average daily weight gain in broilers challenged by aflatoxins, ochratoxins, deoxynivalenol or T2 toxin

Challenge	Intercept	Mycotoxin concentration (ppm)	Animal age (days)	R <sup>2</sup>
Aflatoxins	-5.92	-16.19	0.129	0.95
Ochratoxins	-34.71	-13.92	0.551	0.55
Deoxynivalenol	-38.90	-1.21	0.86	0.83
Toxin T2	-48.80	-4.66	1.32	0.55

**Table 3.4** Productivity indexes, obtained through meta-analysis, for broilers challenged by mycotoxins (MYC), aflatoxins (AFLA), deoxynivalenol (DON), toxin T2 (T2) or fumonisins (FMN)

Variables	MYC	AFLA	DON	T2	FMN
Mortality, %					
Control	4.49	3.12	0.83	2.03	1.05
Challenged	9.50	8.73	7.03	5.20	3.20
RSD <sup>1</sup>	5.35	5.32	5.65	0.96	0.62
P <sup>2</sup>	***	***	*	ns	ns
Productive efficiency index					
Control	261.4	269.1	214.3	216.3	175.0
Challenged	156.6	155.5	162.2	148.5	144.7
RSD	21.0	10.5	23.0	13.1	21.1
P	***	***	*	***	ns

<sup>1</sup> Residual standard deviation.

<sup>2</sup> Significance level indicated by <sup>ns</sup>  $P > 0.05$ , \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ .



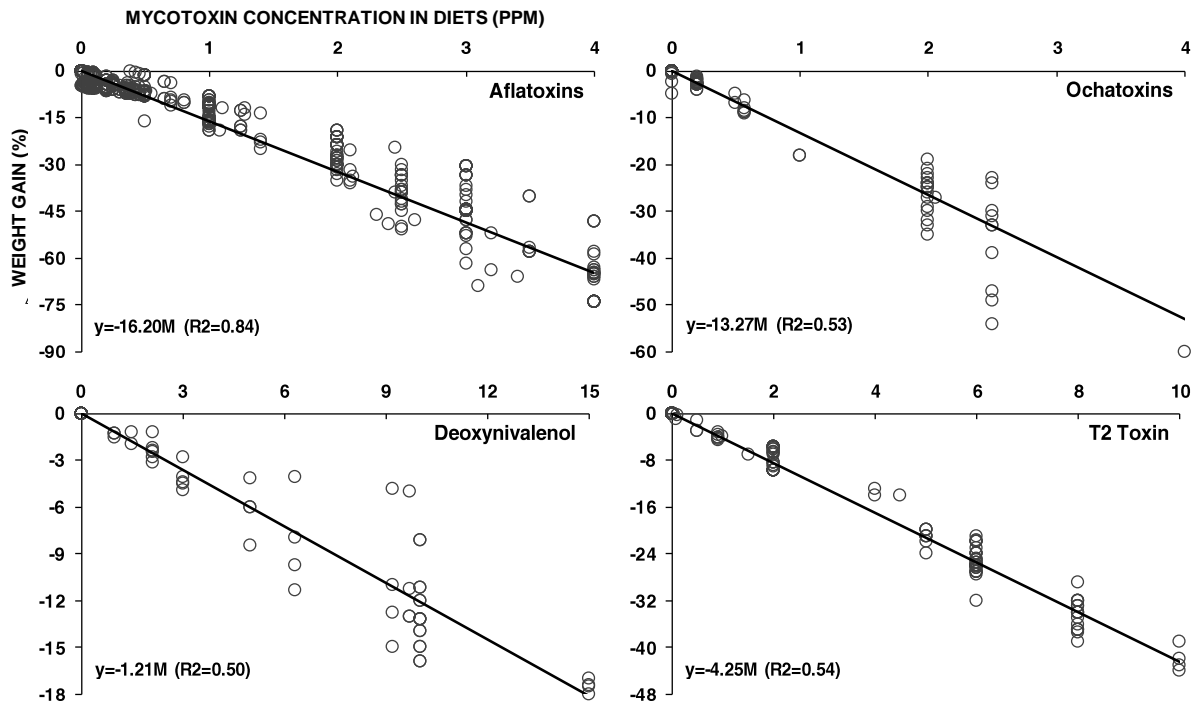
**Table 3.5** Relative weight of organs, obtained through meta-analysis, in broilers challenged by mycotoxins (MYC), aflatoxins (AFLA), deoxynivalenol (DON), toxin T2 (T2), ochratoxins (OCHR) or fumonisins (FMN)

Organ	MYC	AFLA	DON	T2	OCHR	FMN
<b>Liver (% BW)</b>						
Control	2.84	2.79	2.44	3.14	3.29	2.96
Challenged	3.27	3.41	2.59	2.97	3.58	3.29
RSD <sup>1</sup>	0.20	0.26	0.48	0.26	0.34	0.11
P <sup>2</sup>	**	***	*	ns	ns	*
<b>Kidneys (% BW)</b>						
Control	0.740	0.667	0.573	0.573	1.055	0.679
Challenged	0.820	0.910	0.618	0.622	1.039	0.756
RSD	0.060	0.087	0.038	0.035	0.084	0.074
P	***	***	ns	ns	ns	ns
<b>Lungs (% BW)</b>						
Control	0.118	0.121	0.120	0.117	0.123	0.085
Challenged	0.129	0.156	0.110	0.097	0.195	0.101
RSD	0.035	0.021	0.014	0.027	0.013	0.012
P	**	***	ns	ns	***	**
<b>Gizzard (% BW)</b>						
Control	2.22	2.15	2.30	2.35	2.03	2.31
Challenged	2.29	2.24	2.19	2.40	2.20	2.47
RSD	0.15	0.13	0.16	0.10	0.05	0.09
P	***	***	ns	***	***	*
<b>Heart (% BW)</b>						
Control	0.691	0.676	0.602	0.719	0.695	0.878
Challenged	0.705	0.745	0.611	0.699	0.750	0.897
RSD	0.037	0.057	0.019	0.020	0.018	0.031
P	ns	***	ns	ns	ns	ns
<b>Bursa (% BW)</b>						
Control	0.244	0.226	0.300	0.248	0.210	0.252
Challenged	0.236	0.229	0.315	0.265	0.205	0.240
RSD	0.052	0.052	0.049	0.020	0.016	0.054
P	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Pancreas (% BW)</b>						
Control	0.341	0.334	0.240	0.388	0.360	0.500
Challenged	0.349	0.329	0.213	0.407	0.450	0.545
RSD	0.041	0.041	0.021	0.026	0.070	0.026
P	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Proventricle (% BW)</b>						
Control	0.583	0.619	0.520	0.626	0.600	0.441
Challenged	1.364	0.762	0.679	0.599	0.740	0.506
RSD	0.030	0.076	0.074	0.058	0.027	0.019
P	*	***	ns	ns	ns	ns

<sup>1</sup> Residual standard deviation.

<sup>2</sup> Significance level indicated by <sup>ns</sup>  $P > 0.05$ , \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ .

**Figure 3.1** Reduction in average daily weight gain, obtained through variance-covariance analysis, in broilers challenged by aflatoxins, ochratoxins, deoxynivalenol or T2 toxin relative to mycotoxin concentration in diets



<sup>M</sup> Mycotoxin concentration in diets.

## **CAPITULO 4**

### **Discussão Geral**

Ao elaborar um trabalho de meta-análise sempre fica a impressão de que alguns aspectos científico-analíticos poderiam ter sido mais bem explorados e apresentados. No caso de nosso trabalho, isso não foi diferente. As bases de dados construídas usam a mesma temática, mas cobrem duas espécies. Isso permite um bom aprofundamento analítico. No entanto, como a dissertação é baseada em artigos científicos, optamos por apresentar dois, um sobre suínos e outro sobre aves, o que limitou a apresentação de alguns dados. Por essa razão optamos, nesta discussão geral, evitar a redundância com o que foi apresentado nos capítulos anteriores e colocar à luz do debate algumas informações inéditas.

Os trabalhos apresentados nesta dissertação foram desenvolvidos utilizando critérios e metodologias semelhantes para a seleção das publicações, construção da base de dados e análise. Uma das preocupações fundamentais no período inicial da pesquisa foi com o viés de publicação, destacado como um dos principais problemas na realização de uma meta-análise e considerado uma ameaça para a validade deste método (BORENSTEIN, 2009).

Por vezes, o viés é definido como a publicação ou não publicação de estudos, dependendo da direção e significância estatística dos resultados. No entanto, existem inúmeros mecanismos potenciais de supressão das informações que também são considerados viés, tais como: viés de linguagem (inclusão seletiva de estudos publicados em determinada língua, sobretudo inglês); viés de disponibilidade (inclusão seletiva de estudos que são facilmente acessíveis ao pesquisador); viés de custo (inclusão seletiva de estudos que estão disponíveis gratuitamente); viés de familiaridade (inclusão seletiva de estudos somente da área de atuação), e viés de desfecho (seleção de estudos em função da direção e

significância estatística dos resultados) (LEANDRO, 2005; ROTHSTEIN et al., 2005; BORENSTEIN, 2009).

Na construção das bases de dados, alguns critérios foram observados para atenuar os problemas de viés acima citados. A busca de trabalhos foi realizada em diversas bases digitais (utilizando Google Acadêmico, Scopus, Scielo, HighWire e PubMed) e com palavras-chave em diversos idiomas (inglês, português, espanhol, francês e italiano). Foram incluídos apenas dados de trabalhos publicados em revistas indexadas, considerando o aceite para publicação como critério subjetivo para sua qualidade metodológica. A inclusão apenas de trabalhos publicados se baseou também na evidência de que estes estudos geralmente apresentam efeito maior na análise que aqueles não publicados (SMITH, 1980).

Os resultados (positivos ou negativos) não foram tomados como critério para a inclusão dos artigos nas bases de dados. Entretanto, é reconhecido que alguns pesquisadores tendem a publicar apenas dados significativos ou positivos, em vista de uma possível influência da qualidade dos estudos sobre a direção e a força dos resultados da pesquisa (LOVATTO et al., 2007). Em áreas onde a meta-análise é mais desenvolvida, como as ciências da saúde, existem jornais com seções específicas para a publicação dos chamados “resultados negativos” (ROTHSTEIN et al., 2005). Nas demais áreas, como na produção animal, resta reconhecer o problema e trabalhar da melhor maneira a fim de reduzi-lo.

Uma das alternativas para melhor estudo dos efeitos está no uso de ponderações para tamanho de amostra, partindo do pressuposto de que a precisão na estimativa do efeito do tratamento aumenta com o tamanho da amostra dos estudos. Em ambos os trabalhos desta dissertação, o uso de ponderação para tamanho de amostra não influenciou o coeficiente de determinação nas principais análises. Melhores coeficientes de determinação foram obtidos com o uso das codificações para os efeitos geral, *inter* ou *intra*. Esta condição pode ser atribuída ao fato da ponderação para tamanho de amostra não atender outros fatores de heterogeneidade, como a sensibilidade individual aos efeitos das micotoxinas e a elevada variabilidade nos resultados práticos desta área de pesquisa.

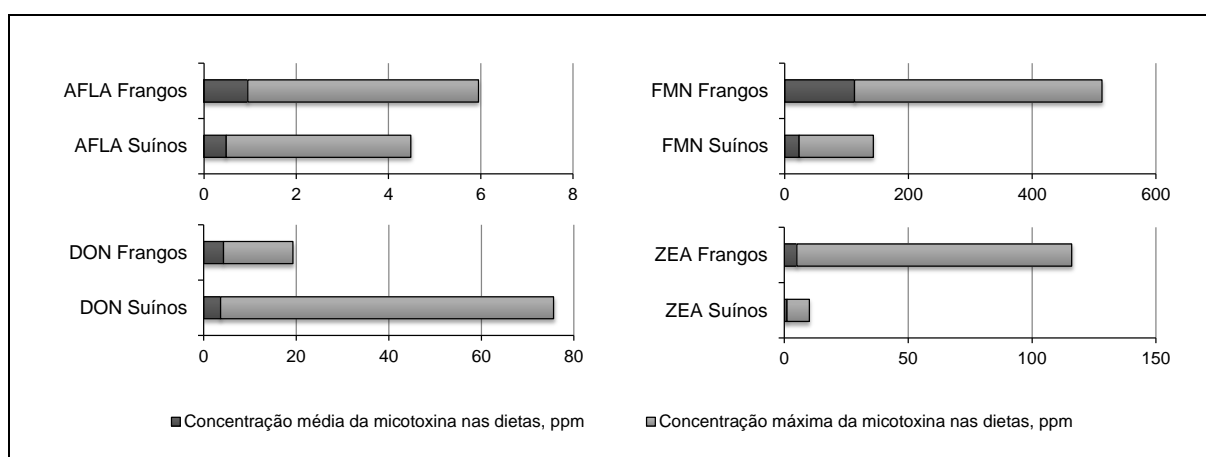
A descrição das bases de estudo foi apresentada nos capítulos anteriores, mas cabem algumas comparações quanto suas principais características. A base de

dados em suínos foi composta por 85 artigos e 13.196 animais, enquanto a de frangos de corte englobou 98 trabalhos e 37.731 aves. Ambas podem ser consideradas bases extensas, envolvendo um número de animais não viável para um único estudo convencional (com desafio *in vivo*).

Os trabalhos incluídos na base de suínos foram publicados a partir de 1968, enquanto que na base de aves, os trabalhos mais antigos datam de 1980. Pela distribuição temporal dos estudos, pode-se inferir que o interesse pela micotoxicologia foi anterior na suinocultura e, embora igualmente importante, posterior na avicultura.

A maioria dos experimentos incluídos nas bases foi realizada em instituições americanas (28%). Pesquisas realizadas em instituições brasileiras foram mais numerosas na base de frangos de corte. Embora em menor quantidade, elas apresentaram boa representatividade no conjunto de artigos, sendo 10% na base de suínos e 19% na base de aves.

A concentração média das micotoxinas nas dietas foi outra característica com variação nos trabalhos utilizados (Figura 4.1). As diferenças nas doses testadas em suínos ou aves, em especial no caso da zearalenona e das fumonisinas, refletem variação na sensibilidade de cada espécie aos efeitos tóxicos das substâncias.



**Figura 4.1 – Variação nas concentrações médias e máximas de aflatoxinas (AFLA), deoxivalenol (DON), fumonisinas (FMN) e zearalenona (ZEA) nas bases de dados**

As micotoxicoses são frequentes e importantes na suinocultura e na avicultura comercial, uma vez que ambas as espécies são consideradas muito sensíveis aos efeitos tóxicos destas substâncias. Quando presentes nas dietas, as micotoxinas podem interferir no consumo de alimento e no crescimento dos animais, prejudicando seu desempenho produtivo (D'MELLO & MACDONALD, 1997; DERSJANT-LI et al., 2003; DAGHIR, 2008).

Os resultados observados nas meta-análises apontam para a influência das micotoxinas sobre o desempenho dos animais, porém, com variação em função de diversos fatores. O consumo de ração dos suínos apresentou correlação negativa com a dose de aflatoxinas e de deoxinivalenol. No caso das aves, a concentração de micotoxinas nas dietas apresentou correlação negativa com o consumo diário de ração, com o ganho diário de peso e com o peso vivo final dos animais. Apesar de significativas, as correlações observadas entre as variáveis de desempenho e as concentrações de micotoxinas nas dietas foram baixas. Esta relação pode indicar que outros fatores, além da dose de micotoxinas, interferem no desempenho dos animais.

A presença de micotoxinas nas dietas reduziu em 18% o consumo de ração nos suínos e em 12% nos frangos de corte. As ocratoxinas (-17%) e as aflatoxinas (-11%) foram as micotoxinas com maior impacto sobre o consumo de ração nos frangos de corte. Nos suínos, as micotoxinas de maior impacto sobre esta variável foram o deoxinivalenol (-18%) e as aflatoxinas (-11%).

A redução observada no consumo de ração pode ser atribuída aos mecanismos de ação específicos de cada toxina. Um exemplo são as lesões orais frequentes nas intoxicações por tricotecenos (BRAKE et al., 2000). Estas lesões podem reduzir o consumo voluntário de ração por meio de sensação de desconforto no momento da apreensão e ingestão do alimento.

As toxinas alimentares estão entre as substâncias que podem atuar como fatores limitantes na seleção das dietas, uma vez que os animais relacionam seu consumo com consequências metabólicas de desconforto (FORBES, 2007). Em dietas naturalmente contaminadas, o menor consumo de ração também pode ser devido às alterações organolépticas provocadas pelos fungos contaminantes (AKANDE et al., 2006). Entretanto, cada micotoxina apresenta um meio diverso pelo

qual pode reduzir o consumo de alimento e, em alguns casos, este mecanismo não é totalmente conhecido.

De modo geral, o efeito das micotoxinas sobre a conversão alimentar e o ganho de peso foi maior nos suínos em relação aos frangos de corte. Suínos desafiados por micotoxinas apresentaram conversão alimentar 14% pior em relação aos demais. Nos frangos de corte, a piora observada na variável foi de 7%. O ganho de peso foi 21% inferior nos suínos e 14% inferior nas aves desafiadas em relação aos respectivos grupos controle. Algumas micotoxinas, no entanto, não influenciaram o ganho de peso dos animais. Zearalenona e fumonisinas não interferiram no crescimento das aves. Os suínos não foram influenciados em seu ganho de peso pela zearalenona.

O decréscimo na síntese proteica é o principal mecanismo pelo qual as micotoxinas reduzem o ganho de peso dos animais. Essa interferência é observada principalmente em intoxicações por aflatoxinas e tricotecenos (LINDEMANN et al., 1993; VAN DE WALLE et al., 2010). A perturbação direta nas funções de alguns órgãos, em especial do fígado, e a partição de nutrientes para atividades alheias ao desenvolvimento corporal também aumentam as exigências para proteína e energia dos animais desafiados (HAMILTON, 1977). Animais alimentados com dietas contendo aflatoxinas podem apresentar decréscimo na síntese de algumas enzimas digestivas (SWAMY et al., 2002), danos na mucosa (TEJADA-CASTANEDA et al., 2008) e redução no coeficiente de metabolização da energia e na retenção relativa de nitrogênio (HAUSCHILD et al., 2006). Por isso, a explicação para a perturbação no crescimento dos animais desafiados está na associação da redução no consumo de ração com as alterações na eficiência de absorção e deposição de nutrientes. Em nosso estudo, foi possível observar que a maior parte da variação no ganho de peso foi explicada pela variação no consumo de alimento. Assim, o aumento da densidade nutricional das dietas poderia ser estudado como prática para amenizar os efeitos das micotoxinas sobre o crescimento dos animais.

Além do desempenho dos animais em intoxicações com micotoxinas isoladas, as meta-análises permitiram estudar alguns efeitos das micotoxinas quando em associações. Este estudo é importante, uma vez que as interações entre as micotoxinas são complexas e podem implicar em efeitos diferentes dos observados

em contaminações isoladas ou em resultados aditivos, com a associação dos efeitos tóxicos individuais (SMITH & SEDDON, 1998; SPEIJERS & SPEIJERS, 2004). Os níveis seguros para uma determinada substância também podem ser alterados pela interação com outras micotoxinas (HUFF et al., 1988).

Os resultados do estudo com micotoxinas combinadas não foram apresentados nos capítulos anteriores, por isso, eles serão expostos e discutidos nesta unidade. O consumo diário de ração dos suínos foi reduzido ( $P < 0,05$ ) em 14% pelas formas isoladas de contaminação e em 42% por associações de micotoxinas (Tabela 4.1). As médias de consumo de ração ajustadas para o peso metabólico dos animais ou para peso vivo (por covariância) também foram menores ( $P < 0,05$ ) nos grupos alimentados com dietas contendo micotoxinas em associação.

**Tabela 4.1 – Desempenho, obtido por meta-análise, de suínos alimentados com dietas controle (C), contendo micotoxinas isoladas (MI) ou em associação (MA)**

	Tratamentos			P	DPR
	C	MI	MA		
<b>Desempenho</b>					
Consumo diário de ração (CR), kg	1,48 <sup>a</sup>	1,27 <sup>b</sup>	0,86 <sup>c</sup>	***	0,07
CR por peso metabólico, g/kg PM	195 <sup>a</sup>	179 <sup>b</sup>	118 <sup>c</sup>	***	14
CR ajustado <sup>1</sup> , kg	1,32 <sup>a</sup>	1,19 <sup>b</sup>	1,14 <sup>c</sup>	**	0,04
Ganho diário de peso (GP), kg	0,64 <sup>a</sup>	0,53 <sup>b</sup>	0,35 <sup>c</sup>	***	0,05
GP por peso metabólico, g/kg PM	87,2 <sup>a</sup>	75,7 <sup>b</sup>	55,2 <sup>c</sup>	***	8,4
GP ajustado <sup>1</sup> , kg	0,58 <sup>a</sup>	0,50 <sup>b</sup>	0,45 <sup>c</sup>	*	0,03
Conversão alimentar (CA)	2,32 <sup>a</sup>	2,66 <sup>b</sup>	2,75 <sup>b</sup>	*	0,08
CA ajustada <sup>1</sup>	2,18 <sup>a</sup>	2,49 <sup>b</sup>	2,42 <sup>b</sup>	**	0,12
<b>Órgãos</b>					
Coração, %PV	0,44	0,43	0,52	ns	0,04
Fígado, %PV	3,15 <sup>a</sup>	3,21 <sup>b</sup>	3,29 <sup>b</sup>	*	0,17
Rins, %PV	0,62	0,64	0,63	ns	0,08
Pulmões, %PV	1,19 <sup>a</sup>	1,25 <sup>b</sup>	1,27 <sup>b</sup>	**	0,21

<sup>P</sup> Probabilidade: \*, \*\* ou \*\*\* (significativo a 5, 1 ou 0,1% de probabilidade pelo Teste F).

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes na mesma linha diferem pelo Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

<sup>DPR</sup> Desvio padrão residual.

<sup>PM</sup> Peso metabólico (Peso vivo<sup>0,6</sup>).

<sup>1</sup> Variáveis ajustadas por covariância para peso vivo.



O ganho médio diário foi 17% menor ( $P < 0,05$ ) nos suínos desafiados por micotoxinas isoladas e 45% menor ( $P < 0,05$ ) nos desafiados por associação de micotoxinas. Relação semelhante foi observada após ajuste da variável para peso vivo ou metabólico. O ganho de peso ajustado para peso vivo foi 22% menor ( $P < 0,05$ ) nos animais desafiados por micotoxinas associadas em relação aos desafiados por substâncias isoladas. Porém, a forma de apresentação das micotoxinas (se isoladas ou em associação) não influenciou ( $P > 0,05$ ) na conversão alimentar e nos pesos relativos dos órgãos estudados.

Cada 1 ppm de micotoxinas nas dietas reduziu em 2,33 g o consumo diário dos suínos nas contaminações isoladas ( $Y = 1355 - 2,33M$ ;  $R^2 = 0,67$ ; sendo M a dose de micotoxinas nas dietas, em ppm) e em 5,87 g nas contaminações por micotoxinas associadas ( $Y = 1384 - 5,87M$ ;  $R^2 = 0,77$ ). Da mesma forma, o aumento em 1 ppm na concentração de micotoxinas nas dietas representou redução de 1,75 g no ganho diário de peso nas contaminações isoladas ( $Y = 570 - 1,75M$ ;  $R^2 = 0,68$ ) e de 3,72 g nas contaminações por associação de substâncias ( $Y = 605 - 3,72M$ ;  $R^2 = 0,79$ ). Comparações com doses de micotoxinas específicas não foram possíveis pela diversidade de combinações testadas nos trabalhos da base. As equações obtidas, embora não considerem a variação nas diferentes substâncias, podem quantificar o aumento no efeito das micotoxinas quando em associação, inferindo efeito aditivo nestas condições.

A base de dados em frangos de corte não permitiu análise estatística dos dados quanto a forma de apresentação das micotoxinas (se isoladas ou em associação). Entretanto, os poucos trabalhos obtidos testando esse tipo de efeito apontam para um comportamento semelhante ao observado nos suínos. A associação de ocratoxinas e toxina T2, por exemplo, reduziu em 14% o consumo diário de ração e em 45% o peso vivo final das aves em relação aos grupos submetidos à contaminação pelas mesmas micotoxinas em suas formas isoladas (GARCIA et al., 2003). As ocratoxinas aumentaram em 27% a conversão alimentar quando associadas com ácido ciclopiazônico (GENTLES et al., 1999) e em 17% quando associada com aflatoxinas (SAKHARE et al., 2007) em relação aos tratamentos contaminados com apenas uma dessas micotoxinas. Efeitos aditivos das micotoxinas sobre a redução no ganho de peso das aves também foram

observados nos trabalhos de Kubena et al. (1997a, 1997b), Verma et al. (2002) e Miazzo et al. (2005).

Assim como a interação entre as substâncias, outros fatores podem interferir na magnitude com que micotoxinas atuam sobre a produtividade dos animais. A concentração de micotoxinas nas dietas foi uma das variáveis mais explicativas para estimar a redução no ganho de peso dos animais desafiados. A inclusão da idade como covariável nas equações para estimar a redução no ganho de peso dos animais alimentados com micotoxinas também melhorou a precisão dos modelos para todas as micotoxinas estudadas (em média 27 pontos percentuais no estudo com suínos e 20 pontos percentuais no estudo com aves). Embora estas equações sejam empíricas, a inclusão da idade como covariável as torna dinâmicas, possibilitando sua aplicação em modelos matemáticos. Estes resultados são importantes, pois a falta de informações torna diversos modelos deficientes por não simularem o crescimento dos animais considerando o efeito de desafios sanitários, como das micotoxinas.

Outra observação importante nas equações foi que o efeito das micotoxinas sobre o ganho de peso dos animais não é constante em todas as fases de crescimento, sendo maior nos suínos e nas aves jovens. É provável que a sensibilidade observada nos animais jovens esteja associada com menor capacidade ou quantidade de enzimas hepáticas para ativação e desintoxicação. Estudos em ratos sugerem que animais jovens são deficientes em fatores envolvidos na biotransformação hepática da aflatoxina B1 (KLEIN et al., 2002). Além disso, a quantidade de conjugado aflatoxina - glutathione transferase é superior em animais adultos, sugerindo maior capacidade de detoxificação nesta categoria (BEHROOZIKHA et al., 1992). Assim, o fígado de animais jovens pode ser considerado menos eficiente no metabolismo de eliminação das micotoxinas, o que determina um aumento da resistência na maturidade fisiológica.

Nos suínos, o efeito das micotoxinas sobre o desempenho foi maior nos machos em relação às fêmeas. A influência do sexo sobre a sensibilidade às micotoxinas já foi relatada em outras espécies, como os frangos de corte (BRYDEN et al., 1980) e também nos suínos, com relação aos parâmetros clínicos e imunológicos (MARIN et al., 2006). Alguns autores sugerem que a maior

susceptibilidade dos machos estaria relacionada com diferenças no metabolismo hepático das micotoxinas (CASTEGNARO et al., 1998). Entretanto, esta hipótese precisa ser confirmada. Nas aves, o estudo da influencia do sexo sobre o desempenho dos animais desafiados não foi possível por características específicas da base de dados.

As observações acerca das interações nutricionais sugerem que o ajuste do conteúdo nutricional das dietas para suínos e aves desafiados por micotoxinas pode influenciar seu desempenho. As principais observações relacionaram a ingestão de metionina com o desempenho dos animais desafiados por aflatoxinas. A metionina é um aminoácido com importante função hepato-protetora, pois apresenta propriedades antioxidantes e antitóxicas. A relação dos níveis de metionina com o desempenho dos animais desafiados pode envolver um sistema endógeno que minimiza o efeito de produtos tóxicos através da glutathione (REED, 1990). Esta rota de desintoxicação auxilia na eliminação da forma ativada por epoxidação da aflatoxina B1. O intermediário é altamente reativo e pode ligar-se com sítios nucleofílicos de macromoléculas; como DNA, RNA e proteínas (LIN et al., 2006). Estas ligações representam a lesão bioquímica primária das aflatoxinas e determinam redução na síntese proteica e, conseqüentemente, no crescimento dos animais. Porém, a aflatoxina-epóxido também pode ser conjugada com glutathione reduzida, constituindo uma via importante de detoxificação (FATEMI et al., 2006).

O nível de glutathione nas células é dependente da disponibilidade de cisteína, um aminoácido parcialmente formado por metionina. Assim, o acréscimo na ingestão de metionina pode aumentar a glutathione hepática (SELIGSON & ROTRUCK, 1983), conseqüentemente, a excreção de metabólitos e a desintoxicação (COFFEY et al., 1989). Todavia, as práticas nutricionais ainda são pouco estudadas como métodos capazes de reduzir o efeito das micotoxinas e mais trabalhos nesta área são necessários para confirmar o efeito protetor e definir níveis de suplementação.

Por características da base de dados, a mortalidade e o índice de eficiência produtiva foram estudados apenas em frangos de corte. O aumento observado nas taxas de mortalidade de lotes que recebiam dietas contaminadas pode ser considerado um efeito direto das micotoxinas, mas é provável que a ação imunossupressora destas substâncias possa aumentar a incidência de infecções

secundárias e ser relevante na condição observada (BOUHET & OSWALD, 2005). A ação das micotoxinas sobre órgãos alvo também pode contribuir para as taxas de mortalidade. Danos hepáticos, por exemplo, reduzem as atividades de desintoxicação, colaborando para o agravamento dos quadros clínicos observados.

O peso dos órgãos foi estudado em suínos e frangos de corte. Das micotoxinas, as aflatoxinas apresentaram os efeitos mais pronunciados sobre o peso relativo dos órgãos. Além disso, o fígado foi o principal órgão alvo para a maioria das micotoxinas. Alterações nas funções hepáticas são observadas em animais alimentados com dietas contendo aflatoxinas (MACIEL et al., 2007) e o aumento no peso deste órgão podem ser atribuídas à degeneração gordurosa (SAFAMEHER, 2008). Além disso, algumas alterações na circulação sanguínea no fígado podem causar hipertrofia cardíaca (LEE et al., 2007). O funcionamento intenso ou as propriedades irritativas de algumas micotoxinas também podem ser fatores influentes sobre o peso de órgãos específicos (HOERR et al., 1982).

Alguns parâmetros sanguíneos foram estudados na base de frangos de corte. Como estes resultados não foram incluídos nos trabalhos apresentados nos capítulos anteriores, os mesmos serão apresentados e discutidos nesta unidade. A Tabela 4.2 apresenta as variáveis de hemograma nos frangos de corte desafiados por micotoxinas ou por aflatoxinas.

A globulina corpuscular média e as concentrações de eritrócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos e de trombócitos não foram influenciadas ( $P > 0,05$ ) pela presença de micotoxinas ou de aflatoxinas nas dietas. Porém, as micotoxinas reduziram ( $P < 0,05$ ) em 5% a concentração sanguínea de hematócritos e em 15% de hemoglobina. Da mesma forma, a concentração de hematócritos e de hemoglobina foi reduzida ( $P < 0,05$ ) pelas aflatoxinas em 6 e 20%, respectivamente. Frangos de corte desafiados por micotoxinas apresentaram concentrações sanguíneas inferiores ( $P < 0,05$ ) de leucócitos (-25%), heterofilos (-2%) e linfócitos (-2%). A presença de aflatoxinas nas dietas também reduziu ( $P < 0,05$ ) as concentrações de leucócitos (-10%), heterofilos (-2%) e linfócitos (-4%). Estes dados corroboram na caracterização de algumas micotoxinas, em especial das aflatoxinas, como substâncias com efeitos sobre a hematopoiese e a resposta imune (OGUZ et al., 2003). No caso das

aflatoxinas, a produção de diversas células pode ser afetada por alterações na formação de substâncias humorais, como as citocinas (CORRIER, 1991).

**Tabela 4.2 – Hemograma, obtido por meta-análise, de frangos de corte alimentados com dietas controle (C) ou com micotoxinas (M)**

	Micotoxinas				Aflatoxinas			
	C	M	P	DPR	C	M	P	DPR
<b>Série vermelha</b>								
Eritrócitos, $\mu\text{m mm}^{-3}$	2,36	2,54	ns	0,30	2,33	2,44	ns	0,32
Hematócritos, %	31,0	29,4	**	2,4	33,2	31,1	***	2,5
Hemoglobina, $\text{g dL}^{-1}$	9,86	8,40	**	0,70	9,26	7,38	***	0,63
HCM, pg	28,5	24,6	ns	3,3	26,0	25,2	ns	3,7
<b>Série branca</b>								
Leucócitos, $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$	24,8	18,6	*	1,2	24,1	21,8	*	3,7
Heterofilos, %	34,6	33,9	*	6,2	37,4	36,5	*	6,3
Linfócitos, %	53,1	52,0	*	5,6	56,3	54,3	*	5,7
Monócitos, %	3,50	4,10	ns	0,07	3,76	4,54	ns	0,10
Eosinófilos, %	1,52	2,01	ns	0,77	1,65	2,42	ns	0,80
Basófilos, %	2,41	3,46	ns	0,08	2,69	3,99	ns	0,10
Trombócitos, $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$	23,5	26,3	ns	2,8	29,3	25,3	ns	2,6

<sup>DPR</sup> Desvio padrão residual.

<sup>P</sup> Probabilidade: ns (não-significativo); \*, \*\* e \*\*\* (significativo a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F).

Os parâmetros bioquímicos nos frangos de corte desafiados por micotoxinas ou por aflatoxinas são apresentados na Tabela 4.3. Os resultados sugerem que algumas enzimas plasmáticas podem ser utilizadas para o diagnóstico das micotoxicoses. Como são índices mais sensíveis em relação às variáveis de desempenho, sua determinação poderia indicar o quadro de intoxicação com antecedência aos demais sintomas (OGUZ et al., 2000).

A concentração de fosfatase alcalina foi 54% superior ( $P < 0,05$ ) nos animais desafiados por micotoxinas e 47% superior nos alimentados com dietas contendo aflatoxinas. A concentração sérica de alanina aminotransferase foi 12% superior ( $P < 0,05$ ) nos animais desafiados por micotoxinas e 17% superior naqueles desafiados por aflatoxinas. A concentração de aspartato aminotransferase foi 16%

superior ( $P < 0,05$ ) nos animais desafiados por micotoxinas e 14% superior nas aves desafiadas por aflatoxinas.

**Tabela 4.3 – Parâmetros bioquímicos, obtidos por meta-análise, de frangos de corte alimentados com dietas controle (C) ou com micotoxinas (M)**

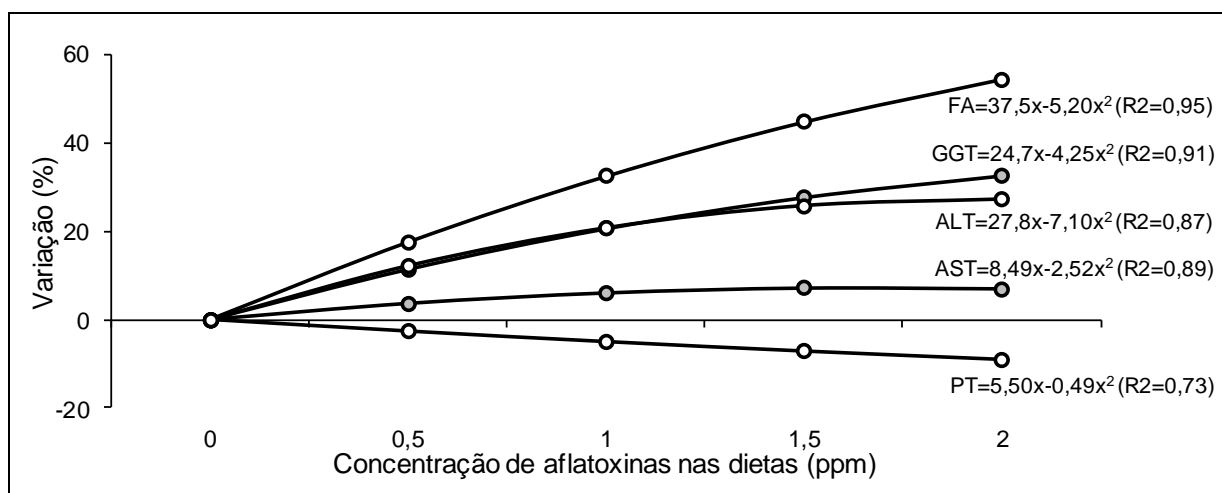
	Micotoxinas				Aflatoxinas			
	C	M	P	DPR	C	M	P	DPR
<b>Função hepática</b>								
FA, U L <sup>-1</sup>	12,0	18,5	***	2,4	13,6	20,0	***	2,7
ALT, U L <sup>-1</sup>	7,38	8,24	**	2,02	6,19	7,23	**	2,06
AST, U L <sup>-1</sup>	284	329	*	25	284	324	*	26
GGT, U L <sup>-1</sup>	16,4	17,4	ns	3,5	17,3	19,0	*	1,2
LDH, U L <sup>-1</sup>	397	456	ns	15	411	414	ns	19
<b>Função renal</b>								
Ácido Úrico, mg dL <sup>-1</sup>	7,39	5,08	**	0,97	7,17	5,77	*	0,88
Ureia, mg dL <sup>-1</sup>	3,83	3,94	ns	0,28	3,95	4,05	ns	0,28
Creatinina, mg dL <sup>-1</sup>	0,82	0,63	*	0,08	0,77	0,67	*	0,06
<b>Gerais</b>								
Glicose, mg dL <sup>-1</sup>	251	212	ns	19	239	210	*	20
Creatinoquinase, U L <sup>-1</sup>	1867	1364	*	48	2003	1870	**	98
Triglicerídeos, mg dL <sup>-1</sup>	98,9	60,5	*	8,8	81,2	60,9	***	11,1
Albumina, g dL <sup>-1</sup>	1,33	1,11	**	0,1	1,34	1,07	***	0,2
Globulina, g dL <sup>-1</sup>	1,90	1,88	*	0,93	2,15	2,03	*	0,69
Proteínas totais, g dL <sup>-1</sup>	3,09	2,60	***	0,51	3,12	2,55	**	0,20
Colesterol total, mg dL <sup>-1</sup>	141	121	*	17	139	106	***	20
Cálcio plasmático, mg dL <sup>-1</sup>	8,36	7,91	***	0,91	9,01	8,16	***	0,88
Fósforo plasmático, mg dL <sup>-1</sup>	5,97	5,24	**	0,25	6,25	5,49	**	0,24

<sup>DPR</sup> Desvio padrão residual.

<sup>P</sup> Probabilidade: ns (não-significativo); \*, \*\* e \*\*\* (significativo a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F).

A concentração de  $\gamma$ -glutamyl transferase não foi influenciada ( $P > 0,05$ ) pela presença de micotoxinas nas dietas. Porém, a variável foi 10% superior ( $P < 0,05$ ) nos animais desafiados por aflatoxinas, condição que indica colestase biliar e hiperplasia de ductos (BORSA et al., 1998). A presença de micotoxinas ou de aflatoxinas nas dietas não alterou ( $P > 0,05$ ) a concentração plasmática de lactato desidrogenase em frangos de corte.

Cada 1 ppm de aflatoxinas nas dietas aumentou em 37,5% o conteúdo sanguíneo de fosfatase alcalina, em 24,7% de  $\gamma$ -glutamil transferase, em 27,8% de alanina aminotransferase e em 8,49% de aspartato aminotransferase (Figura 4.2). O aumento nas concentrações séricas de alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina e  $\gamma$ -glutamil transferase são reconhecidos como indícios de lesão na integridade da membrana de células hepáticas.



**Figura 4.2 – Variação percentual nas concentrações séricas de enzimas e de proteínas totais em função da concentração de aflatoxinas nas dietas para frangos de corte**

As micotoxinas reduziram ( $P < 0,05$ ) as concentrações de ácido úrico (-31%), de creatinoquinase (-27%) e de creatinina (-23%). As mesmas variáveis foram influenciadas ( $P < 0,05$ ) pela presença de aflatoxinas nas dietas, sendo 20% inferiores para ácido úrico, 7% inferiores para creatinoquinase e 13% inferiores para creatinina nos animais desafiados em relação ao controle. A concentração de ureia não foi influenciada ( $P > 0,05$ ) pela presença de micotoxinas ou de aflatoxinas nas dietas.

O comportamento da creatinoquinase em animais desafiados não é constante. O aumento nos níveis séricos desta substância pode refletir danos celulares com extravasamento do conteúdo para o sangue (KUBENA et al., 1997b). A relação não foi observada em nosso trabalho e a condição se deve, provavelmente, a redução na síntese proteica. Toxicidade renal pode ser indicada

pela redução nos níveis de creatinina, como descrito em trabalhos anteriores (GLAHN et al., 1991; HARVEY et al., 1993). Já o decréscimo observado nos níveis de ácido úrico pode ser explicado por alterações na eficiência de utilização dos aminoácidos, em sistemas enzimáticos, na filtração renal, nas taxas de reabsorção ou por fatores ainda não conhecidos (SWAMY et al., 2002). Entretanto, em diversos trabalhos da base de dados o nível de ácido úrico apareceu aumentado, provavelmente como evidência de injúrias nos hepatócitos, onde a substância é produzida (GLAHN, 1993).

A concentração de glicose não foi influenciada ( $P>0,05$ ) pela presença de micotoxinas nas dietas. Entretanto, as aflatoxinas reduziram ( $P<0,05$ ) em 12% a concentração plasmática de glicose nos frangos de corte. Animais desafiados por micotoxinas apresentaram níveis plasmáticos inferiores ( $P<0,05$ ) para triglicerídeos em 39%, albumina em 17%, globulina em 1% e colesterol total em 14%. As aflatoxinas reduziram ( $P<0,05$ ) em 25% a concentração de triglicerídeos, em 20% de albumina, em 6% de globulina e em 24% o colesterol total.

A interferência sobre os níveis plasmáticos de albumina pode ser devido a danos em células hepáticas e ao comprometimento nas funções de síntese proteica nos animais desafiados (TUNG et al., 1975; FAIXOVÁ et al., 2007). O transporte e o perfil plasmático de lipídeos também podem ser influenciados pelas lesões hepáticas provocadas pelas micotoxinas, em especial pelas aflatoxinas. A redução na concentração sérica de colesterol causada pelas aflatoxinas pode ser relacionada com inibição na biossíntese do composto, com danos hepáticos e com mudança da concentração do colesterol circulante para o fígado (KUBENA et al., 1993).

Micotoxinas e aflatoxinas reduziram ( $P<0,05$ ) em 5 e 9% a concentração de cálcio no sangue. O fósforo inorgânico plasmático foi 12% inferior ( $P<0,05$ ) nos grupos desafiados por micotoxinas e aflatoxinas. As alterações nas concentrações sanguíneas de cálcio e fósforo nas condições de intoxicação podem refletir a redução no consumo de alimento pelos animais e também um possível prejuízo na capacidade de absorção destes nutrientes no trato gastrointestinal (KUBENA et al., 1989). A hipocalcemia também pode ser associada com deficiência secundária de vitamina D (SERGEEV et al., 1990), enquanto que a redução no nível de fósforo plasmático pode ser associada com disfunção renal (MANNING & WYATT, 1984).



A concentração sanguínea de proteínas totais foi 14% inferior ( $P < 0,05$ ) nos animais desafiados por micotoxinas e 18% inferior nos desafiados por aflatoxinas. Cada 1 ppm de aflatoxinas nas dietas representou 5,5% de redução no conteúdo sanguíneo de proteína total (Figura 4.1). Além da concentração de aflatoxinas nas dietas, o período de fornecimento das rações contaminadas também influenciou a concentração de proteínas totais nos frangos de corte. Cada dia de fornecimento representou 0,012% de redução no conteúdo de proteínas séricas nos animais desafiados ( $y = 3,95 - 0,105A + 0,007A^2 - 0,012D + 0,003D^2$ ;  $R^2 = 0,75$ ; onde A= dose de aflatoxinas nas dietas, em ppm e D= período de fornecimento de dietas contaminadas, em dias). Estas alterações são provavelmente associadas com o comprometimento de funções como o transporte de aminoácidos e a síntese proteica, comuns nas aflatoxicoses.

A inclusão de aditivos anti-micotoxinas em dietas contaminadas com aflatoxinas reduziu ( $P < 0,05$ ) em 12% a concentração plasmática de fosfatase alcalina, em 8,2% de alanino aminotransferase, em 2,8% a concentração de aspartato aminotransferase e em 17% de  $\gamma$ -glutamil transferase em relação aos animais desafiados e não tratados (Tabela 4.4).

**Tabela 4.4 – Variação nos parâmetros bioquímicos de frangos de corte desafiados por aflatoxinas em função do fornecimento de aditivos anti-micotoxinas nas dietas**

Variáveis	%	P	Variáveis	%	P
FA, U L <sup>-1</sup>	12,0	***	Ácido Úrico, mg dL <sup>-1</sup>	7,6	*
ALT, U L <sup>-1</sup>	8,24	**	Creatinoquinase, U L <sup>-1</sup>	5,9	ns
AST, U L <sup>-1</sup>	2,84	**	Ureia nitrogênio, mg dL <sup>-1</sup>	2,4	ns
GGT, U L <sup>-1</sup>	17,4	*	Creatinina, mg dL <sup>-1</sup>	+9,3	*

<sup>DPR</sup> Desvio padrão residual. <sup>P</sup> Probabilidade: ns (não-significativo); \*, \*\* e \*\*\* (significativo a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F).

A inclusão de aditivos anti-micotoxinas nas dietas aumentou ( $P < 0,05$ ) em 7,6% a concentração de ácido úrico e em 9,3% a concentração de creatinina plasmática nos frangos de corte desafiados e tratados em relação aos animais desafiados e não tratados. Os níveis de creatinoquinase e de ureia não diferiram

( $P > 0,05$ ) nos grupos desafiados em função do fornecimento de aditivo anti-micotoxinas. O mecanismo básico de proteção oferecido pelos aditivos testados envolve o sequestro das micotoxinas no trato digestório por meio de adsorção (PHILLIPS et al., 1995).

A meta-análise realizada neste trabalho permitiu abordar e quantificar, de forma sistemática, a associação das micotoxinas com as alterações produtivas nos suínos e nos frangos de corte. Além de auxiliar na compreensão dos efeitos das micotoxinas, a abordagem pode colaborar na determinação de padrões dinâmicos para o crescimento dos animais desafiados. Alterações em variáveis de bioquímica sérica foram identificadas em frangos de corte desafiados por micotoxinas. Entretanto, parte das respostas dos animais em situações de desafio por micotoxinas podem variar com diversos fatores. Algumas características relacionadas com a contaminação (como o tipo e a concentração de micotoxinas nas dietas) ou com o animal (como idade, sexo e espécie) podem influenciar no perfil toxicológico observado. O trabalho permitiu uma abordagem sistêmica e evidenciou áreas que carecem de mais estudo.

## **CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

A meta-análise realizada neste estudo permitiu abordar o tema de forma sistemática e quantificar a associação das micotoxinas com alterações produtivas em suínos e frangos de corte.

As micotoxinas influenciam o desempenho, os índices produtivos e o peso dos órgãos em suínos e frangos de corte. No entanto, a magnitude desses efeitos varia com o tipo e a concentração de micotoxinas, o sexo e a idade do animal, e com fatores nutricionais.

Os resultados obtidos apontam para a possibilidade de explorar a relação das micotoxinas com os diversos fatores estudados, como forma de reduzir os efeitos adversos das micotoxinas em variáveis produtivas de suínos e aves. As informações geradas também poderão ser de grande valia para a integração dos efeitos das micotoxinas em modelos de crescimento de suínos e frangos de corte.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-WAHHAB, M. A.; KHOLIF, A. M. Mycotoxins in animal feeds and prevention strategies: A review. **Asian Journal of Animal Sciences**, v. 2, p. 7-25, 2008.

ABID-ESSEFI, S. et al. Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultures cells exposed to zearalenone. **Toxicology in Vitro**, v. 18, p. 467-474, 2004.

AKANDE, K. E. et al. Nutritional and health implications of mycotoxins in animal feeds: A review. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 5, p. 398-403, 2006.

ALLEN, M. **Interpersonal communication research: Advances through meta-analysis**. Mahwah: Lawrence Erlbaum, 2002. 480p.

ANDRETTA, I. et al. Alimentação de leitoas pré-púberes com dietas contendo zearalenona. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 1227-1233, 2008.

ANDRETTA, I. et al. Alimentação de leitoas pré-púberes com dietas contendo aflatoxinas ou zearalenona. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, p. 123-130, 2010.

BAUER, J. et al. Changes in the genital tract of female swine after feeding with practice-relevant amounts of zearalenone. **Tierarztl Prax**, v. 15, n. 1, p. 33-36, 1987.

BEHROOZIKHA, M.; SAIDEE, M.; ALLAMEH, A. Comparison of aflatoxin-B1-DNA binding and glutathione conjugate formation by liver preparations from rats of different ages. **Cancer Letters**, v. 66, n. 1, p. 69-76, 1992.

BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 3, p. 497-516, 2003.

BHAT, R.; RAI, R. V.; KARIM, A. A. Mycotoxins in food and feed: Present status and future concerns. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 1, p. 57-81, 2010.

BHATTACHARYA, K.; RAHA, S. Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage. **Mycopathologia**, v. 155, n. 3, p. 135-141, 2002.

BORENSTEIN, M. **Introduction to meta-analysis**. West Sussex: Wiley, 2009. 450p.

BORSA, A. et al. Enzimas de função hepática na aflatoxicose aguda experimental em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 28, p. 587-590, 1998.

BOUHET, S.; OSWALD, I. P. The effects of mycotoxins, fungal food contaminants, on the intestinal epithelial cell-derived innate immune response. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 108, n. 1-2, p. 199-209, 2005.

BRAKE, J.; HAMILTON, P.; KITTRELL, R. Effects of the trichothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol on feed consumption, body weight, and oral lesions of broiler breeders. **Poultry Science**, v. 79, n. 6, p. 856-863, 2000.

BRYDEN, W. L.; CUMMING, R. B.; LLOYD, A. B. Sex and strain responses to aflatoxin-B1 in the chicken. **Avian Pathology**, v. 9, n. 4, p. 539-550, 1980.

CAST. **Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems** (Task Force Report). Hardcover: Council for Agricultural Science and Technology, 2003. 199p.

CASTEGNARO, M. et al. Sex- and strain-specific induction of renal tumors by ochratoxin a in rats correlates with DNA adduction. **International Journal of Cancer**, v. 77, n. 1, p. 70-75, 1998.

CERAIN, A. L. et al. Efectos tóxicos de la ocratoxina A. **Reviews in Toxicology**, v. 17, p. 61-69, 2000.

COFFEY, M. T.; HAGLER, W. M., JR.; CULLEN, J. M. Influence of dietary protein, fat or amino acids on the response of weanling swine to aflatoxin B1. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 2, p. 465-472, 1989.

CORRIER, D. E. Mycotoxicosis: Mechanisms of immunosuppression. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 30, n. 1, p. 73-87, 1991.

COULOMBE, R. A., JR. Biological action of mycotoxins. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 3, p. 880-891, 1993.

D'MELLO, J. P. F.; MACDONALD, A. M. C. Mycotoxins. **Animal Feed Science and Technology**, v. 69, p. 155-166, 1997.

DAGHIR, N. J. Mycotoxins in poultry feeds. In: DAGHIR, N. J. (Org.). **Poultry production in hot climates**. Wallingford: CAB International, 2008. cap. 8, p. 197-226.

DERSJANT-LI, Y.; VERSTEGEN, M. W. A.; GERRITS, W. J. J. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, n. 2, p. 223-239, 2003.

DESJARDINS, A. E.; HOHN, T. M.; MCCORMICK, S. P. Trichothecene biosynthesis in *fusarium* species: Chemistry, genetics, and significance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 57, n. 3, p. 595-604, 1993.

DIEKMAN, M. A.; GREEN, M. L. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 5, p. 1615-1627, 1992.

DILKIN, P. Micotoxicose suína: Aspectos preventivos, clínicos e patológicos. **Biológico**, v. 64, p. 187-191, 2002.

DILKIN, P. et al. Intoxicação experimental de suínos por fumonisinas. **Ciência Rural**, v. 34, p. 175-181, 2004.

DURLAK, J. A.; LIPSEY, M. W. A practitioner's guide to meta-analysis. **American Journal of Community Psychology**, v. 19, n. 3, p. 291-332, 1991.

EGGER, M.; SMITH, G. D.; ALTMAN, D. **Systematic reviews in health care: Meta-analysis in context**. 2. ed. Hardcover: BMJ Books, 2001. 512p.

ELLING, F. et al. Spontaneous cases of toxic nephropathy in poultry associated with ochratoxin A. **Acta pathologica et microbiologica Scandinavica - Section A**, v. 83, p. 739 - 741, 1975.

FAIXOVÁ, Z. et al. Effect of different doses of deoxynivalenol on metabolism in broiler chickens. **Bulletin of The Veterinary Institute in Pulawy**, v. 51, p. 421-424, 2007.

FATEMI, F. et al. Changes in hepatic cytosolic glutathione s-transferase activity and expression of its class-p during prenatal and postnatal period in rats treated with aflatoxin B1. **Archives of Toxicology**, v. 80, n. 9, p. 572-579, 2006.

FORBES, J. M. **Voluntary food intake and diet selection of farm animals**. Wallingford: CAB International, 2007. 432p.

GARCIA, A. R. et al. Evaluation of two mycotoxin binders to reduce toxicity of broiler diets containing ochratoxin a and T-2 toxin contaminated grain. **Avian Diseases**, v. 47, n. 3, p. 691-699, 2003.

GAUMY, J. L. et al. Zéaralénone: Propriétés et toxicité expérimentale. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 152, p. 219-234, 2001.

GENTLES, A. et al. Toxicological evaluations of cyclopiazonic acid and ochratoxin A in broilers. **Poultry Science**, v. 78, n. 10, p. 1380-1384, 1999.

GIACOMINI, L. et al. Desempenho e plumagem de frangos de corte intoxicados por aflatoxinas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 234-239, 2006.

GLAHN, R. P. Mycotoxins and the avian kidney: Assessment of physiological function. **World's Poultry Science Journal**, v. 49, n. 3, p. 242-250, 1993.

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.

GLASS, G. V. Primary, secondary, and meta-analysis of research. **Educational Researcher**, v. 5, n. 10, p. 3-8, 1976.

GOOD, P. I.; HARDIN, J. W. **Common errors in statistics (and how to avoid them)**. 3. ed. Hoboken: Wiley, 2009. 273p.

GREEN, M. L. et al. Effect of prepubertal consumption of zearalenone on puberty and subsequent reproduction of gilts. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 1, p. 171-178, 1990.

GUO, Y. et al. Analysis of cellular responses to aflatoxin B1 in yeast expressing human cytochrome P450 1A2 using cDNA microarrays. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 593, n. 1-2, p. 121-142, 2006.

HAMILTON, P. B. Interrelationships of mycotoxins with nutrition. **Federation Proceedings**, v. 36, p. 1899-1902, 1977.

HARVEY, R. B. et al. Efficacy of zeolitic ore compounds on the toxicity of aflatoxin to growing broiler chickens. **Avian Diseases**, v. 37, n. 1, p. 67-73, 1993.

HASCHEK, W. M. et al. Fumonisin toxicosis in swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. **Environmental Health Perspectives Supplements**, v. 109, n. 2, p. 251-257, 2001.

HAUSCHILD, L. et al. Digestibilidade de dietas e balanços metabólicos de suínos alimentados com dietas contendo aflatoxinas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1570-1575, 2006.

HAUSCHILD, L. et al. Digestibilidade e metabolismo de dietas de suínos contendo zearalenona com adição de organoaluminossilicato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 219-224, 2007.

HE, P.; YOUNG, L. G.; FORSBERG, C. Microbially detoxified vomitoxin-contaminated corn for young pigs. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 4, p. 963-967, 1993.

HOERR, F. J. et al. Mycotoxicosis produced in broiler chickens by multiple doses of either T-2 toxin or diacetoxyscirpenol. **Avian Pathology**, v. 11, n. 3, p. 369-383, 1982.

HUFF, W. E. et al. Mycotoxin interactions in poultry and swine. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 9, p. 2351-2355, 1988.

HUSSEIN, H. S.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v. 167, n. 2, p. 101-134, 2001.

KLEIN, P. J. et al. Biochemical factors underlying the age-related sensitivity of turkeys to aflatoxin B1. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 132, n. p. 193-201, 2002.

KUBENA, L. F. et al. Individual and combined effects of fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 76, n. 9, p. 1239-1247, 1997a.

KUBENA, L. F. et al. Individual and combined effects of moniliformin present in *Fusarium fujikuroi* culture material and aflatoxin in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 76, n. 2, p. 265-270, 1997b.

KUBENA, L. F. et al. Influence of ochratoxin A and T-2 toxin singly and in combination on broiler chickens. **Poultry Science**, v. 68, n. 7, p. 867-872, 1989.

KUBENA, L. F. et al. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol. **Poultry Science**, v. 72, n. 1, p.51-59, 1993.

KUBOSAKI, A. et al. Immunotoxicity of nivalenol after subchronic dietary exposure to rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 1, p. 253-258, 2008.

KUIPER-GOODMAN, T.; SCOTT, P. M.; WATANABE, H. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 7, n. 3, p. 253-306, 1987.

LACEY, J.; MAGAN, N. Fungi colonising cereal grain: Their occurrence and water and temperature relationships. In: CHELKOWSKI, J. (Org.). **Cereal grain: mycotoxins, fungi and quality in drying and storage**. Amsterdam: Elsevier, 1991. cap. 3, p. 77-118.

LEANDRO, G. **Meta-analysis in medical research: The handbook for the understanding and practice of meta-analysis**. Malden: Blackwell, 2005. 98p.

LEE, R. F.; GLENN, T. K.; LEE, S. S. Cardiac dysfunction in cirrhosis. **Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology**, v. 21, n. 1, p. 125-140, 2007.

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



LIN, W. C. et al. Inhibitory effect of CDA-II, a urinary preparation, on aflatoxin B1-induced oxidative stress and DNA damage in primary cultured rat hepatocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. p. 546-551, 2006.

LINDEMANN, M. D. et al. Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling/growing swine. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 1, p. 171-178, 1993.

LINO, C. M.; SILVA, L. J. G.; PENA, A. S. Fumonisinas: Presença em alimentos, implicações na saúde e aspectos legislativos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 99, p. 181-192, 2004.

LITTELL, J. H.; CORCORAN, J.; PILLAI, V. K. **Systematic reviews and meta-analysis**. New York: Oxford University Press, 2008. 202p.

LOVATTO, P. A. et al. Meta-análise em pesquisas científicas: Enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 285-294, 2007.

LUIZ, A. J. B. Meta-análise: Definição, aplicações e sinergia com dados espaciais. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 19, n. 3, p. 407-428, 2002.

MACIEL, R. M. et al. Função hepática e renal de frangos de corte alimentados com dietas com aflatoxinas e clinoptilolita natural. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1221-1225, 2007.

MAGAN, N. et al. Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, n. 7, p. 723-730, 2003.

MALEKINEJAD, H.; MAAS-BAKKER, R.; FINK-GREMMELS, J. Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. **The Veterinary Journal**, v. 172, p. 96-102, 2006.

MALEKINEJAD, H.; MAAS-BAKKER, R. F.; FINK-GREMMELS, J. Bioactivation of zearalenone by porcine hepatic biotransformation. **Veterinary Research**, v. 36, n. 5-6, p. 799-810, 2005.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e micotoxicoses em suínos**. Santa Maria: Editora do autor, 2007. 240p.

MALLMANN, C. A. et al. Micotoxinas em ingredientes para alimento balanceado de aves. In: XX CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 2007, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2007. p. 191-204.

MANNING, R. O.; WYATT, R. D. Toxicity of *Aspergillus ochraceus* contaminated wheat and different chemical forms of ochratoxin a in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 63, n. 3, p. 458-465, 1984.

MARIN, D. E. et al. Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 5, p. 1250-1257, 2002.

MARIN, D. E. et al. Sex-related differences in the immune response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin extract. **British Journal of Nutrition**, v. 95, n. 6, p. 1185-1192, 2006.

MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 12, p. 3968-3988, 1992.

MEISSONNIER, G. M.; OSWALD, I. P.; GALTIER, P. Aflatoxicoses chez le porc: Étude bibliographique de données cliniques et expérimentales. **Revue de Médecine Veterinaire**, v. 156, n. 12, p. 591-605, 2005.

MIAZZO, R. et al. Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. **Poultry Science**, v. 84, n. 1, p. 1-8, 2005.

MINAMI, L. et al. Fumonisin: Efeitos toxicológicos, mecanismo de ação e biomarcadores para avaliação da exposição. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 3, p. 207-224, 2004.

NOGOWSKI, L. Effect of the myco-oestrogen zearalenone on carbohydrate and lipid metabolism indices in ovariectomized female rats - possible role of insulin and its receptor. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 75, n. 3, p. 156-163, 1996.

NORRED, W. P. et al. Mycotoxins and health hazards: Toxicological aspects and mechanism of action of fumonisins. **The Journal of Toxicological Sciences**, v. 23, n. 2, p. 160-164, 1998.

OGUZ, H. et al. Evaluation of humoral immunity of broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. **Revue de Médecine Veterinaire**, v. 154, n. 7, p. 483-486, 2003.

OGUZ, H. et al. Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. **Research in Veterinary Science**, v. 69, n. 1, p. 89-93, 2000.

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Aflatoxinas: Conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, p. 417-424, 1997.

PFOHL-LESZKOWICZ, A.; MANDERVILLE, R. A. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, n. 1, p. 61-99, 2007.

PHILLIPS, T. D.; SARR, A. B.; GRANT, P. G. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. **Natural Toxins**, v. 3, n. 4, p. 204-213, 1995.

PITT, J. I. Toxigenic fungi and mycotoxins. **British Medical Bulletin**, v. 56, n. 1, p. 184-192, 2000.

PITTET, A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds - an updated review. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 149, n. 6, p. 479-492, 1998.

PIVA, A. et al. Activated carbon does not prevent the toxicity of culture material containing fumonisin B1 when fed to weanling piglets. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 8, p. 1939-1947, 2005.

PLACINTA, C. M.; D'MELLO, J. P. F.; MACDONALD, A. M. C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. **Animal Feed Science and Technology**, v. 78, n. 1-2, p. 21-37, 1999.

POHLAND, A. E.; NESHEIM, S.; FRIEDMAN, L. Ochratoxin A: A review. **Pure and Applied Chemistry**, v. 64, p. 1029 -1046, 1992.

POZZI, C. R. et al. Aspectos relacionados à ocorrência e mecanismo de ação de fumonisininas. **Ciência Rural**, v. 32, n. p. 901-907, 2002.

PRIOR, M. G.; O'NEIL, J. B.; SISODIA, C. S. Effects of ochratoxin A on growth response and residues in broilers. **Poultry Science**, v. 59, n. 6, p. 1254-1257, 1980.

RAMOS, A. J. et al. Intestinal absorption of zearalenone and *in vitro* study of non-nutritive sorbent materials. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 128, p. 129-137, 1996.

REED, D. J. Glutathione - toxicological implications. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 30, p. 603-631, 1990.

RILEY, R. T. et al. Mechanism of fumonisin toxicity and carcinogenesis. **Journal of Food Protection**, v. 57, p. 638-645, 1994.

ROTHSTEIN, H.; SUTTON, A. J.; BORENSTEIN, M. **Publication bias in meta-analysis: Prevention, assessment and adjustments**. West Sussex: Wiley, 2005. 374p.

SAFAMEHER, A. Effects of clinoptilolite on performance, biochemical parameters and hepatic lesions in broiler chickens during aflatoxicosis. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7, n. 4, p. 381-388, 2008.

SAKHARE, P. S. et al. Effect of Toxiroak<sup>®</sup> polyherbal feed supplement during induced aflatoxicosis, ochratoxicosis and combined mycotoxicoses in broilers. **Veterinarski Arhiv**, v. 77, p. 129-146, 2007.

SANTIN, E. et al. Micotoxinas do *Fusarium* spp. na avicultura comercial. **Ciência Rural**, v. 31, p. 185-190, 2001.

SCHOENTAL, R. Mycotoxins and the Bible. **Perspectives in Biology and Medicine**, v. 28, n. 1, p. 117-120, 1984.

SELIGSON, F. H.; ROTRUCK, J. T. Tissue nonprotein sulfhydryl content and weight gain of rats as affected by dietary methionine level. **Journal of Nutrition**, v. 113, p. 98-104, 1983.

SERGEEV, I. N. et al. Calcium and vitamin D metabolism and enzymes of xenobiotic metabolism during chronic action of mycotoxins. **Voprosy Pitaniia**, v. 5, p. 25-30, 1990.

SHARMA, R. A.; FARMER, P. B. Biological relevance of adduct detection to the chemoprevention of cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 10, n. 15, p. 4901-4912, 2004.

SMITH, M. L. Publication bias and meta-analysis. **Evaluation and Education**, v. 4, p. 22-24, 1980.

SMITH, T. K.; SEDDON, I. R. Synergism demonstrated between *Fusarium* mycotoxins. **Feedstuffs**, p. 12-16, 1998.

SORIANO, J. M.; GONZÁLEZ, L.; CATALÁ, A. I. Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. **Progress in Lipid Research**, v. 44, n. 6, p. 345-356, 2005.

SPEIJERS, G. J. A.; SPEIJERS, M. H. M. Combined toxic effects of mycotoxins. **Toxicology Letters**, v. 153, n. 1, p. 91-98, 2004.

SWAMY, H. V. L. N. et al. Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on swine performance, brain regional neurochemistry, and serum chemistry and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 12, p. 3257-3267, 2002.

SZKUDELSKA, K.; SZKUDELSKI, T.; NOGOWSKI, L. Daidzein, coumestrol and zearalenone affect lipogenesis and lipolysis in rat adipocytes. **Phytomedicine**, v. 9, n. 4, p. 338-345, 2002.

TEJADA-CASTANEDA, Z. I. et al. Biodetoxification of aflatoxin-contaminated chick feed. **Poultry Science**, v. 87, n. 8, p. 1569-1576, 2008.

TUNG, H. T. et al. Concentrations of serum proteins during aflatoxicosis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 34, n. 2, p. 320-326, 1975.

VAN DE WALLE, J. et al. Deoxynivalenol affects *in vitro* intestinal epithelial cell barrier integrity through inhibition of protein synthesis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 245, n. 3, p. 291-298, 2010.

VERMA, J.; SWAIN, B. K.; JOHRI, T. S. Effect of various levels of aflatoxin and ochratoxin A and combinations thereof on protein and energy utilisation in broilers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, n. 12, p. 1412-1417, 2002.

VOSS, K. A. et al. Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, p. 299-325, 2007.

WHITEHEAD, A. **Meta-analysis of controlled clinical trials**. New York: Wiley, 2002. 336p.

WHITLOW, L. W.; HAGLE JR., W. M. H. Mycotoxins in feed. **Feedstuffs**, v. 74, n. 28, p. 1-10, 2002.

YIANNIKOURIS, A.; JOUANY, J.-P. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: A review. **Animal Research**, v. 51, n. 2, p. 81-99, 2002.

YOO, H. S. et al. Fumonisin inhibition of *de novo* sphingolipid biosynthesis and cytotoxicity are correlated in LLC-PK1 cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 114, n. 1, p. 9-15, 1992.

YU, J. et al. Mycotoxin production and prevention of aflatoxin contamination in food and feed. In: GOLDMAN, G. H.; OSMANI, S. A. (Org.). **The aspergilli: Genomics, medical aspects, biotechnology, and research methods**. Boca Raton: CRC Press, 2008. cap 27, p. 457-472.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A – Produção bibliográfica durante o curso

#### Artigos publicados em periódicos

ANDRETTA, Ines; LOVATTO, Paulo Alberto; LANFERDINI, Eloiza; LEHNEN, Cheila Roberta; ROSSI, Carlos Augusto; HAUSCHILD, Luciano; FRAGA, Bruno; GARCIA, Gerson Guarez; MALLMANN, Carlos Augusto. Alimentação de leitoas pré-púberes com dietas contendo aflatoxinas ou zearalenona. *Archivos de Zootecnia*, v. 59, p. 123-130, 2010.

ANDRETTA, Ines; LOVATTO, Paulo Alberto; KIPPER, Marcos da Silva; LEHNEN, Cheila Roberta; LANFERDINI, Eloiza; KLEIN, Cristieli Carolina. Relação da ractopamina com componentes nutricionais e desempenho em suínos: um estudo meta-analítico. *Ciência Rural*, v. 41, p. 186-191, 2011.

LOVATTO, Paulo Alberto; LEHNEN, Cheila Roberta; ANDRETTA, Ines; LOVATO, Gustavo Dias; HAUSCHILD, Luciano. Modelagem da ingestão, retenção e excreção de nitrogênio e fósforo pela suinocultura gaúcha: interface vegetal. *Ciência Rural*, v. 40, p. 957-962, 2010.

LOVATTO, Paulo Alberto; LEHNEN, Cheila Roberta; ANDRETTA, Ines. Uso de modelagem para a racionalização do manejo nutricional de fêmeas suínas gestantes e lactantes. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 38, p. s211-s220, 2010.

ROSSI, Carlos Augusto; LOVATTO, Paulo Alberto; LEHNEN, Cheila Roberta; ANDRETTA, Ines; CERON, Marcos; LOVATO, Gustavo Dias. Alimentação de suínos em terminação com dietas contendo extratos cítricos e ractopamina: características químicas e perfil de ácidos graxos do músculo *Longissimus dorsi*. *ARS Veterinária*, v. 26, p. 95-103, 2010.

LOVATTO, Paulo Alberto; WESCHENFELDER, Volnei; LEHNEN, Cheila Roberta; ROSSI, Carlos Augusto; ANDRETTA, Ines. Alimentação de porcas lactantes com dietas contendo silagem de grãos úmidos de milho e ácidos orgânicos. *Ciência Rural*, v. Online, p. 1-4, 2009.

ANDRETTA, Ines; LOVATTO, Paulo Alberto; LEHNEN, Cheila Roberta; HAUSCHILD, Luciano; Rossi, Carlos Augusto Rigon. Meta-análise do uso de ácido linoleico conjugado na alimentação de suínos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, p. 754-760, 2009.

#### Artigos publicados em anais de eventos

LOVATTO, Paulo Alberto; LEHNEN, Cheila Roberta; ANDRETTA, Ines; KIPPER, Marcos da Silva; DEMORI, Alice Bogoni. Nutrição de suínos machos inteiros. In: Congresso Latino Americano de Nutrição Animal, 2010, São Pedro-SP.

LOVATTO, Paulo Alberto; MILGEN, Jaap van; KOUBA, Maryline; ANDRETTA, Ines; MONTAGNE, Lucile. Etude méta-analytique de l'effet des challenges sanitaires sur la consommation d'aliment et la croissance du porc. In: Journées de la Recherche Porcine, v. 41. p. 1-6, 2009, Paris-FR.

#### Artigos aprovados para publicação em periódicos

KIPPER, Marcos da Silva; SILVA, Aleksandro Schafer; PAIM, Francine; ANDRETTA, Ines; SILVA, Cássia Bagolin; LEON, Rodrigo; CORREA, Kelly; STAINK, Daniel; LOPES, Sônia Terezinha dos Anjos; MONTEIRO, Sílvia Gonzalez. Relationship between splenic sequestration and thrombocytopenia in infection by *Trypanosoma evansi* in rats. *Research in Veterinary Science*, 2011.

LEHNEN, Cheila Roberta; LOVATTO, Paulo Alberto; ROSSI, Carlos Augusto; ANDRETTA, Ines; HAUSCHILD, Luciano; FRAGA, Bruno Neutzling; GARCIA, Gerson Guarez. Digestibilidade das dietas e metabolismo de suínos alimentados com dietas contendo bentonita sódica. *Ciência Rural*, 2011.

#### **Artigos submetidos para publicação em periódicos**

ANDRETTA, Ines; KIPPER, Marcos da Silva; LEHNEN, Cheila Roberta; HAUSCHILD, Luciano; DEMORI, Alice Bogoni; VALE, Marcos Martinez; LOVATTO, Paulo Alberto. Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in pigs. *Animal*, 2011.

ANDRETTA, Ines; KIPPER, Marcos da Silva; LEHNEN, Cheila Roberta; HAUSCHILD, Luciano; VALE, Marcos Martinez; LOVATTO, Paulo Alberto. Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in broilers. *Poultry Science*, 2011.

ANDRETTA, Ines; KIPPER, Marcos da Silva; LEHNEN, Cheila Roberta; DEMORI, Alice Bogoni; REMUS, Aline; LOVATTO, Paulo Alberto. Meta-analysis of the relationship between ractopamine and dietary lysine on carcass characteristics in pigs. *Livestock Science*, 2011.

ANDRETTA, Ines; KIPPER, Marcos da Silva; LOVATTO, Paulo Alberto. Toxidade individual e combinada das micotoxinas em dietas para suínos: meta-análise e estudo *in vivo*. *Archivos de Zootecnia*, 2011.

ANDRETTA, Ines; KIPPER, Marcos da Silva; LOVATTO, Paulo Alberto. Meta-análise da relação das micotoxinas com o perfil bioquímico e hematológico de frangos de corte. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2011.

HAUSCHILD, Luciano; LOVATTO, Paulo Alberto; LEHNEN, Cheila Roberta; PRATA, Maurício Farias; ANDRETTA, Ines; GARCIA, Gerson Guarez. Alimentação de leitões com dietas contendo soro de leite fermentado mais zinco e cobre complexados a aminoácidos. *Archivos de Zootecnia*, 2009.

LEHNEN, Cheila Roberta; LOVATTO, Paulo Alberto; ANDRETTA, Ines. KIPPER, Marcos da Silva; ROSSI, Carlos Augusto; HAUSCHILD, Luciano. Digestibilidade ileal de aminoácidos e minerais de suínos alimentados com dietas contendo enzimas: estudo meta-analítico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2010.

LEHNEN, Cheila Roberta; LOVATTO, Paulo Alberto; ANDRETTA, Ines; ROSSI, Carlos Augusto; HAUSCHILD, Luciano; FRAGA, Bruno Neutzling; CAVAZINI, Neimar. Alimentação de leitões em creche com dietas contendo ácido ascórbico e bioflavonóides. *Archivos de Zootecnia*, 2009.

POROLNIK, Glauber; LOVATTO, Paulo Alberto; ROSSI, Carlos Augusto; LEHNEN, Cheila Roberta; GARCIA, Gerson Guarez; ANDRETTA, Ines. Suplementação de aminoácidos para suínos castrados e inteiros em crescimento e terminação: desempenho e custo de alimento. *Ciência Rural*, 2010.

#### **Demais trabalhos**

Publicação de resumos em anais de eventos (48 expandidos e 15 simples). 2009/2010.

Supervisão do Setor de Suínos – UFSM. 2009.

Tutoria na disciplina de Produção Agroecológica Animal I e II – Curso de Agricultura Familiar e Sustentabilidade (EaD) – UAB/UFSM. 2009/2010.

Parecer para trabalho científico – Revista *Archivos de Zootecnia*. 2010.