

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

**SENSIBILIDADE DE PERUS (*Meleagris gallopavo*)
ÀS DIFERENTES DOSES DE AFLATOXINAS NA
DIETA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

RICARDO HUMMES RAUBER

**Santa Maria, RS, Brasil
2006.**

**SENSIBILIDADE DE PERUS (*Meleagris gallopavo*) ÀS
DIFERENTES DOSES DE AFLATOXINAS NA DIETA**

por

Ricardo Hummes Rauber

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Medicina Veterinária Preventiva, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **MESTRE EM MEDICINA VETERINÁRIA.**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Mallmann

Santa Maria, RS, BRASIL

2006

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

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

**SENSIBILIDADE DE PERUS (*Meleagris gallopavo*) ÀS DIFERENTES
DOSES DE AFLATOXINAS NA DIETA**

elaborada por
Ricardo Hummes Rauber

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA

Carlos Augusto Mallmann, Dr.
(Presidente/Orientador)

Paulo Dilkin, Dr. (UFSM)

Antônio Mário Penz Júnior, Dr. (UFRGS)

Santa Maria, 18 de dezembro de 2006

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

Ao Prof. Carlos Augusto Mallmann, orientador deste trabalho, pela oportunidade, confiança e estímulo em concretizar mais esta etapa na minha vida e, acima de tudo, pela amizade e pelos ensinamentos passados neste período.

Aos meus pais Flávio e Vera, pela compreensão e apoio nas tomadas de decisão e pelo incentivo em seguir adiante e nunca desistir.

Aos meus irmãos, César e Marina, pelo companheirismo, apoio e compreensão durante este período.

Aos colegas do LAMIC, Leandro, Paulo, Fabiana, Fernanda Maria, Maurício, Adriano, Meiquel, Fernanda Pinto, Juliano, Andressa, Carlos, Washington, Mariane, Lidiane, Simone, Noelle e a todos que passaram por este Laboratório que hoje reconheço como uma escola de vida. Muito obrigado pelo apoio, pelos conselhos e pelos momentos de descontração.

À Doux/Frangosul, parceira na execução deste trabalho, pela gentil doação dos animais e das dietas.

À CAPES e ao LAMIC, fomentadores desta pesquisa.

Aos meus colegas e amigos, Cristiano e Marcelo, pelo incentivo em iniciar esta caminhada.

RESUMO

Dissertação de Mestrado

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

SENSIBILIDADE DE PERUS (*Meleagris gallopavo*) ÀS DIFERENTES DOSES DE AFLATOXINAS NA DIETA

Autor: Ricardo Hummes Rauber

Orientador: Carlos Augusto Mallmann

Santa Maria, 18 de dezembro de 2006.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de perus de corte alimentados com dietas contendo sete diferentes doses de aflatoxinas, durante os primeiros 42 dias de vida. Foram utilizados 336 perus de corte, machos, com 1 dia de vida, divididos aleatoriamente em 7 tratamentos, conforme a dose de aflatoxinas utilizada (T1= controle; T2= 20 ppb de aflatoxinas totais; T3= 50 ppb; T4= 100 ppb; T5= 200 ppb; T6= 500 ppb; e T7= 1.000 ppb). As aves foram alojadas em gaiolas e eutanasiadas em dois períodos: metade das aves aos 21 dias de experimento e o restante aos 42 dias. Os parâmetros avaliados em cada período foram consumo de ração, peso corporal, peso relativo de órgãos (fígado, coração, moela e bursa de Fabricius), peso relativo de cortes da carcaça (coxa+sobrecoxa e peito) e parâmetros de bioquímica clínica (proteínas plasmáticas totais, albumina, ácido úrico, colesterol, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina). Aos 21 dias de experimento, tanto o consumo de ração ($R = -0,98$), quanto o peso corporal ($R = -0,85$) foram significativamente afetados ($P = 0,00$) pela presença das aflatoxinas na dieta. Além disto, o peso relativo de moela ($R = 0,50$) e os níveis de proteínas plasmáticas totais ($R = -0,87$) e de colesterol ($R = -0,73$) também foram significativamente afetados pelas aflatoxinas presentes na dieta. Aos 42 dias, além do consumo de ração ($R = -0,96$) e do peso corporal ($R = -0,84$), foram afetados significativamente os pesos relativos de moela ($R = 0,64$) e de fígado ($R = 0,63$) e os níveis séricos de colesterol ($R = 0,71$) pela presença de aflatoxinas na ração. Diante destes resultados, conclui-se que as aflatoxinas interferem significativamente em diversos parâmetros produtivos e biológicos em perus de corte.

Palavras-chave: Perus, aflatoxinas, sensibilidade, desempenho, bioquímica clínica.

ABSTRACT

Master's Dissertation

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

SENSITIVITY OF TURKEY POULTS (*Meleagris gallopavo*) FED DIFFERENT DOSES OF AFLATOXINS IN THE DIET

Author: Ricardo Hummes Rauber

Adviser: Carlos Augusto Mallmann

Santa Maria, December 18th 2006.

The aim of this research was to evaluate the performance of turkey poults fed crescent doses of aflatoxins in the diet during the first 42 days of life. Three hundred and thirty six one-day-old, male turkey poults were randomly divided into seven treatments, as follows: T1= control; T2= 20 ppb of total aflatoxins; T3= 50 ppb; T4= 100 ppb; T5= 200 ppb; T6= 500 ppb; T7= 1,000 ppb. Turkeys were kept in cages and euthanized in two periods: half the birds at 21 days of experiment and the remaining birds at 42 days of experiment. Parameters evaluated were feed consumption, body weight, organs relative weight (liver, heart, gizzard and bursa of Fabricius), relative weight of meat (thighs and breast), and clinical biochemical parameters (total plasmatic proteins, albumin, uric acid, cholesterol, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and alkaline Phosfatase). At 21 days of age, both feed consumption (R= -0.98) and body weight (R= -0.85) were significantly affected (P=0.00) by the presence of aflatoxins in the diet. Relative weight of gizzard (R=0.50), total proteins (R= -0.87), and cholesterol (R= -0.73) levels were also significantly affected by the aflatoxins present in the diet. At 42 days of age feed consumption (R= -0.96), body weight (R= -0.84), relative weight of gizzard (R= 0.64), relative weight of liver (R=0.63), and cholesterol levels (R=0.71) were all significantly affected by the presence of aflatoxins in the diet. These results show that aflatoxins interfere significantly in several productive and biological parameters in turkey poults.

Key-words: Turkeys, aflatoxins, sensitivity, performance, clinical biochemistry.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - DESTINO DA PRODUÇÃO BRASILEIRA DE CARNE DE PERU NO MERCADO INTERNO E NO MERCADO EXTERNO ENTRE OS ANOS DE 2000 E 2005 (UBA, 2006). 13**
- FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS QUATRO PRINCIPAIS AFLATOXINAS: (A) AFLATOXINA B₁; (B) AFLATOXINA B₂; (C) AFLATOXINA G₁; (D) AFLATOXINA G₂ (HUSSEIN & BRASEL, 2001)..... 15**
- FIGURA 3 - BIOTRANSFORMAÇÃO DA AFLATOXINA B₁, CONFORME MALLMANN, ET AL. (1994)..... 18**

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PRINCIPAIS ESPÉCIES DE FUNGOS TOXÍGENOS E AS MICOTOXINAS PRODUZIDAS.....	14
TABLE 2 - FEED INTAKE AND BODY WEIGHT OF TURKEY POULTS POISONED WITH DIFFERENT DOSES OF AFLATOXINS IN DIET DURING 21 AND 42 DAYS.....	36
TABLE 3 - RELATIVE WEIGHT OF LIVER AND GIZZARD OF TURKEY POULTS POISONED WITH DIFFERENT DOSES OF AFLATOXINS DURING 21 AND 42 DAYS OF AGE.	37
TABLE 4 - TOTAL PROTEIN AND CHOLESTEROL LEVELS IN SERUM OF TURKEY POULTS POISONED WITH DIFFERENT DOSES OF AFLATOXINS DURING 21 AND 42 DAYS OF AGE*.....	38

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	4
RESUMO	5
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
SUMÁRIO	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1. PRODUÇÃO MUNDIAL DE CARNE DE PERUS	12
2.2. PRODUÇÃO BRASILEIRA DE PERUS DE CORTE	12
2.3. MICOTOXINAS.....	13
2.4. AFLATOXINAS	14
2.4.1. <i>Conceito</i>	14
2.4.2. <i>Aflatoxinas em ração e ingredientes para nutrição animal</i>	16
2.4.3. <i>Produção das aflatoxinas nos alimentos</i>	16
2.4.4. <i>Mecanismo de ação das aflatoxinas</i>	17
2.4.5. <i>Impacto das aflatoxinas na produção animal</i>	19
2.5. BIOQUÍMICA CLÍNICA	20
2.5.1. <i>Enzimas Séricas</i>	20
2.5.2. <i>Colesterol</i>	22
2.5.3. <i>Ácido Úrico</i>	22
2.5.4. <i>Proteínas Séricas</i>	23
2.6. EFEITOS DAS AFLATOXINAS SOBRE A BIOQUÍMICA CLÍNICA	23
2.7. HISTOPATOLOGIA	24
3. PERFORMANCE OF TURKEY POULTS (<i>Meleagris gallopavo</i>) FED DIFFERENT DOSES OF AFLATOXINS IN THE DIET	26
3.1. ABSTRACT.....	26
3.2. INTRODUCTION	27
3.3. MATERIAL AND METHODS.....	28

3.3.1. <i>Mycotoxins</i>	28
3.3.2. <i>Feed preparation</i>	28
3.3.3. <i>Animals and experimental protocol</i>	28
3.3.4. <i>Body performance</i>	29
3.3.5. <i>Necropsies and pathologic studies</i>	29
3.3.6. <i>Clinical biochemistry analysis</i>	29
3.3.7. <i>Statistical analysis</i>	30
3.4. RESULTS	30
3.5. DISCUSSION.....	31
3.6. REFERENCES	34
4. CONCLUSÃO	39
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1. INTRODUÇÃO

A produção brasileira de carne de perus tem apresentado uma evolução constante nos últimos anos, tendo representatividade considerável no mercado mundial deste tipo de alimento, ao contrário do que vem ocorrendo em outros países mais tradicionais na produção de perus, onde a produção apresenta-se estagnada.

Aflatoxinas são substâncias oriundas do metabolismo secundário de fungos do gênero *Aspergillus* (*A. flavus* e *A. parasiticus*), encontradas em cereais, como o milho, utilizados na produção de rações animais. A presença destes contaminantes nas dietas determina a ocorrência de quadros agudos ou crônicos de aflatoxicose, levando a grandes perdas de produtividade nos animais afetados.

A aflatoxicose acomete a maioria das espécies animais. No entanto, têm importância, do ponto de vista sócio-econômico e epidemiológico, apenas aquelas que se alimentam essencialmente de grãos, como aves e suínos. Dentre as espécies de aves criadas comercialmente, merecem atenção especial os perus, pela sua grande sensibilidade à intoxicação por estas substâncias. Apesar deste fato, ainda são raros os estudos que enfatizam o impacto das aflatoxinas sobre o desempenho de perus, em comparação aos frangos de corte. Isto serve de subsídio para a indústria no momento de destinar as matérias-primas para a fabricação de rações para uma ou outra espécie, uma vez que a maioria das empresas produtoras de perus são, também, produtoras de frangos.

Diante desta realidade, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de perus de corte frente à intoxicação com diferentes doses de aflatoxinas na dieta, durante os primeiros 42 dias de vida destes animais e determinar o seu grau de sensibilidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Produção Mundial de Carne de Perus

Ao contrário do que acontece com a produção mundial de carne de frango, que está em franca ascensão nas últimas três décadas, a produção mundial de perus parece ter atingido seu platô em 2000. Nos últimos 15 anos, a evolução da produção mundial de carne de perus foi de 38%, em contraste com a produção de carne de frango que obteve um incremento de 94% no mesmo período (WINDHORST, 2006).

2.2. Produção Brasileira de Perus de Corte

Apesar de haver certa estagnação na produção mundial de perus, o Brasil apresenta uma evolução constante e linear (Figura 1), tanto no volume produzido, quanto nos volumes exportados e os destinados ao consumo interno. Deste modo, na contramão das tendências mundiais de produção, a criação de perus no Brasil está em franca expansão. Segundo dados da União Brasileira de Avicultura (UBA, 2006), o incremento na produção brasileira deste tipo de carne foi de 140%, nos últimos seis anos.

De acordo com as previsões do *site* especializado AVISITE (2006), a participação brasileira no mercado mundial de carne de perus passará de 15% em 2002, para 29% em 2006, consolidando o Brasil como segundo colocado no ranking mundial de países exportadores deste tipo de carne.

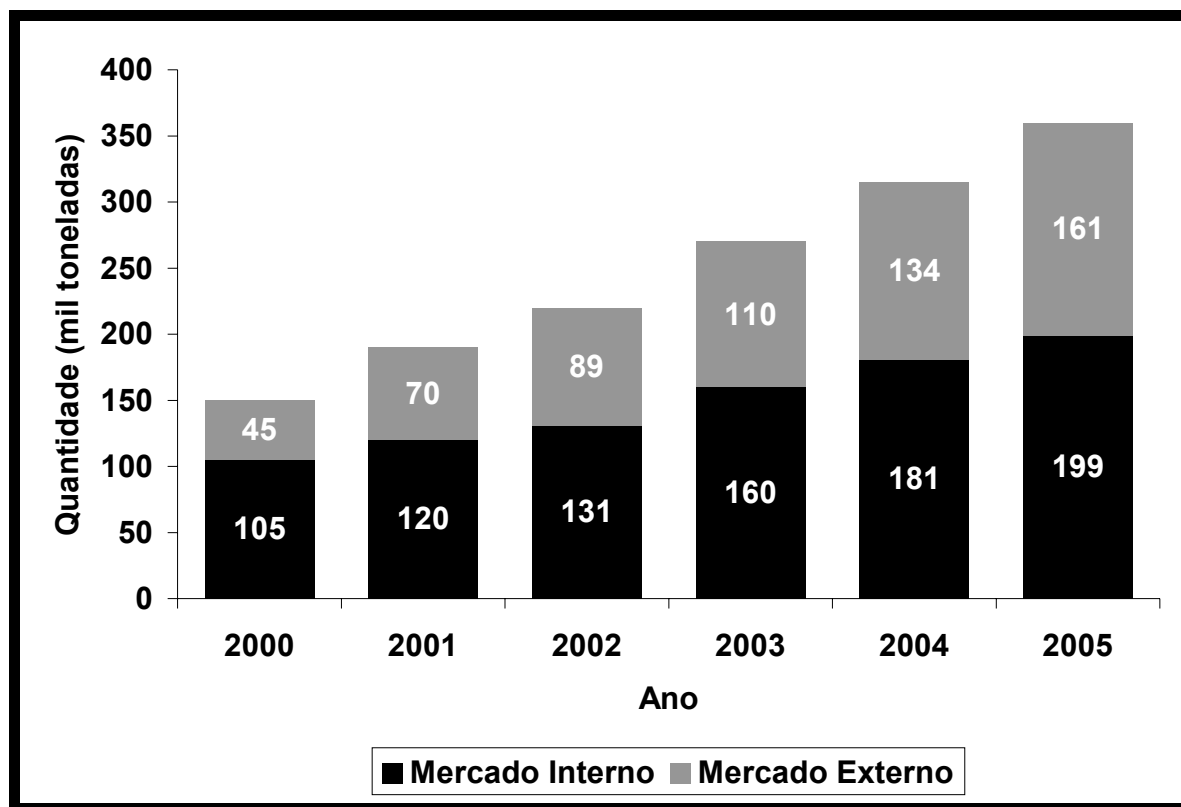


FIGURA 1 - Destino da produção brasileira de carne de peru no mercado interno e no mercado externo entre os anos de 2000 e 2005 (UBA, 2006).

2.3. Micotoxinas

Antes considerados vegetais, a partir de 1969 os fungos passaram a ser classificados em um reino à parte, denominado *Fungi*. São seres vivos eucarióticos e ubíquos. Produzem uma série de substâncias e participam ativamente dos ciclos dos elementos da natureza (Gompertz et al., 2004).

Fungos em geral podem produzir uma grande quantidade de substâncias oriundas de seu metabolismo secundário. Muitas destas substâncias têm conhecidos efeitos tóxicos sobre os animais. Estes compostos são conhecidos como Micotoxinas (D'Mello & Macdonald, 1997). Micotoxinas são produzidas, principalmente pela estrutura micelial de fungos filamentosos. São metabólitos secundários, que não possuem qualquer importância no crescimento e desenvolvimento fúngicos. Nem todos os fungos produzem micotoxinas, por isto,

aqueles que as produzem são chamados de fungos toxígenos, os quais podem produzir uma ou mais micotoxinas (D'Mello & Macdonald, 1997; Hussein & Brasel, 2001). A Tabela 01 apresenta as principais espécies de fungos toxígenos e as micotoxinas produzidas por eles.

TABELA 1 - Principais espécies de fungos toxígenos e as micotoxinas produzidas.

Espécie fúngica	Micotoxinas
<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i>	Aflatoxinas (AF)
<i>A. flavus</i>	Ácido Ciclopiazônico (CPA)
<i>A. ochraceus</i> ; <i>Penicillium viridicatum</i> ; <i>P. cyclopium</i>	Ocratoxina A (OTA)
<i>P. expansum</i>	Patulina (PAT)
<i>Fusarium culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. sporotrichoides</i>	Deoxinivaleol (DON)
<i>F. sporotrichoides</i> ; <i>F. poae</i>	Toxina T-2 (T2)
<i>F. sporotrichoides</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. poae</i>	Diacetoxicirpenol (DAS)
<i>F. culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. sporotrichoides</i>	Zearalenona (ZEA)
<i>F. moniliforme</i>	Fumonisinias (FB)

Adaptado de D'Mello & Macdonald, 1997.

Apesar de haver evidências da ocorrência de micotoxinas desde tempos muito remotos, as pesquisas neste campo não iniciaram antes de 1960, quando mais de 100.000 perus morreram devido a uma necrose hepática aguda e hiperplasia dos ductos biliares (Doença X dos perus), devido ao consumo de farelo de amendoim contaminado com aflatoxinas (Leeson et al., 1995; D'Mello & Macdonald, 1997; Hussein & Brasel, 2001).

2.4. Aflatoxinas

2.4.1. Conceito

O grupo de substâncias designadas como Aflatoxinas (AF) é o mais estudado dentre as micotoxinas (Hussein & Brasel, 2001). São compostos produzidos por fungos do gênero *Aspergillus*, principalmente *A. flavus* e *A.*

parasiticus (Oliveira & Germano, 1997; Hussein & Brasel, 2001; Bintvihok & Kositharoenkul, 2006), mas também pelo *A. nomius* (Leeson et al., 1995).

Atualmente, mais de 17 compostos são conhecidos como aflatoxinas. No entanto, apenas quatro destes (Figura 2) têm importância do ponto de vista médico-sanitário (Oliveira & Germano, 1997). São substâncias heterocíclicas e apresentam fluorescência quando submetidas à luz ultravioleta, o que confere características especiais a cada uma delas. As aflatoxinas B₁ e B₂ (AFB₁ e AFB₂) fluorescem à cor azul, enquanto que as aflatoxinas G₁ e G₂ (AFG₁ e AFG₂) fluorescem à cor verde (Hussein & Brasel, 2001).

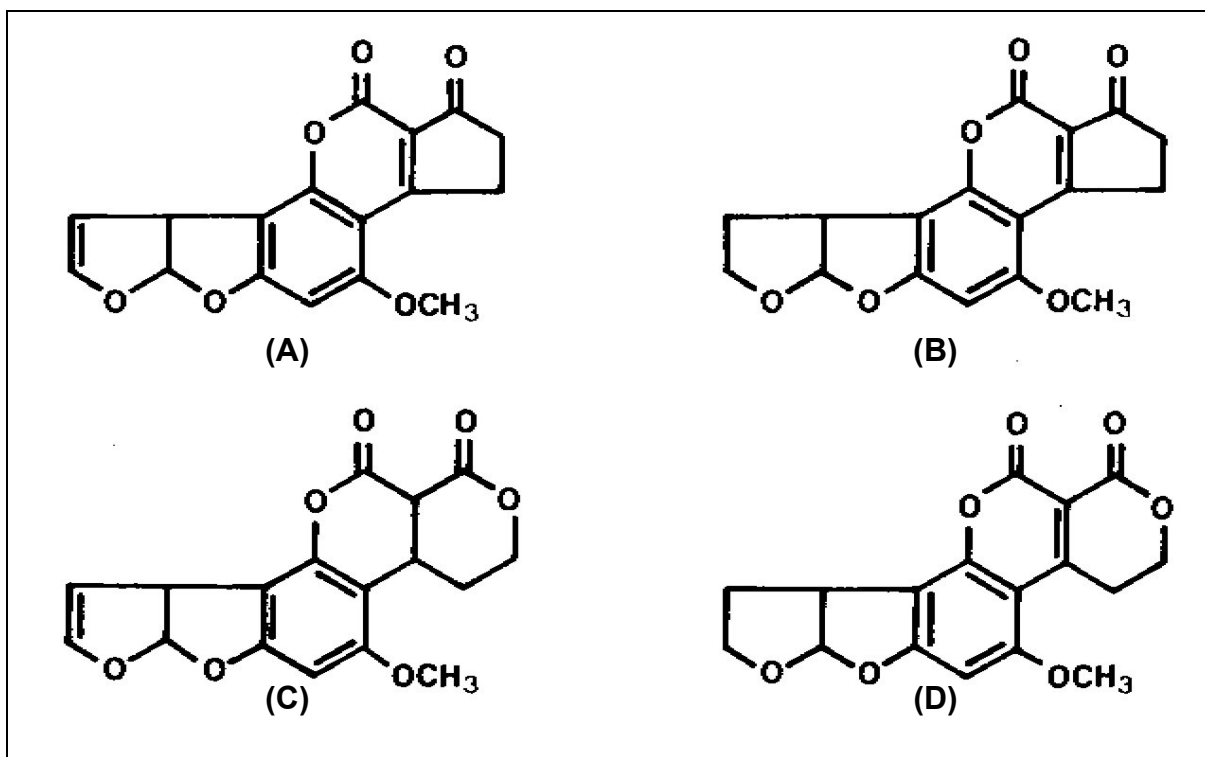


FIGURA 2 - Estrutura química das quatro principais aflatoxinas: (A) Aflatoxina B₁; (B) Aflatoxina B₂; (C) Aflatoxina G₁; (D) Aflatoxina G₂ (Hussein & Brasel, 2001).

Existem diferenças de toxicidade entre as aflatoxinas. A aflatoxina de maior prevalência e importância toxigênica é a AFB₁, seguida pela AFG₁. Ambas têm

o fígado como principal órgão-alvo. AFB₁ é a mais tóxica das aflatoxinas, sendo altamente mutagênica, carcinogênica e teratogênica (OMS, 1983; Oliveira & Germano, 1997; Dilkin, 2003).

2.4.2. Aflatoxinas em ração e ingredientes para nutrição animal

As aflatoxinas são as principais micotoxinas contaminantes de cereais ingredientes para nutrição animal. Dentre estes cereais, merece destaque o milho, que representa cerca de 50 a 60% da formulação de uma dieta balanceada para perus. No período de atividade (1986 – 2006) do Laboratório de Análises Micotoxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria (LAMIC/UFSM), foram analisadas 17.800 amostras de ração, oriundas de várias empresas agropecuárias do Brasil e destinadas tanto para aves, quanto para suínos. Destas amostras, 46% apresentaram contaminação por aflatoxinas, com uma média geral de 9,8 ppb e 21,3 ppb nas amostras contaminadas.

No mesmo período, foram analisadas 38.800 amostras de milho destinado à alimentação animal. Destas, 50,1% apresentaram contaminação superior a 1 ppb, com uma contaminação média de 26,1 ppb. A média geral de contaminação nas amostras de milho foi de 13,1 ppb.

Quando avaliados os últimos 3 anos (2004-2006), pode ser observado que a positividade vem aumentando e a média de contaminação geral mantém-se estável. No entanto, esta média (7,7 ppb) ainda apresenta-se elevada, uma vez que, para perus com mais de 21 dias de idade, é recomendado que a contaminação da dieta seja inferior a 5 ppb, segundo níveis máximos recomendados pelo LAMIC (2006).

2.4.3. Produção das aflatoxinas nos alimentos

Fundamentalmente, para que haja produção das aflatoxinas em determinados alimentos, quatro fatores são imprescindíveis: presença do fungo toxígeno; oxigênio; além de umidade e temperatura adequadas. A ausência de

qualquer um destes fatores previne a formação das micotoxinas (Mallmann et al., 2005a).

Outros fatores são importantes, mas não essenciais, para o crescimento fúngico e a produção de aflatoxinas como a presença de insetos, danos mecânicos aos grãos antes ou durante a colheita e armazenagem, métodos de secagem e armazenamento de grãos inadequados, determinando condições que propiciem o crescimento fúngico e a produção das aflatoxinas (Dilkin, 2003; Mallmann et al., 2005a).

2.4.4. Mecanismo de ação das aflatoxinas

As aflatoxinas possuem boa lipossolubilidade, podendo ser absorvidas pela pele, pulmão e trato gastrointestinal. Desta maneira, a absorção das aflatoxinas parece ser completa quando esta é administrada pela via oral. Depois de absorvidas, as aflatoxinas são distribuídas pelo organismo e podem ser encontradas nos músculos, rins e tecido adiposo. Entretanto, as maiores concentrações destas toxinas são encontradas no fígado (OMS, 1983). É no fígado onde ocorre a maior parte do processo de biotransformação das aflatoxinas pelas enzimas microssomais do citocromo P-450 (Oliveira & Germano, 1997). A forma pura da AFB₁ não apresenta atividade mutagênica. A biotransformação deste composto nos tecidos animais pelas enzimas microssomais do citocromo P-450 é que transforma a AFB₁ no maior carcinógeno natural existente, o 8-9 epóxido de aflatoxina (Oliveira & Germano, 1997; Hussein & Brasel, 2001).

O sistema enzimático microssomal hepático é responsável pela biotransformação da aflatoxina e, conseqüentemente, pela sua ativação no organismo. Basicamente, este sistema possui quatro mecanismos (Figura 3) para biotransformação das aflatoxinas (epoxidação, hidratação, hidroxilação e orto-dimetilação) (Mallmann et al., 1994; Oliveira & Germano, 1997; Dilkin, 2003).

Os processos de hidroxilação e o-dimetilação originam compostos inertes que são excretados na bile e na urina. O processo de hidratação tem como metabólito a aflatoxina B_{2a} (AFB_{2a}). Este composto tem como principal ação a inibição de enzimas, tanto no fígado quanto em outros tecidos. No entanto, o processo mais danoso na metabolização da aflatoxina é a epoxidação, que produz o

8, 9 epóxido de aflatoxina (ou AF-epóxido), sendo este o mais potente carcinógeno existente (OMS, 1983; Oliveira & Germano, 1997; Dilkin, 2003).

O composto formado pela epoxidação é altamente eletrofílico e capaz de reagir rapidamente, através de ligações covalentes, com sítios nucleofílicos de macromoléculas, como o Ácido Desoxirribonucléico (DNA), Ácido Ribonucléico (RNA) e proteínas (Oliveira & Germano, 1997). A ligação do AF-epóxido com o DNA é formada com o N7 da guanina, o que determina a formação de adutos AF-N7-guanina na célula-alvo (Lillehoj, 1991). Com consequência deste aduto, o par G – T sofre uma transversão seguida de reparo do DNA, mutação e formação de tumor (Hussein & Brasel, 2001). Em humanos, a ocorrência de carcinoma hepatocelular em populações expostas a altas doses de AFB₁ está relacionada à transversão do par G – T no códon 249 do gene supressor de tumores *p53* (Wang & Groopman, 1999).

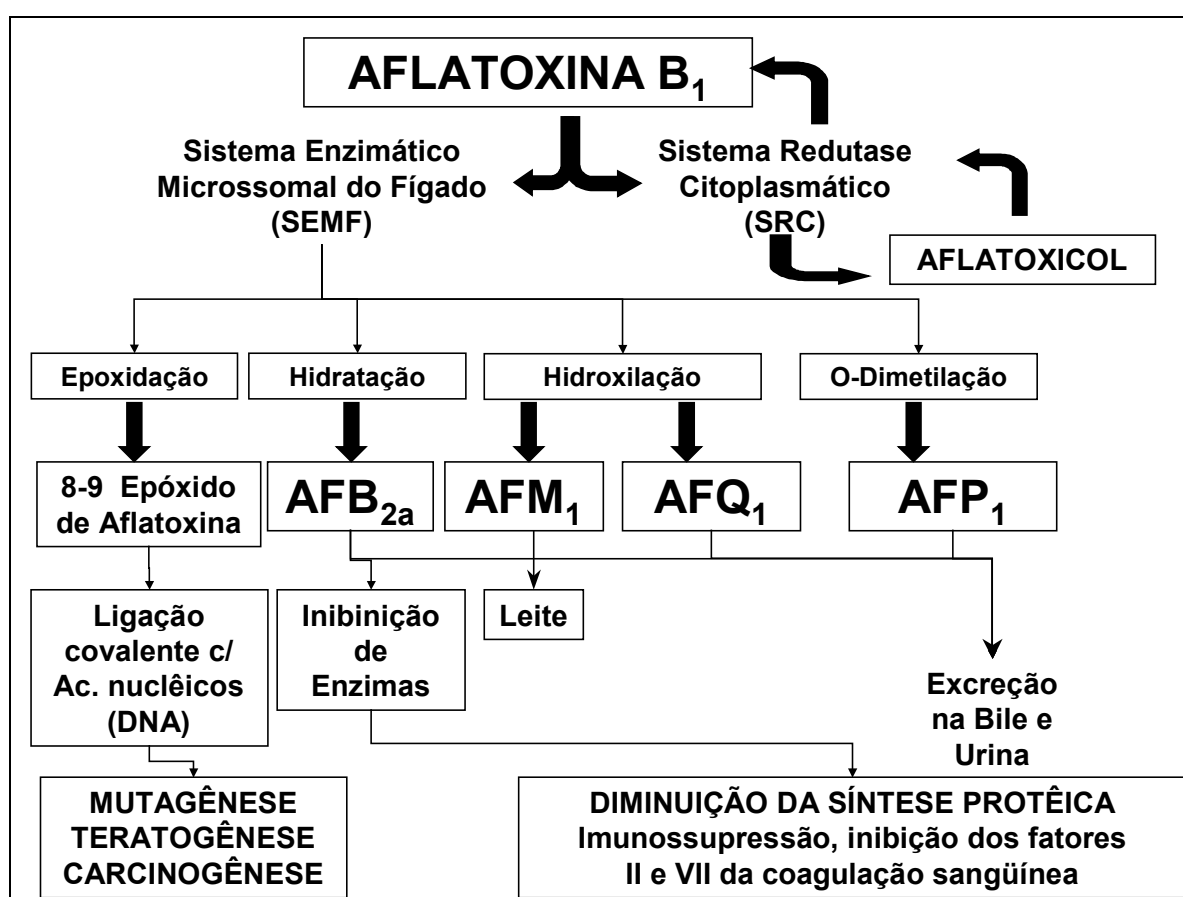


FIGURA 3 - Biotransformação da Aflatoxina B₁, conforme Mallmann, et al. (1994).

2.4.5. Impacto das aflatoxinas na produção animal

Segundo Smith & Hamilton (1970), a ordem de susceptibilidade, no que diz respeito às aves, aparece da seguinte forma: patos > perus > gansos > faisões > galinhas, seguindo do mais susceptível para o menos susceptível. Quando as micotoxinas não causam a morte dos animais em processos de intoxicação aguda, determinam redução de peso, piora na conversão alimentar, aumento na susceptibilidade a doenças infecciosas e parasitárias, problemas reprodutivos, entre outros. Estes danos são mais acentuados nos países de clima tropical úmido, os quais reúnem as condições ambientais adequadas ao desenvolvimento dos fungos (Cruz, 1996).

Estudos envolvendo a intoxicação experimental de frangos de corte com aflatoxinas evidenciaram que as principais lesões causadas por estas micotoxinas ocorrem no fígado (Merkley & Maxwell, 1987). Dentre estas lesões, principalmente pode ser observado que o fígado apresenta-se amarelado, friável e dilatado, com pequenas hemorragias e depósitos de gordura, o que é comumente conhecido como síndrome do fígado gorduroso.

As aves, de um modo geral, quando intoxicadas por aflatoxinas, apresentam os seguintes sinais clínicos: apatia, diminuição na velocidade de crescimento, empenamento deficiente, palidez de crista, barbela, patas e bico, podendo desenvolver, em quadros mais graves, sinais nervosos, como torcicolo e convulsões (Hoerr, 2003).

Devido à sua atividade inibitória sobre a síntese protéica, as aflatoxinas determinam a redução na atividade de várias enzimas digestórias (amilase, tripsina, lipase, RNase e DNase pancreática), o que leva a uma redução considerável na digestão de carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (Osborne & Hamilton, 1981). Esta redução explica, em parte, a presença de partículas de ração não digeridas, eliminadas nas fezes das aves intoxicadas (Mallmann, et al., 2005b).

Segundo Hoerr (2003), os perus geralmente desenvolvem inapetência, redução espontânea na atividade, andar inconstante, anemia e morte. À necropsia, o estado geral do corpo é bom. No entanto, há edema e congestão generalizados. Os órgãos mais afetados são o fígado e os rins, apresentando-se aumentados, firmes e congestos.

Giambrone et al. (1985a) verificaram os efeitos da intoxicação de perus jovens e frangos de corte com cinco níveis de contaminação com aflatoxina B₁ (0, 100, 200, 400 e 800 ppb) na ração. Naquele estudo, as aves apresentaram redução no ganho de peso já na primeira semana, com níveis de contaminação de 800 ppb. Não houve diferença significativa entre outros tratamentos (0, 100, 200 e 400 ppb) em qualquer momento do experimento, conduzido de 1 a 35 dias. No entanto, Giambrone et al. (1985b), em outro experimento, utilizaram quatro níveis de contaminação com aflatoxina B₁ purificada (0, 200, 500 e 1000 ppb) em perus de 1 a 35 dias. Os autores verificaram que o ganho de peso dos perus foi significativamente reduzido já na primeira semana de vida nos animais que receberam mais que 200 ppb de aflatoxina B₁. As aves que receberam 500 e 1000 ppb de aflatoxina B₁ morreram até 21 dias.

Witlock & Wyatt (1981) intoxicaram perus com quatro níveis de aflatoxina (0, 125, 250 e 500 ppb) na ração, durante 21 dias, e observaram que somente as aves que receberam 500 ppb de aflatoxina apresentaram diferença significativa nos pesos ao final do experimento. Houve mortalidade (8,75%) somente no grupo das aves que receberam 500 ppb de aflatoxina.

Quist et al. (2000), em um estudo com perus selvagens contaminados com 0, 100, 200 e 400 ppb de aflatoxina, verificaram que apenas as aves que receberam 400 ppb apresentaram redução significativa no ganho de peso ao final do experimento (14 dias). Pâncreas, baço, coração, rins e Bursa não apresentaram diferença significativa no seu peso relativo, enquanto que em todas as aves intoxicadas o peso relativo do fígado foi menor que naquelas do grupo controle.

2.5. Bioquímica Clínica

2.5.1. Enzimas Séricas

A alteração de enzimas séricas em aves ainda é pouco estudada. Segundo Campbell & Coles (1986), a distribuição das enzimas nos diferentes tecidos e sua importância em representar dano tecidual variam grandemente entre as diferentes espécies de aves.

2.5.1.1. *Aspartato Aminotransferase (AST)*

Em perus, a maior atividade da AST ocorre no músculo cardíaco, seguido do fígado e dos rins. No entanto, também é encontrada no cérebro e no músculo esquelético (Campbell & Coles, 1986; Borsa, 2002). Apesar de não ser uma enzima hepato-específica, alterações nos níveis de AST geralmente indicam dano hepatocelular em perus e outras aves. Um aumento moderado na atividade da AST indica um dano tecidual leve, enquanto que elevações exacerbadas indicam necrose hepática (Campbell & Coles, 1986). Segundo Harr (2002), a AST é um indicador extremamente sensível, mas não-específico de dano hepático em aves. Não existem estudos contundentes com relação à atividade normal de AST em soro de perus, o que dificulta a correta avaliação da atividade hepática nestas aves.

2.5.1.2. *Alanina Aminotransferase (ALT)*

Ao contrário do que ocorre em mamíferos, a ALT geralmente não é utilizada como parâmetro de avaliação hepática em aves. Esta enzima está presente no músculo esquelético, rins, coração, pulmões e fígado (Harr, 2002). Em aves normais, a atividade sérica de ALT apresenta-se baixa. Em algumas espécies de aves (frangos e patos) dano hepático pode levar à elevação na atividade de ALT (Campbell & Coles, 1986). Segundo Borsa (2002), as maiores concentrações de ALT encontram-se nos rins, apresentando baixos níveis no fígado.

2.5.1.3. *Fosfatase Alcalina (FA)*

A maior atividade da FA ocorre nos ossos, sendo que um aumento na atividade sérica desta enzima geralmente indica elevada atividade osteoblástica (Borsa, 2002). Segundo Harr (2002), incrementos na atividade sérica da FA são específicos de atividade osteoblástica e alterações ósseas associadas a crescimento, trauma, reparo ósseo, osteomielite, neoplasia e hiperparatireoidismo secundário nutricional.

2.5.1.4. *Gama Glutamiltransferase (GGT)*

A GGT é uma enzima encontrada principalmente no fígado e seu uso clínico parece ser restrito às condições hepáticas (Borsa, 2002). Apesar de não haver muitos estudos investigando a utilidade diagnóstica desta enzima com relação ao fígado, sua atividade elevada no soro parece estar relacionada com dano ao sistema hapatobiliar e ao pâncreas (Campbell & Coles, 1986; Harr, 2002).

2.5.2. *Colesterol*

De um modo geral, os lipídeos sangüíneos das aves são semelhantes aos dos mamíferos, tanto qualitativamente quanto quantitativamente (Campbell & Coles, 1986; Borsa, 2002). Nas aves, a síntese de lipídeos e, conseqüentemente, o metabolismo das gorduras e do colesterol é realizado somente pelo fígado, sendo este um parâmetro utilizado como indicativo de dano hepático.

No entanto, a relação existente entre dano hepático e alteração nos níveis séricos de colesterol é um tanto controverso. Campbell & Coles (1986) assumiram que, em casos de lesão hepática, os níveis de colesterol podem estar tanto aumentados quanto reduzidos.

Segundo Borsa (2002), os níveis de colesterol decrescem com a idade em frangos de corte. Além disto, os níveis séricos são significativamente superiores em machos do que em fêmeas.

2.5.3. *Ácido Úrico*

O ácido úrico é o elemento primário do catabolismo protéico em aves. Esta substância é eliminada pelos rins e corresponde a 60-80% do nitrogênio total excretado pela ave. Para a maioria das aves, os níveis fisiológicos de ácido úrico plasmático situam-se entre 2 e 15 mg/dL (Campbell & Coles, 1986; Borsa, 2002). Quadros de hiperuricemia são característicos de doença renal, gota (articular e visceral) e destruição massiva de tecidos (Campbell & Coles, 1986).

2.5.4. Proteínas Séricas

O principal órgão responsável pela síntese das proteínas circulantes no soro é o fígado. Além dele, o sistema imunológico, representado pelo tecido reticuloendotelial, células linfóides e plasmáticas, também contribuem com a síntese de determinadas proteínas circulantes (Borsa, 2002).

Segundo Campbell & Coles (1986), hipoproteinemia pode ocorrer devido à doença renal ou hepática crônicas, deficiências nutricionais, má absorção ou perdas crônicas de sangue. Geralmente, níveis protéicos séricos abaixo de 2,5 mg/dL indicam um prognóstico desfavorável e aves com quadros severos de hipoproteinemia raramente sobrevivem.

2.6. Efeitos das Aflatoxinas sobre a Bioquímica Clínica

Com a inibição na síntese protéica, os níveis de proteína plasmática, albumina e globulinas apresentam-se reduzidos em casos de aflatoxicose. Devido à lesão hepática, a atividade das enzimas no soro também pode estar alterada (Borsa, 2002).

Segundo Fudge (2000), a atividade enzimática em aves tende a se apresentar maior do que aquela apresentada em mamíferos, sendo que isto representa um *turnover* normal dos tecidos. O mesmo autor relatou que as atividades da Fosfatase Alcalina e da Gama Glutamilttransferase são normalmente baixas no fígado das aves. No entanto, ele também citou que os níveis séricos não necessariamente têm correlação com a atividade das enzimas no fígado.

Quist et al. (2000) avaliaram os componentes do soro em perus intoxicados com aflatoxinas e os que apresentaram alterações significativas foram proteína total, albumina e aspartato aminotransferase (200 e 400 ppb de aflatoxina na ração), ácido úrico (somente com 100 ppb) e o colesterol (somente com 200 ppb). Lactato desidrogenase, triglicerídeos, glicose e cálcio não apresentaram alterações significativas.

Witlock & Wyatt (1981) avaliaram tempo da protrombina, proteína total, fibrinogênio e cálcio plasmático. Este último parâmetro apresentou redução significativa somente aos 21 dias (500 ppb de aflatoxina na ração), enquanto que os

outros parâmetros mostraram diferenças significativas com 14 dias, a partir de 125 ppb de aflatoxina.

Borsa (2002) encontrou valores significativamente inferiores para os níveis de proteína total, albumina e globulinas em frangos de corte intoxicados de 1 a 42 dias, com 1.250 ppb de aflatoxinas na ração. Naquele mesmo estudo, foi avaliada a atividade enzimática no soro, onde não houve diferença significativa para as enzimas testadas (aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, gama glutamiltransferase e fosfatase alcalina), sendo que os parâmetros mais sensíveis para a detecção da aflatoxicose em frangos foram os níveis de proteína sérica, albumina e colesterol. Quezada et al. (2000) sugeriram que os parâmetros adequados para indicar um quadro de aflatoxicose em frangos são somente as proteínas séricas e a albumina.

No estudo conduzido por Quezada et al. (2000), com frangos de corte alimentados com dietas contendo 2.000 ppb de aflatoxina B₁, em dois períodos distintos (a partir dos 7 e a partir dos 28 dias de idade), ambos os tratamentos não apresentaram qualquer alteração na atividade sérica da GGT.

2.7. Histopatologia

Após absorvida, a aflatoxina é levada, primariamente, ao fígado, onde tem seu principal sítio de ação (Lillehoj, 1991). No entanto, esta micotoxina parece distribuir-se por todos os tecidos do corpo, determinando efeitos em órgãos como rim e bursa de Fabricius (Borsa, 2000; Quezada et al., 2000).

Os efeitos observados em quadros de aflatoxicose, como redução nos níveis séricos de proteínas totais, albumina e globulinas, citados por diversos autores (Borsa, 2000; Quezada et al., 2000; Miazzi et al., 2005) ocorrem devido à ação das aflatoxinas nos sítios de produção e/ou formação destas substâncias.

As principais alterações microscópicas em casos de aflatoxicose crônica são observadas no fígado e compreendem desde lesões discretas, como vacuolização citoplasmática perilobular (Miazzi et al., 2005), até alterações mais severas, como acúmulo excessivo de lipídios, proliferação dos ductos biliares, necrose hepatocelular e formação de carcinoma hepatocelular (Quezada et al., 2000; Klein et al., 2002).

Lesões histológicas no tecido renal são pouco relatadas. No entanto, Quezada et al. (2000) relataram que os efeitos sobre este órgão parecem ser secundários ao efeito sobre o fígado. Um eventual aumento no volume renal pode estar relacionado a um efeito compensatório devido à ação das aflatoxinas.

3. PERFORMANCE OF TURKEY POULTS (*Meleagris gallopavo*) FED DIFFERENT DOSES OF AFLATOXINS IN THE DIET¹

Submetido, como Artigo Científico, à revista Poultry Science.

Ricardo Hummes Rauber^a; Paulo Dilkin^a; Leandro Zanini Giacomini^a; Carlos Alberto Araújo de Almeida^a; Carlos Augusto Mallmann^{a,*}.

^aLaboratory of Micotoxicological Analysis, Department of Preventive Veterinary Medicine, Federal University of Santa Maria, Build 44, 3rd floor, section north. ZIP: 97.105-900. Brazil.

3.1. ABSTRACT

This work was conducted to determine the performance parameters of initial phase turkey poults fed seven different doses of aflatoxins in the diet. Three hundred and thirty six, one-day-old male turkey poults, were used in this research. Turkey were divided into seven treatments, according to aflatoxins doses (T1= Control; T2= 20 ppb aflatoxins; T3= 50 ppb; T4= 100 ppb; T5= 200 ppb; T6= 500 ppb; T7= 1,000 ppb). Birds were euthanized in two periods: half of them after 21 days of experiment and the remaining birds after 42 days of experiment. In both periods the evaluated parameters were: feed consumption, body weight, organs (liver, gizzard, heart and bursa of Fabricius) and meat (breast and thighs) relative weight, and clinical biochemistry parameters (TPP, ALB, UA, CHO, ALT, AST, and AP). At 21 days of age, both feed consumption and body weight were significantly affected by the aflatoxins present in the diet. Nevertheless, gizzard relative weight, TPP and CHO levels were also affected. At 42 days of age, besides feed consumption and body weight, gizzard and liver relative weights and CHO levels were also affected by the presence of aflatoxins in the diet. According to the results shown in this work, turkey poults are very sensitive to aflatoxins poisoning.

Key words: aflatoxins, turkey, performance, biochemical analysis.

¹ Research developed in the Laboratory of Micotoxicological Analysis – LAMIC, Federal University of Santa Maria, summer of 2004/2005.

* Corresponding Author: Phone: +55 (55) 3220 8445. FAX +55 (55) 3220 8073. e-mail: mallmann@lamic.ufsm.br.

3.2. INTRODUCTION

Aflatoxins are secondary metabolites of some species of fungi of *Aspergillus* genus, such *A. flavus* and *A. parasiticus*. Many compounds are known as aflatoxins, but only aflatoxins B₁, B₂, G₁ e G₂ have toxigenic importance (OMS, 1983). Fungal development and aflatoxins production in foods depend on several factors, mainly conditions related with moisture, temperature, oxygen and substrate composition (da Silva et al., 2000).

In the past 20 years (1986-2006), the average aflatoxins incidence in Brazilian corn was about 50% and the average concentration on the contaminated samples were 27 ppb in more than 35,000 samples analyzed in the southern region of Brazil (LAMIC, 2006). This concentration is 35% over the maximum limit (20 ppb) established in Mercosul for animal feed (Mercosul, 1994).

Aflatoxins sensibility varies among species. Turkey and geese are the most sensitive birds to aflatoxins (Arafa et al., 1981). Turkeys poisoned with aflatoxins generally develop inappetance, reduced spontaneous activity, unsteady gait, recumbence, anemia, and death. At necropsy, body condition is generally good, but there is generalized congestion and oedema. Liver and kidney are congested, enlarged, and firm (Hoerr, 2003).

Aflatoxins present in contaminated feed are rapidly absorbed in the small intestine, affecting mainly the liver, leading to metabolic disorders. Fat degeneration and proliferation of biliary ducts induce bloody changes, generally seen as the increase in hepatic enzymes activity, coagulopathies and reduction on protein production (Fernandez et al., 1995). Many production parameters can be affected by aflatoxins poisoning, such as body weight gain, feed consumption, plasmatic proteins, cholesterol, and mortality rate, even in turkey poults as in other avian species (Lanza et al., 1980; Giambrone et al., 1985a, b; Quist et al., 2000).

This work was carried out to evaluate the sensitivity of young turkey poults to different aflatoxins concentrations added to the diet from 1 to 42 days of age.

3.3. MATERIAL AND METHODS

3.3.1. *Mycotoxins*

The production of aflatoxins (B₁, B₂, G₁ e G₂) was done by culture of *Aspergillus parasiticus* toxigenic strain (NRRL 2999) on rice, following methodology developed by Shotwell et al. (1966). The culture material obtained was submitted to chromatographic analysis (Mallmann et al, 2000) to determine its aflatoxins concentration.

3.3.2. *Feed preparation*

The feed for initial phase turkey poult was formulated based on their nutritional requirement recommended by the NRC (1994), using basically corn, soybean meal and vitaminic/mineral premix with crude protein adjusted to 27%. The culture material, with 743 mg/kg of total aflatoxins (B₁ = 75.2%; B₂ = 1.4%; G₁ = 22.6%; G₂ = 0.8%), was added to the diet to reach the desired aflatoxins concentration in the diet. Feed and water were provided *ad libitum*. The protocol for turkeys' treatment was: 1) Control feed without addition of aflatoxins; 2) 20 ppb of total aflatoxins; 3) 50 ppb of total aflatoxins; 4) 100 ppb of total aflatoxins; 5) 200 ppb of total aflatoxins; 6) 500 ppb of total aflatoxins; 7) 1,000 of total aflatoxins. Before and during the experiment, feedstuffs and diets were screened for aflatoxins, fumonisins, zearalenone and trichotecenes (T-2 toxin, deoxynivalenol, diacetoxyscirpenol and fusarenon X). Assayed levels of these mycotoxins were bellow the detection limits of used technique.

3.3.3. *Animals and experimental protocol*

Three hundred and thirty six, one-day-old, BUTA 9, male turkey poults (*Meleagris gallopavo*), were randomly divided into seven treatments with six replicate groups per treatment and eight birds per replicate. Turkeys were kept in 48 electrically heated battery brooders, with raised wire floors, from 1 to 42 days of age. Experimental diets were given to the turkeys since they were 1-day-old, until the end of the experiment.

3.3.4. *Body performance*

Birds were monitored daily to evaluate behavior and intoxication clinical signs. Body weight and feed consumption were measured at 21st and 42nd days of experiment. At the first day, the average body weight was 58 g and there was no difference among the treatments.

3.3.5. *Necropsies and pathologic studies*

Birds were euthanized, after electric sensitization, in two steps: half the birds (168 less mortality) were euthanized at 21 days of age and the remaining birds were euthanized at 42 days of age. At necropsy, general aspect of the body and organs (form, color and volume) were observed. The organs relative weight (liver, gizzard, heart and bursa of Fabricius) and meat (breast and thighs) were measured. Segments of liver, kidney and bursa of Fabricius were collected in formol (10%) for histopathological analysis. The organs fragments were processed following the usual histopathological techniques (Luna, 1968). These parameters were evaluated at both 21st and 42nd days of experiment.

3.3.6. *Clinical biochemistry analysis*

Blood samples were collected from the Jugular Vein after birds were euthanized (21 and 42 days). Samples were centrifuged 30 minutes after collection and serum was maintained under -4°C until biochemical testing was performed. Total plasmatic proteins (TPP), albumin (ALB), uric acid (UA), cholesterol (CHO), Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST) and Alkaline Phosphatase (AP) measurement were performed using commercial kits² under spectroscopic analysis.

² Labtest Diagnostica S.A.; 600 Paulo Ferreira da Costa Av. – Vista Alegre, Lagoa Santa, MG, Brazil.

3.3.7. Statistical analysis

All data obtained in this work (feed consumption, body weight, organs relative weight, meat relative weight, and clinical biochemistry measurements) were submitted to a simple regression analysis. Parameters that presented significance level higher than or equal 90% ($P \leq 0.10$) were submitted to analysis of variance (ANOVA, one-way) and Bonferroni's Multiple Range Test ($P \leq 0.05$). Statistical analyses were done in Statgraphics 5.0³ computer statistical program.

3.4. RESULTS

During the experiment, birds from groups receiving 100 to 1000 ppb of aflatoxins showed clinical signs of aflatoxicosis, such as poor feathering, apathy, pallor of feet and beak. Besides that, during the last week (35 to 42 days) some birds from groups receiving 500 and 1000 ppb showed some convulsive crisis.

Birds' feed consumption and body weight (21 and 42 days) are shown in Table 2. At 21 days of experiment, aflatoxins presence until 50 ppb did not significantly affect feed intake. The lowest feed intake at 21 days was from birds that received the higher dose of aflatoxins (1000 ppb). At this age, birds also showed a significant reduction on body weight when receiving 500 or 1000 ppb of total aflatoxins.

At 42 days of age, birds receiving 0, 20, 50, and 100 ppb of aflatoxins did not show a significant difference on feed intake and body weight. However, turkeys from treatments that received 200 ppb of aflatoxins or more (200, 500, and 1,000) had a significant lower weight gain compared with the poults from other treatments. At the two evaluated periods, both feed intake and body weight have a dose-dependent behavior, as seen in Table 2 (Probabilities of the F test).

In this experiment the mortality was 10.1%. However, treatments that showed higher mortality were those that the poults received 200 (18.7%), 500 (8.3%) and 1,000 (37.5%) ppb of aflatoxins on diet. Mortality index had a strong correlation with aflatoxins doses ($R=0.88$ and $P < 0.01$).

³ Statgraphics Plus 5.0, Manugistics, Inc. 2115 East Jefferson Street Rockville, Maryland 20852 – USA.

In the first evaluation of organs relative weight (21 days of experiment), only the gizzard showed a significant correlation coefficient ($P=0.00$) among treatments (Table 3). This organ had a relative weight significantly higher in birds that received 500 and 1,000 ppb of aflatoxins. At the second evaluation (42 days) gizzard and liver showed significant increase in relative weight among treatments ($P=0.00$). The behavior of gizzard relative weight on this evaluation was the same as in the former evaluation. However, liver relative weight was significantly increased only in birds that received 1,000 ppb of aflatoxins.

As seen in Table 4, total protein and cholesterol were significantly affected by aflatoxins in the diet at the first evaluation (21 days). Both parameters were reduced in birds that received 1000 and 500 ppb of aflatoxins. The second evaluation revealed that serum cholesterol had been significantly increased by aflatoxins (500 and 1000 ppb). The effect of aflatoxins on other evaluated parameters was not significant at the simple regression test.

At the 21st day of age the major gross lesions were observed in the livers of birds under the highest levels of aflatoxins (500 and 1000 ppb). Those livers were smaller and yellowish. At 42 days, livers were also diminished. However, they were not yellowish. Histopathological examination (21 and 42 days) indicated proliferation of biliary ducts (moderated to severe) on livers from birds that received 200 ppb or more. Lesions on bursa of Fabricius were more discrete and appear on birds that received 500 and 1000 ppb as a decrease in the number of follicular cells. No significant lesions on kidney were found.

3.5. DISCUSSION

Aflatoxins produce severe economic losses and health problems in the poultry industry because of their toxicity and frequency of occurrence in feedstuffs (Miazzo et al., 2005; LAMIC, 2006). The current study demonstrated the toxicity of several doses of aflatoxins added to the feed of turkey poults from 1 to 42 days of age. Either at 21 and 42 days of experiment, the reduced weight gain was due to the lower feed intake by the birds that received aflatoxins. This reduction on body weight gain has been already reported in previous researches (Giambrone et al., 1985a).

As seen in Table 2, the coefficient of variation of body weight (21 and 42 days of age) tends to be higher in those birds that received the highest doses of

aflatoxins in the diet (500 and 1000 ppb). This information is of particular interest because in the field we generally observe a decrease in the uniformity degree of flocks receiving aflatoxin contaminated feed, even in low doses. Similar results were previously described by Mallmann (2006) in broilers receiving 3000 ppb of aflatoxins.

Joffe (1970) concluded that 6650 ppb is the minimum aflatoxins doses that can significantly reduce the weight gain in turkey poults (during the first 21 days). Besides this fact, other authors have found similar results to the current research. Hamilton et al. (1972) found that 250 ppb is the minimum concentration that can significantly affect body weight gain in turkeys. According to Witlock and Wyatt (1981) and Arafa et al. (1981), the minimum dose is 500 and 700 ppb, respectively. Giambrone et al. (1985a) poisoned turkey poults during 35 days, with a maximum dose of 800 ppb. At the end of the experiment, they concluded that 400 ppb is the minimum dose to cause a significant loss in body weight. In another study, Giambrone et al. (1985b) used turkeys during 35 days of age and birds that received both 500 and 1000 ppb were all dead. Data shown by Witlock and Wyatt (1981) are similar to our results.

The reduction on body weight gain in turkeys that received 1000 ppb of aflatoxins was about 38% in comparison with the control group at 21 and 42 days of age. Broiler chickens poisoned with 3000 ppb of aflatoxins showed a reduction of 37% and 27% when compared with the control group at 21 and 42 days, respectively (Giacomini et al., 2006). These results show that turkey poults are three to six times more sensitive to aflatoxins than broilers.

The main aflatoxins action mechanism is the reduction on liver's function, primarily inhibition of the synthesis of proteins. The lipidic metabolism is also affected due to the reduction on enzymes synthesis and activity, mainly in chronic exposures (Hussein & Brasel, 2001). Both hypo and hypercholesterolemia have been associated with liver diseases or liver damage (Campbell & Coles, 1986). Quist et al. (2000) showed that total protein levels are significantly reduced in turkeys poisoned with 200 and 400 ppb of aflatoxins, while cholesterol levels were diminished only in those birds that received 200 ppb of aflatoxins. In addition, other researchers (Witlock and Wyatt, 1981) found a decrease in total protein levels with aflatoxins contamination equal or higher than 125 ppb. The singular yellowish color of the liver is commonly observed in cases of chronic aflatoxicosis in the field and previously described in other studies with aflatoxins in broilers (Miazzo et al., 2005).

On the present study, our findings show that the presence of aflatoxins in doses equal or higher than 200 ppb affect turkey performance during the evaluated period (1 – 42 days). The effect of those toxins over body weight, feed consumption, relative weight of gizzard and liver, mortality, and total protein and cholesterol levels on serum is dependent on the dose of aflatoxins at the diet. Turkey poults are very sensitive to aflatoxins poisoning and important economic losses can occur mainly in industrial production, when micotoxicological management is not adequately conducted.

3.6. REFERENCES

- Arafa, A.S., Bloomer, R. J., Wilson, H. R., Simpson, C. F., Harms, R. H., 1981. Susceptibility of various poultry species to dietary aflatoxin. **Br. Poult. Sci.** 22:431-436.
- Campbell, T. W., Coles, E. H. 1986. **Avian Clinical Pathology.** p. 279-301. In *Veterinary Clinical Pathology.* Coles, E. H. 4 ed. Philadelphia : Saunders.
- Da Silva, J. B., Pozzi, C. R., Mallozzi, M. A. B., Ortega, E. M., Correa, B., 2000. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ during storage of Brazilian sorghum. **J. Agric. Food Chem.** 48:4352-4356.
- Fernandez, A., Verde, M. T., Gomez, J., Gascon, M., Ramos, J. J., 1995. Changes in the prothrombin time, haematology and serum proteins during experimental aflatoxicosis in hens and broiler chickens. **Res. Vet. Sci.** 58:119-122.
- Giacomini, L., Fick, F. A., Dilkin, P., Mallmann, C. A., Rauber, R. H., Almeida, C., 2006. Desempenho e plumagem de frangos de corte intoxicados por aflatoxinas. **Ciência Rural.** 36:234-239.
- Giambrone, J. J., Diener, U. L., Davis, N. D., Panangala, V. S., Hoerr, F. J., 1985a. Effects of aflatoxin on young turkeys and broiler chickens. **Poult. Sci.** 64:1678-1684.
- Giambrone, J. J., Diener, U. L., Davis, N. D., Panangala, V. S., Hoerr, F. J., 1985b. Effect of purified aflatoxin on turkey. **Poult. Sci.** 64:859-865.
- Hamilton, P.B., Tung, H. T., Harris, J. R., Gainer, J. H., Donaldson, W. E., 1972. The effect of dietary fat on aflatoxicosis in turkeys. **Poult. Sci.** 51:165-170.
- Hoerr, F. J. 2003. Mycotoxicoses. Pages 1103-1132 in **Diseases of Poultry.** Saif, Y. M.; Barnes, H. J.; Fadly, A. M.; Glisson, J. R.; McDougald, L. R.; Swayne, D. E., 3 ed. Iowa State Press, Iowa.
- Hussein, H. S. & Brasel, J. M. 2001. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology.** 167:101-134.
- Joffe, A. Z. 1970. Feeding tests with ducklings, turkey chicks and rabbits and the effects of aflatoxin on these animals. **Mycopathologia et Mycologia Applicata.** 40:49-61.
- LAMIC. 2006. Subject: Results. <http://www.lamic.ufsm.br/resultados.html>. Accessed Jul. 2006.
- Lanza, G. M., Washburn, K. W., Wyatt, R. D. 1980. Variation with age in response of broilers to aflatoxin. **Poult. Sci.** 59:282-288.
- Luna, G. C. 1968. **Manual of histologic staining methods of the armed forces.** Institut of Pathology. 3 ed. New York: Mc Graw-Hill. p. 285.

Mallmann, C. A.; Santurio, J. M.; Almeida, C. A.; Fontana, F.; Mostardeiro, C. P.; Stefanon, E. C. 2000. Automation of the analytical procedure for the simultaneous determination of aflatoxins AFB₁, AFB₂, AFG₁ and AFG₂. Page 35. In: **Proceedings of the X International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins**. São Paulo.

Mallmann, C. A. 2006. Micotoxinas e seus impactos na moderna avicultura. In: **III Encontro Técnico Unifrango**. Maringá.

MERCOSUL. Technical Regulations on Maximum Levels of Aflatoxins. GMC/Res. N° 56/94. 1994.

Miazza R., Peralta M.F., Magnoli C., Salvano M., Ferrero S., Chiacchiera S.M., Carvalho E.C.Q., Rosa C.A.R., Dalcerol A. 2005. Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. **Poult. Sci.** 84:1-8.

NRC. National Research Council. 1994. **Nutrient Requirements of Poultry**. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.

OMS. 1983. Criterios de salud ambiental. OPS, Cidade do México. 183 p.

Quist, C. F., Bounous, D. I., Kilburn, J. V., Nettles, V. F., Wyatt, R. D., 2000. The effect of dietary aflatoxin on wild turkey poults. **Journal of Wildlife Diseases**. 36:436-444.

Shotwell, O.L., Hesseltine, C. W., Stubblefield, R. D., Sorenson, W. G., 1966. Production of aflatoxin on rice. **Applied Microbiology**. 14:425-428.

Witlock, D. R., Wyatt, R. D., 1981. Effect of dietary aflatoxin on hemostasis of young turkey poults. **Poult. Sci.** 60:528-531.

TABLE 2 - Feed intake and body weight of turkey poults poisoned with different doses of aflatoxins in diet during 21 and 42 days.

Afl ¹	21 days*				42 days**			
	Feed Intake ² (CV%) ³		Body Weight ⁴ (CV%) ³		Feed Intake ² (CV%) ³		Body Weight ⁴ (CV%) ³	
0	879.40 ^b	(2.4)	676.85 ^{ab}	(7.3)	3,943.16 ^a	(3.9)	2,239.90 ^a	(6.2)
20	895.48 ^{ab}	(2.0)	686.65 ^a	(8.2)	3,973.86 ^a	(2.4)	2,281.75 ^a	(5.9)
50	910.24 ^a	(2.1)	696.55 ^a	(6.5)	3,906.00 ^a	(2.2)	2,270.00 ^a	(6.8)
100	858.92 ^c	(1.4)	671.31 ^{ab}	(7.1)	3,954.13 ^a	(2.4)	2,253.54 ^a	(5.1)
200	799.15 ^d	(2.8)	639.67 ^b	(10.2)	3,448.39 ^b	(1.5)	2,092.05 ^b	(7.3)
500	695.66 ^e	(4.2)	566.79 ^c	(13.0)	3,138.18 ^c	(3.3)	1,916.09 ^c	(10.0)
1000	537.92 ^f	(3.8)	414.25 ^d	(12.1)	2,220.94 ^d	(10.0)	1,378.09 ^d	(14.5)
Probabilities of the F Test								
Regression	P=0.00		P=0.00		P=0.00		P=0.00	
Model	X=894,90-0.37*AF		X=695.22-0.27*AF		X=3,986.96-1.77*AF		X=2,298.94-0.87*AF	
Correlation	R= -0.98		R= -0,85		R= -0.96		R= -0.84	

* Each treatment was composed of 6 replicates cages (8 birds/cage).

** Each treatment was composed of 6 replicates cages (4 birds/cage).

¹ Afl: Aflatoxins dose used in the experiment (ppb);

^{a-f} Averages in column, with different letters are significantly different under Bonferroni's test ($P \leq 0.05$).

² Feed intake (g/turkey).

³ Coefficient of variation (%).

⁴ Body weight (g).

TABLE 3 - Relative weight of liver and gizzard of turkey poultts poisoned with different doses of aflatoxins during 21 and 42 days of age.

Afl ¹	21 days*		42 days**			
	Gizzard ² (CV%) ³		Gizzard ² (CV%) ³		Liver ⁴ (CV%) ³	
0	2,32 ^b	(8,2)	1,61 ^c	(10,9)	1,87 ^{bc}	(7,8)
20	2,28 ^b	(10,1)	1,68 ^{bc}	(10,5)	1,84 ^{bc}	(8,4)
50	2,31 ^b	(10,0)	1,69 ^{bc}	(10,4)	1,68 ^d	(6,4)
100	2,37 ^b	(11,9)	1,69 ^{bc}	(9,6)	1,78 ^{cd}	(7,3)
200	2,37 ^b	(7,1)	1,80 ^b	(10,7)	1,81 ^{bcd}	(7,9)
500	2,62 ^a	(6,3)	2,03 ^a	(9,8)	1,96 ^b	(10,0)
1000	2,67 ^a	(11,7)	2,16 ^a	(14,6)	2,36 ^a	(12,2)
Probabilities of the F Test						
Regression	P=0.00		P=0.00		P=0.00	
Model	X=2.31+0.0004*AF		X=1.66+0.0004*AF		X=1.75+0.0005*AF	
Correlation	R=0.50		R=0.64		R=0.63	

* Each treatment was composed of 6 replicates cages (8 birds/cage).

** Each treatment was composed of 6 replicates cages (4 birds/cage).

^{a - d} Averages in column, with different letters are significantly different under Bonferroni's test (P≤0.05).

² Relative weight of gizzard (g/100g of body weight).

³ Coefficient of variation (%).

⁴ Relative weight of liver (g/100g of body weight).

TABLE 4 - Total protein and cholesterol levels in serum of turkey poultts poisoned with different doses of aflatoxins during 21 and 42 days of age*.

Afl ¹	21 days		42 days	
	Protein ² (CV%) ³	Cholesterol ⁴ (CV%) ³	Cholesterol ⁴ (CV%) ³	
0	5,67 ^a (12,0)	146,70 ^c (14,1)	92,64 ^b (14,0)	
20	4,46 ^b (10,4)	189,97 ^b (11,8)	81,13 ^b (24,3)	
50	4,30 ^b (9,4)	250,98 ^a (9,1)	88,87 ^b (23,4)	
100	3,81 ^{bc} (16,7)	117,40 ^d (10,1)	79,07 ^b (21,9)	
200	3,09 ^c (12,6)	180,13 ^b (12,0)	104,57 ^b (53,8)	
500	2,03 ^d (10,9)	95,81 ^d (13,3)	202,14 ^a (21,3)	
1000	0,99 ^e (58,9)	55,59 ^e (16,5)	190,53 ^a (29,7)	
Probabilities of the F Test				
Regression	P=0.00	P=0.00	P=0.00	
Model	X=4.57-0.004*AF	X=184.43-0.14*AF	X=85.25+0.13*AF	
Correlation	R= -0.87	R= -0.73	R=0.71	

* Ten samples were collected from each treatment.

¹ Afl: Aflatoxins dose used in the experiment (ppb);

^{a - e} Averages in column, with different letters are significantly different under Bonferroni's test (P≤0.05).

² Total Protein levels in serum (g/dL).

³ Coefficient of variation (%).

⁴ Cholesterol levels in serum (mg/dL).

4. CONCLUSÃO

1. A presença de aflatoxinas na dieta de perus de corte, durante os primeiros 42 dias de vida determina perdas significativas no desempenho destas aves.

2. Parâmetros como, consumo de ração e peso corporal são significativamente reduzidos nas aves que recebem aflatoxinas, sendo que esta redução é dependente da dose de toxina utilizada nas dietas.

3. Os parâmetros de bioquímica clínica afetados pela intoxicação são proteínas plasmáticas totais e colesterol total aos 21 dias de intoxicação e colesterol total aos 42 dias. Os demais parâmetros avaliados (albumina, ácido úrico, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina) não demonstram alterações significativas.

4. Moela (21 e 42 dias) e fígado (42 dias) são os órgãos que apresentam alterações nos pesos relativos em perus intoxicados com aflatoxinas. Os demais órgãos avaliados (coração e bursa de Fabricius) não têm seus pesos relativos afetados pela presença das aflatoxinas até 42 dias de vida.

5. Os pesos relativos de coxa+sobrecoxa e peito não são afetados pela presença de aflatoxinas na dieta de perus de corte até 42 dias de vida.

6. As alterações histológicas significativas ocorrem no fígado e na bursa de Fabricius das aves intoxicadas. Não são evidenciadas lesões histológicas nos rins das aves que recebem aflatoxinas.

7. A presença de aflatoxinas em doses iguais ou superiores a 200 ppb determina um maior índice de mortalidade em perus até 42 dias de vida.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAFÁ, A.S. et al. Susceptibility of various poultry species to dietary aflatoxin. **British Poultry Science**. v. 22, p. 431-436. 1981.

AVISITE, 2006. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/noticias/default.asp?codnoticia=7118>>. Acesso em: 12 set. 2006.

BINTVIHOK, A.; KOSITCHAROENKUL, S. Effect of dietary propionate on performance, hepatic enzyme activities and aflatoxin residues in broilers fed a diet containing low levels of aflatoxin B₁. **Toxicon**. v. 47, p. 41-46. 2006.

BORSA, A. **Variáveis hematológicas, bioquímicas e histopatológicas na interação das aflatoxicoses e doença infecciosa bursal em frangos de corte**. Botucatu, 2002. 144f. Tese (doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. 2002.

CAMPBELL T. W.; COLES E.H. Avian Clinical Pathology. In: COLES E.H. **Veterinary Clinical Pathology**. 4th ed. Philadelphia : Saunders, 1986. p.279-301.

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

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

DA SILVA, J. B. et al. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ during storage of Brazilian sorghum. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 48, p. 4352-4356. 2000.

DILKIN, P. **Intoxicação oral prolongada de suínos por aflatoxin B₁ e fumonisinas**. São Paulo, 2003. 130f. Tese (doutorado). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. 2003.

FERNANDEZ, A. et al. Changes in the prothrombin time, haematology and serum proteins during experimental aflatoxicosis in hens and broiler chickens. **Research in Veterinary Science**. v. 58, p. 119-122. 1995.

FUDGE, A. M. **Laboratory Medicine – Avian and Exotic Pets**. Philadelphia : Saunders, 2000. 467p.

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

GIAMBRONE, J. J. et al. Effects of aflatoxin on young turkeys and broiler chickens. **Poultry Science**. v. 64, p. 1678-1684. 1985a.

GIAMBRONE, J. J. et al. Effect of purified aflatoxin on turkey. **Poultry Science**. v. 64, p. 859-865. 1985b.

GOMPERTZ, O. F. et al. *Biologia dos Fungos*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 451-459.

HAMILTON, P.B.; TUNG, H. T.; HARRIS, J. R.; GAINER, J. H.; DONALDSON, W. E. The effect of dietary fat on aflatoxicosis in turkeys. **Poultry Science**. v. 51, p. 165-170. 1972.

HARR, K. E. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review. **Veterinary Clinical Pathology**. v. 31, p. 140-151. 2002.

HOERR, F. J. Mycotoxicoses. In: SAIF, Y. M. et al. **Diseases of Poultry**. 11th ed. Iowa : Iowa State Press, p. 1103-1132. 2003.

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

JOFFE, A. Z. Feeding tests with ducklings, turkey chicks and rabbits and the effects of aflatoxin on these animals. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**. v. 40, p. 49-61. 1970.

KLEIN, P. J.; VAN VLEET, T. R.; HALL, J. O.; COULOMBE, R. A. Dietary butylated hydroxytoluene protects against aflatoxicosis in turkeys. **Toxicology and Applied Pharmacology**. v. 182, p. 11-19. 2002.

LAMIC – Laboratório de Análises Micotoxicológicas, 2006. Disponível em: <<http://www.lamic.ufsm.br>>. Acesso em: 20 jul. 2006.

LANZA, G. M.; WASHBURN, K. W.; WYATT, R. D. Variation with age in response of broilers to aflatoxin. **Poultry Science**. v. 59, p. 282-288. 1980.

LEESON, S.; DIAZ, G.; SUMMERS, J. D. **Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins**. 1995. 352 p.

LILLEHOJ, E. B. Aflatoxin: an ecologically elicited genetic activation signal. In: SMITH, J. E.; HENDERSON, R. S. **Mycotoxins and animal foods**. CRC Press, Boca Raton, p. 119-139. 1991.

LUNA, G. C. **Manual of histologic staining methods of the armed forces**. Institut of Pathology. 3rd ed. New York : Mc Graw-Hill. p. 285. 1968.

MALLMANN, C. A. Micotoxinas e seus impactos na moderna avicultura. In: ENCONTRO TÉCNICO UNIFRANGO 3., 2006, Maringá. **Anais...** 2006. 1 CD-Rom.

MALLMANN, C. A.; RAUBER, R. H.; GIACOMINI, L. Factores de formacion de las micotoxinas y sus formas de control. SEMINÁRIO AVÍCOLA INTERNACIONAL 26., 2005, Paipa. **Anais...** 2005a. 1 CD-Rom.

MALLMANN, C. A.; RAUBER, R. H.; GIACOMINI, L. Control, monitoreo y manejo de micotoxinas en explotaciones avícolas. SEMINÁRIO AVÍCOLA INTERNACIONAL 26., 2005, Paipa. **Anais...** 2005b. 1 CD-Rom.

MALLMANN, C. A. et al. Automation of the analytical procedure for the simultaneous determination of aflatoxins Afb₁, Afb₂, Afg₂ and Afg₂. INTERNATIONAL IUPAC

SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS 10., Guarujá. **Proceedings...** Guarujá: Adolfo Lutz, 2000. p.35-35, 2000.

MALLMANN, C. A.; SANTURIO, J. M.; WENTZ, I. Aflatoxinas – Aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. **Ciência Rural**. v. 24, n. 3, p.635-643, 1994.

MERCOSUL. **Technical Regulations on Maximum Levels of Aflatoxins**. GMC/Res. N° 56/94. 1994.

MERKLEY, J. W.; MAXWELL, R. J. Hepatic fatty acid profiles in aflatoxin-exposed broiler chickens. **Poultry Science**. v. 66, p. 59-67. 1987.

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

NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9th ed. Washington: National Academy, 1994. 155p.

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, n.4, 1997. p. 417-424.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). **Criterios de salud ambiental 11: Micotoxinas**. México : OMS, 1983. 131 p.

OSBORNE, D. J.; HAMILTON, P. B. Decrease pancreatic digestive enzymes during aflatoxicoses. **Poultry Science**. v. 60, p. 1818-1822. 1981.

QUEZADA, T. et al. Effects of aflatoxin B₁ on the liver and kidney of broiler chickens during development. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 125, p. 265-272. 2000.

QUIST, C. F. et al. The effect of dietary aflatoxin on wild turkey poults. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 36, n. 3, p. 436-444. 2000.

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

SMITH, J. W.; HAMILTON, P. B. Aflatoxicosis in the broiler chickens. **Poultry Science**. v. 49, p. 207-215. 1970.

UBA – União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2005-2006, 2006. Disponível em <http://www.uba.org.br/ubanews_files/rel_uba_2005_06.pdf>. Acesso em 04 out. 2006.

WANG, J. S.; GROOPMAN, J. D. DNA damage by mycotoxins. **Mutation Research**. v. 424, p. 167-181. 1999.

WINDHORST, H. W. Changing regional patterns of turkey production and turkey meat trade. **World's Poultry Science Journal**. v. 62, p. 97-113. 2006.

WITLOCK, D. R.; WYATT, R. D. Effect of dietary aflatoxina on hemostasis of young turkey poults. **Poultry Science**. v. 60, p. 528-531. 1981.