

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

Diogo Liberalesso

**EFEITO DAS MICOTOXINAS NO ESTRESSE OXIDATIVO,
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS, MICROBIOTA CECAL E
MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE**

Santa Maria, RS
2021

Diogo Liberalesso

**EFEITO DAS MICOTOXINAS NO ESTRESSE OXIDATIVO, PARÂMETROS
BIOQUÍMICOS SÉRICOS, MICROBIOTA CECAL E MORFOMETRIA
INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência Animal**.

Orientador: Prof. Dr. Helton Fernandes dos Santos

Santa Maria, RS
2021

Liberalesso, Diogo
Efeito das Micotoxinas no Estresse Oxidativo,
Parâmetros Bioquímicos Séricos, Microbiota Cecal e
Morfometria Intestinal de Frangos de Corte / Diogo
Liberalesso.- 2021.
64 p.; 30 cm

Orientador: Helton Fernandes dos Santos
Coorientador: Sônia de Avila Botton
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2021

1. Micotoxinas 2. Frangos de corte I. Fernandes dos
Santos, Helton II. de Avila Botton, Sônia III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, DIOGO LIBERALESSO, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

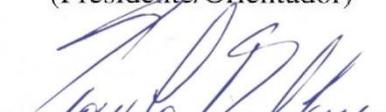
Diogo Liberalesso

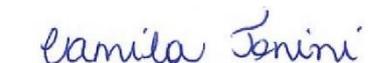
**EFEITO DAS MICOTOXINAS NO ESTRESSE OXIDATIVO,
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS, MICROBIOTA CECAL E
MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência Animal**.

Aprovado em 20 de agosto de 2021:


Helton Fernandes dos Santos
(Presidente/Orientador)


Paulo Dilkin Dr. (UFSM)


Camila Tonini Dra. (FASA)

Santa Maria, RS
2021

RESUMO

EFEITO DAS MICOTOXINAS NO ESTRESSE OXIDATIVO, PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS, MICROBIOTA CECAL E MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

AUTOR: Diogo Liberalesso

ORIENTADOR: Prof. Dr. Helton Fernandes dos Santos

Essa pesquisa buscou avaliar os efeitos tóxicos das principais micotoxinas de interesse na avicultura brasileira, trazendo em um único estudo a mensuração os efeitos tóxicos causados por aflatoxinas, fumonisinas, deoxinivalenol e toxina T-2 em frangos de corte, avaliando marcadores de danos oxidativos, bioquímica sérica, análise da microbiota cecal e morfometria jejunal. Foram utilizados 60 pintos, machos, mantidos de 1-28 dias de idade. Os animais foram dispostos aleatoriamente em 5 grupos, sendo: T1 (dieta basal, controle negativo), T2 (dieta basal + 2,8 mg.kg⁻¹ de aflatoxinas), T3 (dieta basal + 120 mg.kg⁻¹ de fumonisinas), T4 (dieta basal + 50 mg.kg⁻¹ de deoxinivalenol) e T5 (dieta basal + 3 mg.kg⁻¹ de toxina T-2). Foram realizadas as seguintes análises na bioquímica sérica: proteínas totais, albumina, ácido úrico, colesterol, triglicerídeos, cálcio, fósforo, alanino aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). No plasma dos frangos utilizados no estudo foram mensurados as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), proteína carbonilada (CARB) e a capacidade antioxidante total (TAC). Um fragmento de jejuno foi coletado para avaliação da altura das vilosidades e profundidade de criptas. Já do conteúdo cecal desses animais, foram feitos cultivos e contagem *Lactobacillus* spp. e coliformes totais. A presença de aflatoxinas na dieta das aves promoveu decréscimo nos níveis séricos de proteínas totais, albumina e colesterol. Fumonisinas promoveram aumento da atividade de AST. A adição de toxina T-2 na dieta dos frangos levou ao aumento da atividade de ALT e decréscimo nos níveis de proteínas totais. Deoxinivalenol não alterou os parâmetros bioquímicos no presente estudo e os níveis de ácido úrico e triglicerídeos não foram alterados com a presença das micotoxinas testadas nas dietas. A altura das vilosidades foi modificada com a presença de aflatoxinas e fumonisinas na ração e deoxinivalenol foi capaz de diminuir a profundidade de criptas e com isso alterar a relação vilosidade/cripta. Já, a contagem de coliformes totais no ceco das aves foi aumentada em todos os tratamentos contaminados com micotoxinas, entretanto a contagem de *Lactobacillus* spp. não foi alterada no presente estudo. O nível de TBARS e CARB no plasma dos animais não sofreu alteração com a presença de micotoxinas nas dietas, porém a TAC foi aumentada nos tratamentos com aflatoxinas e deoxinivalenol. Os dados obtidos no presente estudo mostram os efeitos micotoxinas sobre os parâmetros bioquímicos séricos, estresse oxidativo, bem como a capacidade desses metabólitos tóxicos de afetarem o intestino e interagir com a microbiota desse órgão.

Palavras-chave: Micotoxinas. Estresse Oxidativo. Microbiota Cecal. Bioquímica Sérica. Morfometria Intestinal.

ABSTRACT

EFFECT OF MYCOTOXINS ON OXIDATIVE STRESS, SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS, CECAL MICROBIOTA AND GUT MORPHOMETRY IN BROILERS CHICKENS

AUTHOR: Diogo Liberalesso

ADVISOR: Prof. Dr. Helton Fernandes dos Santos

This research aims to evaluate the toxic effects of the main mycotoxins of interest in the Brazilian poultry industry, drawing in a single study to measure the toxic effects caused by aflatoxins, fumonisins, deoxynivalenol and T-2 toxin in cutting strips, evaluating markers of biochemical damage serums, analysis of the cecal microbiota and jejuna morphometri. Sixty male chicks kept from 1-28 days of age were used. The animals were randomly divided into 5 groups: T1 (basal diet, negative control), T2 (basal diet + 2.8 mg.kg⁻¹ of aflatoxins), T3 (basal diet + 120 mg.kg⁻¹ of fumonisins), T4 (basal diet + 50 mg.kg⁻¹ deoxynivalenol) and T5 (basal diet + 3 mg.kg⁻¹ toxin T-2). The following analyzes were performed in serum biochemistry: total proteins, albumin, uric acid, cholesterol, triglycerides, calcium, phosphorus, alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). In the plasma of the poultrys used in the study, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), carbonyl protein (CARB) and total antioxidant capacity (TAC) were measured. A jejunum fragment was collected to assess the height of villi and crypt depth. From the cecal content of these animals, cultures and counting *Lactobacillus* spp. and total coliforms. The presence of aflatoxins in the diet of poultrys promoted a decrease in serum levels of total protein, albumin and cholesterol. Fumonisin promoted an increase in AST activity. The addition of T-2 toxin in the poultry diet led to an increase in ALT activity and a decrease in total protein levels. Deoxynivalenol did not change the biochemical parameters in the present study and uric acid and triglyceride levels were not altered with the presence of mycotoxins tested in the diets. The height of the villi was modified with the presence of aflatoxins and fumonisins in the feed and deoxynivalenol was able to decrease the depth of crypts and thus alter the villous/crypt ratio. The total coliform count in the cecum of birds was increased in all treatments contaminated with mycotoxins, however the count of *Lactobacillus* spp. was not changed in the present study. The level of TBARS and CARB in the animals' plasma did not change with the presence of mycotoxins in the diets, but the TAC was increased in treatments with aflatoxins and deoxynivalenol. The results show the effects of mycotoxins on serum biochemical parameters, oxidative stress, as well as the ability of these toxic metabolites to affect the intestine and interact with the microbiota of this organ.

Keywords: Mycotoxins. Oxidative Stress. Cecal Microbiota, Serum Biochemical. Gut Morphometry

LISTA DE TABELAS

4. ARTIGO

Tabela 1-	Valores de TBARS, CARB e TAC encontrados em frangos de corte intoxicados com micotoxinas	52
Table 2-	Valores da série bioquímica de frangos de corte submetidos a dietas contaminadas com micotoxinas.....	53
Tabela 3-	Avaliação da microbiota cecal de frangos submetidos a dietas com micotoxinas (valores expressos em \log_{10} UFC / g de conteúdo cecal).....	54
Tabela 4-	Efeito das micotoxinas na morfometria intestinal.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFB ₁	Aflatoxina B ₁
AFB ₂	Aflatoxina B ₂
AFG ₁	Aflatoxina G ₁
AFG ₂	Aflatoxina G ₂
AFs	Aflatoxinas
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CARB	Proteína Carbonilada
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DON	Deoxinivalenol
FAO	Food and Agriculture Organization
FB ₁	Fumonisina B ₁
FB ₂	Fumonisina B ₂
FUMO	Fumonisinias
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GPx	Glutationa peroxidase
IARC	International Agency for Research on Cancer
MDA	Malonaldeído
RNA	Ácido Ribonucleico
SA/SO	Relação esfinganina/esfingosina
SOD	Superoxido dismutase
TAC	Capacidade Antioxidante Total
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TEER	Resistência elétrica transepitelial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. MICOTOXINAS	11
2.1.1. Aflatoxinas.....	11
2.1.2. Fumonisinias	12
2.1.3. Deoxinivalenol.....	14
2.1.4. Toxina T-2	14
2.2. MICOTOXINAS E ESTRESSE OXIDATIVO	15
2.3. MICOTOXINAS E O INTESTINO	17
2.4. MICOTOXINAS, PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E LESÕES HISTOPATOLÓGICAS.....	21
3. ARTIGO	23
4. CONCLUSÃO	56
5. REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira ocupa um espaço de destaque no mercado internacional. Além disso existem perspectivas de aumento de consumo interno da carne de frango, uma importante fonte de proteína barata para a população. Por isso a realização de novos investimentos em tecnologia e pesquisa se tornam extremamente relevantes no cenário nacional e internacional.

Micotoxinas são substâncias tóxicas produzidas por fungos filamentosos a partir da ativação de seu metabolismo secundário. São compostos de baixo peso molecular, baixa capacidade imunogênica. As principais espécies fúngicas produtoras de micotoxinas pertencem aos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Alternaria*, entre outros. Esses fungos possuem ocorrência mundial e predominam em regiões de clima tropical e subtropical, onde seu crescimento é favorecido por condições ambientais, como temperatura e umidade (MALLMANN e DILKIN, 2007).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), cerca de 25% dos cereais produzidos no mundo apresentam contaminação por micotoxinas. A presença desses metabólitos tóxicos em grãos ocasiona um prejuízo estimado em 1 bilhão de toneladas por ano (FAO, 2015).

O trato gastrointestinal é a primeira barreira fisiológica contra esses agentes tóxicos presentes nos alimentos, os quais podem afetar potencialmente as funções intestinais (OSWALD, 2019). A mucosa intestinal atua como uma barreira seletiva, por um lado permitindo a passagem de água, eletrólitos e nutrientes para a circulação sistêmica e por outro inibindo a translocação de agentes e substâncias nocivas ao organismo do animal (WIJTEN et al., 2011). O consumo de alimentos contaminados por micotoxinas pode induzir a danos histológicos no tecido intestinal. Em suínos alimentados com dietas contaminadas são observadas lesões epiteliais, atrofia multifocal, fusão das vilosidades, vacuolização citoplasmática dos enterócitos e edema da lâmina própria (BRACARENSE et al., 2012).

A barreira gastrointestinal é dividida em componentes intrínsecos e extrínsecos, e ambos podem ser negativamente afetados pelas micotoxinas. A barreira intrínseca é composta pelas células epiteliais que revestem o trato digestivo e as junções de oclusão que as unem. As micotoxinas impactam negativamente no componente intrínseco da barreira intestinal através dos danos à integridade do epitélio intestinal e redução da renovação e reparo de células epiteliais (BOUHET; OSWALD, 2007; PINTON e OSWALD, 2014). Outro importante efeito das micotoxinas é o aumento da permeabilidade intestinal, ocasionando maior taxa de passagem de patógenos do lúmen intestinal para a circulação sistêmica (AKBARI, 2017). Esse fato pode elevar a suscetibilidade dos animais a diversas doenças infecciosas como, por exemplo, enterite necrótica induzida por *Clostridium perfringens* e infecções por coccidiose em frangos de corte (ANTONISSEN et al., 2014; GRENIER et al., 2016), e *Salmonella typhimurium* e colibacilose em suínos (OSWALD et al., 2003; VANDENBROUCKE et al., 2011).

Este estudo apresenta os resultados da ação das aflatoxinas, fumonisinas, deoxinivalenol e toxina T-2 em frangos de corte. Para isso, foram avaliados os efeitos desses agente tóxicos sobre os parâmetros bioquímicos sorológicos, microbiota cecal, histomorfometria jejunal, e marcadores de reações oxidativas no organismo dessas aves.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MICOTOXINAS

2.1.1. Aflatoxinas

As aflatoxinas (AFs) são micotoxinas de ocorrência natural, produzidas por *Aspergillus flavus*, *A. nominus* e *A. parasiticus* (RAWAL et al., 2010), sendo amplamente encontradas em matérias-primas de rações utilizadas para a produção de aves e suínos. Aproximadamente 20 aflatoxinas já foram descritas e quatro delas são mais comuns: Aflatoxina B₁ (AFB₁), Aflatoxina B₂ (AFB₂), Aflatoxina G₁ (AFG₁) e Aflatoxina G₂ (AFG₂). Sendo que dentre essas, a AFB₁ é a mais tóxica tendo propriedades hepatotóxicas, carcinogências e mutagências (DENG et al.,2018), sendo considerada carcinógeno classe I (IARC, 2012). Mallmann et al. (2017) encontraram uma positividade de 47% de AFs em amostras de milho analisadas no período de 2008 a 2017. A

contaminação média verificada foi de $9 \mu\text{g.kg}^{-1}$ e uma média de $19 \mu\text{g.kg}^{-1}$ considerando somente as amostras contaminadas.

Em especial são encontradas no milho e podem levar a quadros clínicos agudos ou crônicos de aflatoxicose nesses animais (BOCHIO et al., 2010). Estudos indicam que as AFs interferem na imunidade inata, humoral e celular, provocando depleção linfóide, falhas no desenvolvimento de órgãos linfóides como bursa de Fabricius e suprimindo a produção de anticorpos como imunoglobulinas (JIANG et al., 2015).

Ao atingir a circulação e chegar ao fígado, as aflatoxinas passam por um processo de biotransformação mediado por enzimas do citocromo P450 e essas reações são divididas em duas fases. A primeira fase consiste em reações de oxidação, incluindo epoxidação, redução e hidrólise, tendo como objetivo tornar a molécula de aflatoxina mais hidrofílica. Nesse momento são formados alguns metabólitos como aflatoxina M1 e Q1 que apresentam leve toxicidade e o 8,9-epóxido de aflatoxina, esse último altamente tóxico. Já na segunda fase os compostos produzidos na primeira fase são conjugados à substâncias endógenas como a glutatona e aminoácidos, com o objetivo de facilitar sua excreção (DENG et al., 2018). Durante a epoxidação ocorre a formação do composto 8,9-epóxido de aflatoxina, que possui alta toxicidade e tem a capacidade de realizar ligações covalentes com RNA, DNA e outras proteínas (ABRAR et al., 2013).

A toxicidade da aflatoxina B₁ (AFB₁) está associada à ligação do 8,9-epóxido de aflatoxina bioativado a macromoléculas como ácidos nucleicos e nucleoproteínas (BENNET e KLICH, 2003). No processo de biotransformação, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio, que reagem com o complexo lipídico das membranas celulares (KOHEN e NISKA, 2002) e causam a peroxidação lipídica, uma manifestação comum do dano oxidativo que desempenha um papel muito importante na toxicidade das aflatoxinas (GALVANO, 2001).

2.1.2. Fumonisin

As fumonisin formam um grupo de micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium* e *Alternaria*, sendo que linhagem do *F. moniliforme* é comprovadamente a maior produtora. Dentre as fumonisin somente a FB₁, FB₂ e FB₃, apresentam ocorrência e importância toxicológica relevante (MALLMANN e DILKIN,

2007). Sendo que a FB₁ constitui cerca de 70% do total de fumonisinas encontradas em cereais (DE LA TORRE-HERNÁNDEZ et al., 2014), enquanto a FB₂ e FB₃ representam respectivamente 20 e 10% das fumonisinas encontradas em amostras de campo (HOWARD et al., 2002). Essas micotoxinas ocorrem em diversos cereais, sobretudo no milho, em que apresentam concentrações capazes de induzirem intoxicações em diversas espécies (MALLMANN e DILKIN, 2007). A fumonisina B₁ (FB₁) foi classificada no grupo 2B da IARC como um possível cancerígeno em humanos, principalmente relacionada ao câncer de esôfago (IARC, 2002).

Mallmann et al. (2017) encontraram uma positividade de 81% em amostras de milho analisadas no período de 2008 a 2017. Os autores verificaram uma contaminação média de 1.990 µg.kg⁻¹ e uma média de 2.454 µg.kg⁻¹ considerando apenas as amostras contaminadas.

Quimicamente as fumonisinas são caracterizadas por possuir uma cadeia longa hidrocarbonada, semelhante àquela dos precursores esfingoides (esfinganina e esfingosina), presentes em células eucariontes (HUSSEIN e BRASEL, 2001). Os esfingolípídeos podem ser encontrados em todas células eucarióticas, sendo abundantes em membranas plasmáticas e nas membranas celulares relacionadas. Desempenham funções estruturais nas células e também fazem parte da sinalização e comunicação celular. O mecanismo de ação citotóxica da fumonisina ocorre por meio do bloqueio da síntese da enzima ceramida sintetase. Essa inibição enzimática conduz a um acúmulo de bases esfingoides, principalmente a esfinganina, o que exerce efeitos citotóxicos (DE CARVALHO, 2016).

Dessa forma, a alteração na relação esfinganina/esfingosina (SA/SO) é o biomarcador mais sensível à intoxicação por fumonisinas em várias espécies animais (VOSS et al., 2007). O bloqueio da biossíntese de esfingolípídeos e o acúmulo de esfinganina também se relacionam com o estresse oxidativo, peroxidação lipídica e necrose tecidual (SHIBAMOTO e BJELDANES, 2014). Rauber et al. (2013), relataram aumento da relação SA/SO em frangos de corte de 28 dias de idade, intoxicados com 100 mg.kg⁻¹ de fumonisinas.

A severidade dos sinais clínicos está associada à dose ingerida, tempo de exposição, espécie e condições nutricionais (PIERRON, 2016). Suínos e equinos são mais susceptíveis aos efeitos tóxicos das fumonisinas que a maioria das aves domésticas. Em frangos de corte pode ser observado diminuição do peso vivo, queda no consumo de

ração, aumento do peso relativo de fígado e necrose hepática (TESSARI, 2010). Outro efeito relevante exercido por fumonisinas está associado ao aumento de enzimas hepáticas como aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) devido ao dano aos hepatócitos e também alteração no nível de proteínas totais em animais intoxicados (RAUBER et al., 2013).

Fumonisinas podem ser consideradas como agentes imunotóxicos. A presença desses metabólitos pode estar associada ao decréscimo no peso de órgãos linfoides como bursa de Fabricius, baço e timo (CHENG et al., 2006).

2.1.3. Deoxinivalenol

O deoxinivalenol (DON) é produzido por fungos do gênero *Fusarium*. É o tricoteceno encontrado com maior prevalência em alimentos, destinados a animais em todo mundo. A adoção de boas práticas agrícolas pode diminuir, mas não evitar a contaminação de cereais por essa micotoxina, que representa um risco permanente para a saúde de animais e humanos (AWAD et al., 2019). A presença de DON nas dietas de frangos de corte e suínos pode afetar parâmetros zootécnicos, ocasionando a diminuição do ganho de peso, diminuição do consumo de ração e afetando a síntese proteica (PINTON e OSWALD, 2014).

A ingestão de DON normalmente resulta em uma série de sinais clínicos como vômito, diarreia, queda no consumo de ração e ganho de peso. O efeito da exposição de DON em diferentes espécies animal está relacionado com duração e dose ingerida. A exposição de DON pode comprometer as células intestinais por duas razões principais. Em primeiro lugar o epitélio intestinal é exposto diretamente a altas doses dessa micotoxina. Em segundo lugar, o epitélio intestinal é um tecido que apresenta rápida renovação e divisão celular, e essas células podem ser afetadas pela inibição da síntese proteica, ocasionada por essa micotoxina, gerando assim, uma taxa de mitose diminuída (GHAREEB et al., 2014). Esse fator pode resultar em falhas no mecanismo imunológico dos animais intoxicados, os deixando susceptíveis a infecções secundárias (ANTONISSEM et al., 2014).

2.1.4. Toxina T-2

A toxina T-2 pertence ao grupo dos tricotecenos do tipo A, sendo produzida por fungos do gênero *Fusarium*, principalmente o *F. sporotrichoides* (CHAUDHARI et al., 2009). Em frangos de corte, a presença dessa toxina está relacionada com decréscimo no ganho de peso e com lesões na cavidade oral dos animais intoxicados (WEBER et al., 2010).

Com relação ao seu metabolismo, a toxina T-2 apresenta um caráter lipofílico e pode ser absorvida imediatamente após sua ingestão, ou mesmo pelas vias respiratória e cutânea. A meia vida dessa micotoxina no plasma sanguíneo dos animais afetados geralmente é curta, podendo ser eliminada em até 48 horas após sua ingestão, dependendo da dose ingerida. Após o contato, essa toxina não se acumula em doses significativas nos órgãos (MACKEI et al., 2020).

2.2. MICOTOXINAS E ESTRESSE OXIDATIVO

Durante a respiração celular aeróbica, diversas espécies reativas de oxigênio (EROs) são geradas, como o peróxido de hidrogênio e o radical superóxido (RODRIGUES e GOMES, 2012). O organismo possui defesas naturais contra esses compostos, e enzimas como catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) atuam minimizando os efeitos tóxicos das EROs, visto que, a SOD é capaz de dismutar o radical superóxido em peróxido de hidrogênio e a catalase promove a transformação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. A atuação dessas enzimas vai neutralizar as EROs e minimizar os efeitos citotóxicos dessas moléculas (MARY et al., 2012). Porém, o estresse oxidativo surge quando a produção de EROs excede a capacidade das defesas antioxidantes do organismo, e com isso leva a danos nas proteínas, lipídios e DNA (HWANG e KIM, 2007).

A formação de EROs pode levar a danos nas macromoléculas celulares e como consequência desse estresse oxidativo, ocorre morte celular por meio de mecanismos apoptóticos e necróticos (WANG et al., 2016). O dano oxidativo aos lipídios presentes nas células do organismo irá induzir o aumento da peroxidação lipídica. A intensidade da peroxidação pode ser medida através da mensuração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O malonaldeído (MDA) faz parte do TBARS e é o aldeído mais abundante na peroxidação lipídica (ZHOU et al., 2015). Por outro lado, o dano oxidativo

a proteínas pode ser estimado realizando a mensuração de grupos carbonil, por meio de métodos espectrofotométricos (LEVINE et al., 2000).

A presença de micotoxinas na dieta podem promover o desbalanço entre sistema antioxidante do organismo dos seres vivos e a produção de espécies reativas de oxigênio. Essa ação citotóxica das micotoxinas pode levar ao estresse oxidativo e com isso predispor os animais a doenças infecciosas (THEUMER et al., 2010).

Estudos tem demonstrado que as aflatoxinas são capazes de inibir a enzima antioxidante GSH e aumentar a peroxidação lipídica no fígado de frangos de corte (MA, et al., 2015). A diminuição da expressão de GSH pode reduzir a capacidade hepática de conjugar metabólitos reativos e aumentar o dano causado por essas substâncias tóxicas (MA, et al. 2015). Taranu et al. (2019) comprovaram que adição de 300 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de aflatoxina à dieta de suínos foi capaz de aumentar os níveis plasmáticos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), indicando aumento da peroxidação lipídica e diminuindo a capacidade antioxidante total desses animais. Porém Sridhar et al. (2015) não observaram diferença significativa nos níveis de malonaldeído (MDA), que é um produto da peroxidação lipídica em aves tratadas com 1 mg.kg^{-1} de aflatoxina por 42 dias.

Kulanthai et al. (2012) comprovaram que as AFs são capazes comprometer capacidade antioxidante do organismo de ratos, promovendo decréscimo da atividade sérica das enzimas CAT, SOD e glutathione peroxidase (GPx), assim como queda nos níveis séricos de glutathione nos animais intoxicados. Migliorini et al. (2017) avaliaram o efeito de aflatoxinas na dieta de codornas, e concluíram que 200 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ desse metabólito tóxico é o suficiente para elevar os níveis séricos de TBARS e diminuir a quantidade sérica de proteínas totais e albumina no soro desses animais.

A citotoxicidade induzida por fumonisinas tem ganhado considerável atenção. Estudos realizados *in vitro* sugerem um papel importante dessas micotoxinas na geração de estresse oxidativo e consequente apoptose em células expostas à FB₁ (DOMIJAN et al., 2015; BERNABUCCI et al., 2011).

Poerch et al. (2014) observaram que a adição de 100 mg.kg^{-1} de FB₁ na dieta de frangos de corte é capaz de aumentar significativamente os níveis de MDA nesses animais, produto da peroxidação lipídica. Assim como, demonstraram acréscimo significativo na atividade da enzima CAT no fígado dos animais intoxicados.

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a defesa antioxidante endógena do organismo, o que leva à peroxidação

lipídica, oxidação de proteínas, danos ao DNA e consequente apoptose (ESTÉVEZ, 2018). Micotoxinas como o DON podem promover o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), assim induzir peroxidação lipídica, alterar status antioxidante e a integridade das membranas celulares. Isso irá aumentar a apoptose e afetar a saúde das aves de produção (MISHRA e JHA, 2019).

Avaliando os efeitos oxidativos de DON, Awad et al. (2014) observaram que 10 mg.kg⁻¹ dessa toxina é capaz de aumentar significativamente o nível de TBARS no jejuno de frangos de corte. Porém não constataram incremento do nível de TBARS no plasma e duodeno desses mesmos animais, indicando que a mucosa jejunal é mais sensível à toxicidade induzida por DON. Da mesma forma de Souza et al. (2020) mostraram um aumento nos níveis de TBARS e diminuição de GSH no jejuno de frangos intoxicados com 19,3 mg.kg⁻¹ de DON. Esse aumento da peroxidação lipídica pode afetar algumas organelas, como a mitocôndria levando à apoptose (SILVA et al., 2018.)

As proteínas são alvos constantes das EROs e que a carbonilação causa uma importante modificação da estrutura e função da proteína, podendo levar à proteólise (MISHRA et al. 2014). Porém, Holanda e Kim (2020) não observaram diferença significativa nos níveis de proteína carbonilada (CARB) no jejuno de leitões intoxicados com 2 mg.kg⁻¹ de DON.

Tricotecenos como a Toxina T-2 são compostos tóxicos capazes de promover aumento da produção de EROs, e com isso aumentar a peroxidação lipídica e prejudicar o equilíbrio antioxidante do organismo (WU et al., 2014). Essa micotoxina promoveu um aumento da concentração hepática de MDA em frangos de corte suplementados com 1,5 mg.kg⁻¹ com apenas 7 dias de ingestão dessa toxina e também ocasionou um decréscimo do nível de glutatona nesses animais, o que reitera a ação da toxina T-2 sobre o sistema antioxidante do organismo (Leal et al., 1999). Da mesma forma, Yin et al. (2020) também observaram aumento nos níveis de MDA e decréscimo na atividade de SOD, CAT e GSH-Px no tecido hepático de frangos alimentados com 2 mg.kg⁻¹ de toxina T-2.

2.3. MICOTOXINAS E O INTESTINO

O trato gastrointestinal é a primeira barreira fisiológica contra esses agentes tóxicos presentes nos alimentos, os quais podem afetar potencialmente as funções intestinais (OSWALD, 2019). A mucosa intestinal atua como uma barreira seletiva, por

um lado permitindo a passagem de água, eletrólitos e nutrientes para a circulação sistêmica e por outro inibindo a translocação de agentes e substâncias nocivas ao organismo do animal (WIJTEN et al., 2011). O consumo de alimentos contaminados por micotoxinas pode induzir a danos histológicos no tecido intestinal. Em suínos alimentados com dietas contaminadas são observadas lesões epiteliais, atrofia multifocal, fusão das vilosidades, vacuolização citoplasmática dos enterócitos e edema da lâmina própria (BRACARENSE et al., 2012).

Outro importante efeito das micotoxinas é o aumento da permeabilidade intestinal, ocasionando maior taxa de passagem de patógenos do lúmen intestinal para a circulação sistêmica (AKBARI, 2017). Isso aumenta a suscetibilidade dos animais a diversas doenças infecciosas como, por exemplo, enterite necrótica induzida por *Clostridium perfringens* e coccidiose em frangos de corte (ANTONISSEN et al., 2014b; GRENIER et al., 2016), *Salmonella typhimurium* e colibacilose em suínos (OSWALD et al., 2003; VANDENBROUCKE et al., 2011).

A microbiota do intestino de aves representa um conjunto de microrganismos, nos quais estão incluídos bactérias, fungos e vírus (HOLMES et al., 2011). Esses agentes desempenham papel fundamental na saúde intestinal, podendo auxiliar no metabolismo de componentes da dieta (JANDHYALA et al., 2015), ou mesmo modulando a população de microrganismos patogênicos por meio da exclusão competitiva, promovendo assim, proteção do hospedeiro contra infecções (DONALDSON et al., 2016).

O número e a composição da microflora intestinal varia consideravelmente entre os segmentos intestinais. O ceco é considerado como o segmento que abriga a maior quantidade de microrganismos em todo trato gastrointestinal. O desequilíbrio entre bactérias benéficas e nocivas ao intestino é denominado de disbiose. Quando isso ocorre pode haver redução ou até mesmo ausência de algumas colônias de bactérias, enquanto outras se encontram abundantes, fato que pode promover inflamação da mucosa intestinal (VICUÑA et al. 2015).

Com relação à aflatoxina, a maioria dos estudos se concentra em investigar seus efeitos hepatotóxicos e imunotóxicos. Poucos estudos foram realizados para avaliar o efeito das AFs sobre a permeabilidade intestinal. YUNUS et al. (2010), investigaram o efeito da aflatoxina por meio de uma avaliação *in vitro*, e concluíram que essa micotoxina só pode afetar o epitélio intestinal em exposições agudas.

Os estudos relacionando as aflatoxinas ao dano da integridade intestinal são muito contraditórios. Galarza-Seeber et al. (2016) constataram que a AFB₁ não é capaz de promover aumento na permeabilidade intestinal, porém esse metabólito tóxico é capaz de aumentar o número de bactérias Gram-negativas no ceco de frangos de corte desafiados com 2 mg.kg⁻¹ de AFB₁. Por outro lado, Chen et al. (2016) evidenciaram que 1,5 mg.kg⁻¹ de AFB₁ é capaz de promover aumento da permeabilidade intestinal de frangos de corte, porém não impactou a altura das vilosidades e profundidade de criptas.

Utilizando uma dose de 40 µg.kg⁻¹ Liu et al. (2017) verificaram que a AFB₁ não é capaz de alterar a microbiota ileal de frangos de corte, não mostrando alteração na contagem de *E.coli* e *Lactobacillus spp.* no intestino desses animais. Poloni et al. (2020) observaram que a adição de 100 µg.kg⁻¹ de aflatoxinas na dieta de frangos de corte foi capaz de causar danos no intestino. Nesse estudo a altura das vilosidades e a área absorptiva total foi significativamente menor, em comparação com o grupo controle, sem a adição de aflatoxinas.

Diversos estudos têm demonstrado o comprometimento da barreira intestinal induzido por fumonisinas. Bouhet et al. (2004) avaliaram o efeito de FB₁ sobre uma linhagem celular epitelial intestinal de suínos (IPEC-1), onde constaram que essa micotoxina foi capaz de reduzir a resistência elétrica transepitelial (TEER), promovendo um bloqueio da proliferação de células intestinais. De modo geral, a presença de fumonisinas no intestino pode aumentar a apoptose celular e danificar a barreira, aumentando a permeabilidade intestinal (LIEW e MOHD-REDZWAN, 2018).

Antonissen et al. (2014) concluíram que a presença de 20 mg.kg⁻¹ de fumonisinas na dieta de frangos de corte pode diminuir a altura das vilosidades e profundidade de criptas intestinais. Também podem promover uma mudança na microbiota intestinal, induzindo a proliferação de *Clostridium perfringens* e predispondo as aves intoxicadas a desenvolver quadros de enterite necrótica. Seguindo a mesma linha de pesquisa, OSWALD et al. (2003) comprovaram que a presença de FB₁ na dieta de suínos pode promover aumento da translocação de *E. coli* patogênica do lúmen intestinal para a circulação sistêmica. Esses resultados evidenciam o efeito negativo de fumonisinas sobre a mucosa intestinal, reduzindo a renovação celular e consequentemente afetando a absorção de nutrientes.

A FB₁ pode induzir redução no número de células intestinais devido à diminuição da proliferação celular associado ao aumento apoptótico e diminuição da TEER. Dietas

contaminadas com essa micotoxina podem levar à atrofia e fusão das vilosidades e provocar um decréscimo da expressão da proteína de adesão do intestino como E-caderina. Bracarense et al. (2012) concluíram que FB_1 na dose de 6 mg.kg^{-1} pode reduzir significativamente os níveis de ocludina no intestino de suínos intoxicados, e quando associada ao deoxinivalenol é capaz e reduzir a E-caderina nesses animais. Esse fato eleva a proliferação de bactérias oportunistas no intestino e aumenta a translocação para os órgãos (BASSO et al., 2013). De Angelis et al. (2005) testaram o efeito de fumonisinas utilizando células caco-2 e concluíram que essa micotoxina pode diminuir a TEER com apenas seis horas de exposição. Ainda sobre a mucosa intestinal, a presença de fumonisinas na dieta pode causar uma série de lesões nas células como necrose apical do vilo intestinal, vacuolização citoplasmática de enterócitos e edema da lâmina própria. Sabe-se que a produção de muco pelas células caliciformes desempenha um papel fundamental para a proteção da integridade das células intestinais. Estudos sugerem a presença de fumonisinas pode ocasionar alteração na contagem de células caliciformes (BRACARENSE et al., 2012).

Outros parâmetros a serem avaliados em casos de intoxicação de aves por FB_1 são a mensuração da altura das vilosidades e profundidade de criptas. Antonissen et al. (2015) evidenciaram que a presença de fumonisinas na dieta de frangos de corte foi capaz de reduzir significativamente a altura das vilosidades e profundidade de criptas no íleo. Porém no presente estudo a relação vilosidade/cripta não foi alterada. Já Rauber et al. (2013) puderam observar alteração na relação vilosidade/cripta em frangos intoxicados com 200 mg.kg^{-1} de fumonisinas.

Se tratando de DON, diversos estudos têm demonstrado o efeito tóxico causado por essa toxina no epitélio intestinal, evidenciando efeitos como aumento da permeabilidade e translocação bacteriana, impacto na proliferação e diferenciação celular e modulação na capacidade imunológica da mucosa intestinal (CHEAT, 2016; AWAD, 2019; PINTON; OSWALD, 2014; BROOM, 2015).

As células epiteliais intestinais são expostas à DON logo após sua ingestão. Wu et al. (2018) constataram que a presença de 10 mg.kg^{-1} de DON na dieta de frangos de corte com 21 dias de idade foi capaz de promover diminuição da altura de vilosidades e aumento da profundidade de criptas no duodeno dos animais intoxicados. Nesse mesmo estudo os autores investigaram a expressão das proteínas de junção claudina-1 e ocludina e concluíram que a ingestão de 10 mg.kg^{-1} de DON é capaz de diminuir significativamente a expressão dessas proteínas no jejuno de frangos intoxicados, o que pode aumentar a

permeabilidade desse órgão. Da mesma forma Yunus et al. (2012) concluíram que frangos intoxicados com 12,2 mg.kg⁻¹ de DON apresentaram diminuição na altura de vilosidades após duas semanas de exposição. Nesse mesmo estudo parâmetros como altura e largura de vilosidades e profundidade de criptas no jejuno não foram afetados. Seguindo a mesma linha de pesquisa, Osselaere et al. (2013) avaliaram o efeito de DON no intestino de frangos de corte, e concluíram que 7,5 mg.kg⁻¹ dessa micotoxina pode promover alterações na altura das vilosidades e profundidade de criptas no duodeno e jejuno desses animais.

Uma possível explicação para esses achados histológicos é que DON pode provocar um efeito irritante na mucosa ou suprimir a síntese proteica por meio do bloqueio da enzima Peptidil-transferase (AWAD et al. 2008), e com isso diminuir a mitose das células intestinais. As células maduras vão migrando para o topo da vilosidade e se diferenciando, e DON pode ser responsável por uma proliferação celular reduzida (OSSELAERE et al., 2013a).

Outro efeito importante da exposição do intestino à DON é a mudança na microbiota desse órgão. Danos à mucosa do duodeno e jejuno podem modificar o fluxo de nutrientes e como consequência alterar a composição da microbiota cecal (LUCKE et al., 2018). Em frangos, a presença dessa micotoxina na dieta pode elevar a contagem de *E. coli* no jejuno e ceco desses animais. Além disso, a contagem dessa bactéria pode estar aumentada no baço e fígado de frangos expostos à DON, o que sugere alterações provocadas por esse metabólito tóxico na permeabilidade intestinal (AWAD et al., 2019).

Já, quando avaliamos a ação da toxina T-2 no organismo das aves, podemos afirmar que essa toxina também pode trazer danos ao intestino dos animais. Verificando o desempenho de perus, frente ao desafio com 982 µg.kg⁻¹ de toxina T-2, Sklan et al. (2003) observaram diminuição na altura e largura de vilosidades no duodeno e jejuno dos animais intoxicados.

2.4. MICOTOXINAS, PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E LESÕES HISTOPATOLÓGICAS

O fígado é considerado o órgão alvo para a maioria das micotoxinas e alterações nesse órgão podem refletir em mudanças nos metabólitos sorológicos, como proteínas totais, albumina e também na atividade sérica de algumas enzimas como AST e ALT. A lesão hepática se dá pela tentativa de detoxificação do organismo dos animais acometidos.

Essas modificações no perfil bioquímico podem servir como indicador da presença desses metabólitos tóxicos nas dietas de frangos de corte (ALI RAJPUT et al., 2017).

Sridhar et al. (2015) constataram um aumento da atividade sérica das enzimas AST e ALT em aves intoxicadas com 1 mg.kg^{-1} de aflatoxina, visto que o fígado é o principal órgão alvo dessa micotoxicose e pode haver comprometimento do tecido hepático, e com isso elevar a atividade sérica dessas enzimas. Nesse mesmo estudo, os autores evidenciaram queda no nível de proteínas totais e albumina em aves intoxicadas, assim como decréscimo na quantidade sérica de colesterol.

Outra preocupação importante em respeito as aflatoxinas, são seus efeitos sobre os órgãos linfoides dos animais intoxicados. A bursa de Fabricius é um órgão linfoide primário, que desempenha a função de maturação de Linfócitos B nas aves. A presença de aflatoxinas na dieta de frangos pode prejudicar o desenvolvimento desse órgão, promovendo aumento da infiltração de células inflamatórias e depleção linfoide, assim diminuindo o peso relativo dessa estrutura e prejudicando a resposta imune da ave (GUO, et al., 2020).

Tricotecenos como deoxinivalenol e a toxina T-2 são potentes inibidores da síntese proteica, podendo afetar tecidos com maior divisão celular, como é o caso do fígado e intestino (OSSELAERE et al., 2013b). A inibição da síntese proteica ocorre por meio ligação com consequente do bloqueio da enzima peptidil-transferase. Com isso a toxina T-2 é capaz de inibir a síntese de DNA e RNA e interferir na síntese de fosfolípídios de membrana (LI et al., 2011).

Yang et al. (2016) comprovaram que essa micotoxina é capaz de elevar a atividade plasmática das enzimas ALT e AST em frangos intoxicados com 4 mg.kg^{-1} . Porém nesse mesmo estudo, esses parâmetros não foram afetados quando administrada uma dose de 1 e 2 mg.kg^{-1} . Os autores também constataram que a dose de 2 mg.kg^{-1} foi capaz de provocar decréscimo nos níveis plasmáticos de proteínas totais desses animais.

Na tentativa de correlacionar os efeitos de toxina T-2 com alteração em parâmetros bioquímicos, Singh et al. (2020) fizeram a mensuração de proteínas totais, colesterol e ácido úrico de frangos intoxicados com $200 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ dessa toxina e observaram diminuição significativa nos níveis séricos de proteínas totais e colesterol e aumento do ácido úrico no soro desses animais.

3. ARTIGO

EFEITO DAS MICOTOXINAS NO ESTRESSE OXIDATIVO, PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS, MICROBIOTA CECAL E MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

D. Liberalesso, A. L. Veronese, B. R. Schavetock, D. Wissmann, G. V.
Folletto, P. Dilkin, S. A. Botton e H. F. Santos

(Artigo submetido à revista *Acta Scientiae Veterinariae*)

TÍTULO

Efeito das Micotoxinas no Estresse Oxidativo, Parâmetros Bioquímicos Séricos, Microbiota Cecal e Morfometria Intestinal de Frangos de Corte

Effect of Mycotoxins on Oxidative Stress, Serun Biochemical Parameters, Cecal Microbiota and Gut Morphometry in Broilers Chickens

Diogo Liberalesso¹, Arian Luis Veronese¹, Bruno Ruberto Schavetock¹, Daiani Wissmann¹, Gabriela Vidal Folletto¹, Paulo Dilkin¹, Sônia de Avila Botton¹,

Helton Fernandes dos Santos¹

¹Laboratório Central de Diagnóstico em Patologias Aviárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. CORRESPONDENCE: Santos,

H. F.

lcdpa.ufsm@gmail.com - Tel.: +55(55) 32208072] Avenida Roraima n. 1000, prédio 44, sala 5151. CEP 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil.

RESUMO

Background: Na avicultura, as micotoxinas são alvo de constante preocupação, pois trazem prejuízos, diminuindo a produção e comprometendo a sanidade dos plantéis avícolas. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos tóxicos causados por aflatoxinas,

fumonisinias, deoxinivalenol e toxina T-2 em frangos de corte, avaliando marcadores de danos oxidativos, bioquímica sérica, morfometria intestinal e análise da microbiota cecal.

Materials, Methods & Results: Foram utilizados 60 frangos, machos, mantidos de 1-28 dias de idade, distribuídos aleatoriamente em 5 grupos, sendo: T1 (dieta basal, controle negativo), T2 (dieta basal + 2,8 mg.kg⁻¹ de aflatoxinas), T3 (dieta basal + 120 mg.kg⁻¹ de fumonisinias), T4 (dieta basal + 50 mg.kg⁻¹ de deoxinivalenol) e T5 (dieta basal + 3 mg.kg⁻¹ de toxina T-2). Foram realizadas análises na bioquímica sérica: proteínas totais, albumina, ácido úrico, colesterol, triglicerídeos, cálcio, fósforo, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST); cultivos e contagem de coliformes totais e *Lactobacillus* spp. no ceco desses animais; medição da altura das vilosidades e profundidade de criptas jejunais e, por fim, mensurados a capacidade antioxidante total (TAC), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e proteína carbonilada (CARB). A presença de aflatoxinas na dieta das aves promoveu decréscimo nos níveis séricos de proteínas totais, albumina e colesterol ($P < 0,05$). Fumonisinias promoveram aumento da atividade de AST ($P < 0,05$). A adição de toxina T-2 na dieta dos frangos promoveu aumento da atividade de ALT e decréscimo nos níveis de proteínas totais ($P < 0,05$). Deoxinivalenol não alterou os parâmetros bioquímicos no presente estudo e os níveis de ácido úrico e triglicerídeos não foram alterados com a presença das micotoxinas nas dietas. O grupo de aves que receberam aflatoxinas e fumonisinias apresentaram menor altura das vilosidades jejunais ($P < 0,05$) e deoxinivalenol foi capaz de diminuir a profundidade das criptas na região do jejuno ($P < 0,05$). A contagem de coliformes totais no ceco das aves foi aumentada em todos os tratamentos contaminados com micotoxinas ($P < 0,05$), entretanto a contagem de *Lactobacillus* não foi alterada ($P > 0,05$). O nível de TBARS e CARB no plasma dos animais não sofreu alteração com a presença de

micotoxinas nas dietas ($P > 0,05$), porém a TAC foi aumentada nos tratamentos com aflatoxinas e deoxinivalenol ($P < 0,05$).

Discussion: De acordo com a literatura, a presença de micotoxinas na avicultura implica em uma série de efeitos tóxicos, imunossupressão e conseqüentemente afetando a produtividade dos animais. Estudos têm observado os efeitos das micotoxinas em parâmetros bioquímicos, concluindo que aflatoxinas, fumonisinas e tricotecenos possuem capacidade de bloquear a síntese proteica, afetar as funções hepáticas e elevar a atividade sérica de enzimas, indicando dano neste órgão, corroborando com nosso estudo. Ao mesmo tempo as micotoxinas são capazes de interagir com a microbiota intestinal, promovendo alterações importantes na composição e função dos microrganismos presentes no intestino, assim como afetar o desenvolvimento desse órgão. Conforme resultados do nosso estudo, as micotoxinas estão envolvidas na indução de estresse oxidativo, sendo que um dos mecanismos de toxicidade desses compostos ocorre pela formação de espécies reativas de oxigênio, as quais podem promover lesões nos tecidos do organismo, promover aumento de compostos marcadores de peroxidação lipídica como o TBARS e alterar o sistema antioxidante do organismo.

Palavras-chave: Micotoxinas, estresse oxidativo, microbiota cecal, bioquímica sérica, morfometria intestinal.

Abstract

Background: In poultry farming, mycotoxins are a constant concern, as they cause losses, reducing production, and compromising the health of poultry flocks. This study aimed to evaluate the toxic effects caused by aflatoxins, fumonisins, deoxynivalenol, and T-2 toxin in broiler chickens, evaluating markers of oxidative damage, serum biochemistry, intestinal morphometric, and analysis of the cecal microbiota.

Materials, Methods & Results: Sixty male poultrys kept from 1-28 days of age were used, randomly distributed into 5 groups: T1 (basal diet, negative control), T2 (basal diet + 2.8 mg.kg⁻¹ of aflatoxins), T3 (basal diet + 120 mg.kg⁻¹ fumonisins), T4 (basal diet + 50 mg.kg⁻¹ deoxynivalenol) and T5 (basal diet + 3 mg.kg⁻¹ toxin T-2). Serum biochemistry analyzes were performed: total proteins, albumin, uric acid, cholesterol, triglycerides, calcium, phosphorus, alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST); cultures and counting of total coliforms and *Lactobacillus* spp. In the cecum of these animals; measurement of the height of the villi and depth of jejuna crypts and, finally, the total antioxidant capacity (TAC), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and carbonyl protein (CARB) were measured. The presence of aflatoxins in the diet of poultrys promoted a decrease in serum levels of total protein, albumin, and cholesterol ($P < 0.05$). Fumonisin promoted an increase in AST activity ($P < 0.05$). The addition of T-2 toxin to the poultry diet promoted an increase in ALT activity and a decrease in total protein levels ($P < 0.05$). Deoxynivalenol did not change the biochemical parameters in the present study, and uric acid and triglyceride levels were not altered with the presence of mycotoxins in the diets. The group of poultrys that received aflatoxins and fumonisins had a lower height of the jejuna villi ($P < 0.05$) and deoxynivalenol was able to decrease the depth of the crypts in the jejunum region ($P < 0.05$). The total coliform count in the cecum of the poultrys was increased in all treatments contaminated with mycotoxins ($P < 0.05$), however, the *Lactobacillus* count was not changed ($P > 0.05$). The level of TBARS and CARB in the plasma of the animals did not change with the presence of mycotoxins in the diets ($P > 0.05$), but the TAC was increased in treatments with aflatoxins and deoxynivalenol ($P < 0.05$).

Discussion: According to the literature, the presence of mycotoxins in poultry farming implies a series of toxic effects, immunosuppression, and consequently the productivity

of animals. Studies have observed the effects of mycotoxins on biochemical parameters, concluding that aflatoxins, fumonisins, and trichothecenes can block synthetic protein, affecting liver functions and increasing serum enzyme activity, causing damage to this organ, corroborating our study. At the same time, like mycotoxins, they can interact with the intestinal microbiota, promoting important changes in the composition and function of microorganisms present in the intestine, as well as affecting the development of this organ. According to the results of our study, mycotoxins are involved in the induction of oxidative stress, and one of the toxicity components composed by the formation of reactive oxygen species, which can promote effects on the body's tissues, promote an increase in compounds of lipid peroxidation such as TBARS and alter the body's antioxidant system.

Keywords: Mycotoxins, oxidative stress, cecal microbiota, serum biochemical, gut morphometry

INTRODUÇÃO

Micotoxinas são substâncias tóxicas produzidas por fungos filamentosos a partir da ativação de seu metabolismo secundário [4]. As principais espécies fúngicas produtoras de micotoxinas pertencem aos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, [42]. A presença em excesso dessas toxinas na dieta de frangos causa prejuízos econômicos, diminuindo a produção e comprometendo a sanidade dos plantéis avícolas [15].

Um importante mecanismo citotóxico das micotoxinas envolve a geração de radicais livres [54]. O desequilíbrio entre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e as defesas antioxidantes do organismo pode causar danos a lipídios, proteínas

e provocar alterações no DNA dos animais afetados [66]. Diversos estudos têm demonstrado a indução de estresse oxidativo por micotoxinas [43,39,29,41]. Além disso, as micotoxinas podem inibir a síntese proteica, e alterar parâmetros bioquímicos séricos dos animais afetados [36].

O trato gastrointestinal é a primeira barreira fisiológica contra esses agentes tóxicos presentes nos alimentos, os quais podem afetar potencialmente as funções intestinais [3] podendo induzir a danos histológicos nesse tecido [13]. Outro efeito da exposição do intestino à micotoxinas é a mudança na microbiota desse órgão. Danos à mucosa podem modificar o fluxo de nutrientes e com isso alterar a composição da microbiota cecal [40].

O objetivo desse estudo foi avaliar os danos causados pelas principais micotoxinas de interesse na avicultura: aflatoxinas, fumonisinas, deoxinivalenol e toxina T-2. Avaliou-se parâmetros bioquímicos séricos, morfometria intestinal, contagem e caracterização da microbiota cecal e marcadores de estresse oxidativo no plasma de frangos de corte intoxicados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Design experimental e alojamento das aves

Foram utilizados 60 pintos da linhagem Cobb 500, machos, com 1 dia de idade, mantidos até os 28 dias de idade. Os animais foram dispostos aleatoriamente em 5 grupos, com 12 animais cada (duas repetições com 6 animais cada) de acordo com a presença de micotoxinas na dieta. Sendo T1 (dieta basal, controle negativo), T2 (dieta basal + 2,8 mg.kg⁻¹ de aflatoxinas), T3 (dieta basal + 120 mg.kg⁻¹ de fumonisinas), T4 (dieta basal + 50 mg.kg⁻¹ de deoxinivalenol) e T5 (dieta basal + 3 mg.kg⁻¹ de toxina T-2). Os animais foram alojados em gaiolas experimentais com 0,25m² de área. Cada gaiola contém um

comedouro tipo calha e um bebedouro tipo *nipple*. O experimento foi conduzido dentro de salas com temperatura controlada e exaustor para troca de ar. A temperatura da sala foi mantida conforme a exigência da linhagem, 1 dia (32-33°C), 2-7 dias (29-30°C), 8-14 dias (27-28°C), 15-21 dias (24-26°C) e 22-28 dias (21-23°C) a iluminação utilizada (42 lux) foi contínua durante todo período experimental.

Dietas experimentais

Todos os frangos receberam dieta e água *ad libitum*, sendo dieta a base de milho e farelo de soja fornecida em três fases: dieta inicial (0-8 dias), dieta de crescimento I (9-18 dias) e crescimento II (19-28 dias). As micotoxinas utilizadas no experimento foram oriundas partir de cultivo de cepas dos fungos *Aspergillus parasiticus* (aflatoxinas), *Fusarium moniliforme* (fumonisinas), *Fusarium graminearum* (deoxinivalenol) e *Fusarium sporotrichioides* (toxina T-2) conforme (ISMAEL & PAPENBROCK, 2015) [31].

Estresse oxidativo

Para mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), proteína carbonilada (CARB) e capacidade antioxidante total (TAC), o sangue foi coletado das aves com 28 dias de idade da veia jugular em tubos com heparina, e posteriormente centrifugado a 3500 g para obtenção de sua fração líquida. O plasma foi separado em microtubos e congelado a -20° C até o momento das análises. Os testes de TBARS, CARB e TAC foram realizados seguindo a metodologia de Ohkawa et al., (1979), Joshi et al., (2006) e Lee et al., (2017) respectivamente [44,34,37]. Para essas análises foram utilizados os kits comerciais: Sigma-Aldrich^{®1}, Bio-Rad Laboratories^{®2} e Life

Technologies^{®3}. O leitor de microplacas usado nos testes foi o EZ Read 200 (Biochrom[®])⁴.

Série bioquímica

Para realizar as análises bioquímica clínicas, coletou-se sangue em tubos com gel formador de coágulo, aos 28 dias de idade das aves, por punção da veia jugular. Posteriormente foi centrifugado a 3500 g para obtenção de sua fração líquida. O soro foi separado e armazenado em freezer a -20°C até o momento dos testes. Foram mensurados por espectrofotometria os níveis séricos de proteínas totais, albumina, ácido úrico, colesterol total, triglicerídeos, cálcio, fósforo e verificada a atividade enzimática de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Todos os testes utilizaram kits comerciais Labtest Diagnóstica^{®5}. O espectrofotômetro utilizado foi um modelo semiautomático (Bio-200L[®])⁶.

Contagem da microbiota cecal

Após 28 dias, 12 aves por tratamento foram eutanasiadas por deslocamento cervical e seus intestinos expostos. O ceco foi coletado de forma asséptica e transferido para uma embalagem estéril até o laboratório. Realizou-se contagem de *Lactobacillus* spp. e coliformes totais. Para isso, foi coletado 1 g de conteúdo cecal, diluído em 9 mL de solução salina 0,85% estéril e homogeneizado por 3 minutos. Posteriormente realizou-se diluições na série de 10⁻¹ a 10⁻⁶ e 0,1mL dessas e semeadas em duplicatas em meios seletivos para *Lactobacillus* spp. e coliformes; Man Rogosa Sharpe (Kasvi[®])⁷ e MackConkey (Merck Millipore[®])¹, respectivamente. As culturas foram incubadas a 37°C por 24 horas para contagem de coliformes. Para a determinação de *Lactobacillus* spp. as amostras foram incubadas em anaerobiose a 37°C por 48 horas para posterior contagem

das colônias [8]. Os valores das contagens bacterianas foram expressos em \log_{10} UFC/g de conteúdo cecal conforme (CALIK et al., 2017) [17].

Morfologia intestinal

A morfologia intestinal foi realizada a partir de porções do jejuno e fixadas em formaldeído 10% por 48 horas. Em seguida, esses segmentos intestinais foram desidratados e embebidos em parafina. Cada bloco de parafina foi cortado em seções de 5 μ m de largura e colocados em lâmina de vidro. Posteriormente esses cortes foram corados com hematoxilina e eosina e avaliados com microscópio da marca (Opticam Microscopy Technology[®])⁸, modelo O500R FLUO. Para a mensuração da altura de vilosidades e profundidade de criptas foram avaliados 5 vilos por amostra por meio do software OPTHD (Opticam Microscopy Technology[®])⁸ conforme Jahanian, et al. 2017 [33].

Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados através de análise estatística descritiva (média e coeficiente de variação) e submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o teste de Bonferroni a 5% de significância para comparação das médias. A análise foi feita a partir do programa estatístico (Statgraphics[®])⁹, versão Centurion XV.

RESULTADOS

Avaliação de estresse oxidativo

Aos 28 dias de experimento, verificou-se que a presença de aflatoxinas e deoxinivalenol nas dietas de frangos de corte influenciaram na capacidade antioxidante total ($P < 0,05$) promovendo aumento do parâmetro no plasma dos animais intoxicados.

Nos tratamentos contendo fumonisinas e Toxina T-2 não foram encontradas diferenças significativas em relação ao grupo que não recebeu micotoxinas ($P > 0,05$). Não foram encontradas diferenças significativas nos níveis plasmáticos de TBARS e CARB nos tratamentos contaminados com aflatoxinas, fumonisinas, deoxinivalenol e toxina T-2 ($P > 0,05$) conforme tabela 1.

Análises bioquímicas

A adição das micotoxinas testadas na dieta de frangos não influenciou nos níveis séricos de ácido úrico e triglicerídeos com $P > 0,05$. Os valores de proteínas totais foram reduzidos com a presença de aflatoxinas e toxina T-2 nas dietas das aves ($P < 0,05$). Os níveis de albumina e colesterol apresentaram decréscimo com a presença de aflatoxinas na dieta em comparação com o grupo controle ($P < 0,05$). Todos os grupos que receberam a adição de micotoxinas nas dietas mostraram um aumento significativo nos níveis de fósforo sérico ($P < 0,05$). Já, para os valores de cálcio sérico, a presença de aflatoxinas, deoxinivalenol e toxina T-2 foi capaz de elevar os níveis desse mineral em relação ao grupo controle negativo ($P < 0,05$). A atividade sérica da enzima AST foi aumentada com a presença de fumonisinas na dieta ($P < 0,05$), assim como a atividade de ALT apresentou elevação no grupo que foi adicionado a toxina T-2 na ração, em relação ao grupo controle negativo ($P < 0,05$), conforme tabela 2.

Contagem microbiota cecal

A adição de micotoxinas na dieta promoveu aumento da contagem de coliformes no conteúdo cecal de todos os grupos que receberam as dietas contaminadas com micotoxinas em relação ao grupo controle negativo ($P < 0,05$). Entretanto, a contagem de *Lactobacillus* spp. não diferiu entre os grupos testados ($P > 0,05$), conforme a tabela 3.

Morfologia intestinal

Conforme apresentado na tabela 4, a presença de aflatoxinas e fumonisinas na dieta de frangos foi capaz de diminuir significativamente a altura das vilosidades no jejuno dos frangos intoxicados ($P < 0,05$), enquanto apenas DON alterou a profundidade das criptas ($P < 0,05$). O mesmo ocorreu com a relação entre altura de vilosidade e profundidade de cripta, onde apenas a presença de DON foi capaz de elevar esse parâmetro ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

As micotoxinas constituem um grupo de substâncias, que possuem moléculas com estrutura muito variável. Além disso, cada micotoxina possui um mecanismo de ação próprio, com sinais clínicos dependentes da dose ingerida e tempo de exposição à essas substâncias [6].

Durante a respiração celular aeróbica, diversas espécies reativas de oxigênio (EROs) são geradas, como o peróxido de hidrogênio e o radical superóxido [51]. Porém, o organismo possui defesas naturais contra esses compostos, e enzimas como catalase e superóxido dismutase (SOD), que atuam minimizando os efeitos tóxicos das EROs [43]. Nesse contexto, o estresse oxidativo surge quando a produção de EROs excede a capacidade das defesas antioxidantes do organismo, e com isso leva a danos nas proteínas, lipídios e DNA [30]. No presente estudo, após 28 dias de experimento, os frangos não apresentaram aumento dos níveis plasmáticos de TBARS nos tratamentos contendo micotoxinas. Ao mesmo tempo, a capacidade antioxidante total se elevou significativamente nos grupos

que receberam aflatoxinas e deoxinivalenol, e teve uma tendência a aumentar nos tratamentos com fumonisinas e toxina T-2.

A formação de EROs pode levar a danos nas macromoléculas celulares e como consequência desse estresse oxidativo, ocorre morte celular por meio de mecanismos apoptóticos e necróticos [66]. O dano oxidativo aos lipídios presentes nas células do organismo levará ao aumento da peroxidação lipídica. A intensidade da peroxidação pode ser medida através da mensuração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos tecidos ou plasma [68]. O sistema antioxidante do organismo, pode ser avaliado mensurando as substâncias individualmente, como glutathione, ácido ascórbico, verificando a atividade de enzimas como catalase (CAT) ou mensurando a capacidade antioxidante total (TAC). Essa última engloba um pool de antioxidantes, sem especificá-los e consiste em uma análise simples e de importante significado [12].

Conforme observado, os efeitos citotóxicos das micotoxinas envolvem a geração de EROs, promovendo peroxidação lipídica e afetando a síntese de proteínas. Esses metabólitos tóxicos possuem a capacidade de promover a peroxidação lipídica [46] e ao mesmo tempo podem comprometer o sistema antioxidante do organismo, provocando queda da atividade enzimática de SOD, CAT e GSH-Px [65].

Quando chega ao fígado, a aflatoxina será biotransformada e ativada, ocorrendo a formação do composto 8,9-epóxido de aflatoxina, que possui alta toxicidade, com capacidade de promover ligações covalentes aos ácidos nucleicos. Nesse momento da biotransformação pode ocorrer a formação de EROs [2]. A presença de $2,8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ na dieta de frangos, não foi suficiente pra elevar os níveis de TBARS e CARB no plasma desses animais, porém estudos comprovam a ação dessa micotoxina na peroxidação lipídica [28,35].

Já, as fumonisinas possuem estrutura molecular semelhante as bases esfingóides, como a esfinganina (SA) e esfingosina (SO), inibindo competitivamente a enzima ceramida sintase, o que promove um aumento da relação SA:SO, causando defeitos nas membranas celulares [61]. Além disso, o acúmulo dessas bases esfingóides pode estimular a produção de EROs [21]. Na presente pesquisa, aos 28 dias de idade, não foi possível observar o acréscimo nos níveis de TBARS no plasma de frangos que consumiram fumonisinas, porém [24] encontraram aumento de TBARS no tecido hepático de frangos intoxicados com essa micotoxina, e algumas enzimas antioxidantes como GST podem estar aumentadas em casos de exposição à fumonisinas, indicando uma resposta do sistema antioxidante do animal [26]. Entretanto, não foi possível verificar aumento da TAC no plasma das aves intoxicadas com fumonisinas.

Os tricotecenos, como DON e toxina T-2 também são compostos tóxicos capazes de promoverem a formação de EROs, induzindo peroxidação lipídica e comprometendo o sistema antioxidante [67]. Estudos anteriores mostram que DON é capaz de elevar os níveis de TBARS no jejuno de frangos de corte [58], mas pode não elevar esse marcador de peroxidação lipídica no plasma desses animais [9], o mesmo foi observado na presente pesquisa. A toxina T-2 é capaz de elevar a peroxidação lipídica no fígado de ratos intoxicados, mas ao mesmo tempo induzir aumento da atividade de SOD e GST nesses animais, mostrando a ativação do sistema antioxidante do organismo [22].

Os dados sobre os parâmetros bioquímicos de aves intoxicadas por micotoxinas podem ser muito inconsistentes e mostrar variações entre as pesquisas [5]. No presente estudo a adição de 2,8 mg.kg⁻¹ de aflatoxinas na dieta de frangos de corte reduziu os níveis séricos de proteínas totais (20,73%) e albumina (30,23%). Isso se deve à inibição promovida por essa toxina na enzima RNA-polimerase, levando à diminuição na síntese de proteínas nos

animais intoxicados [53]. Diversos estudos comprovam o efeito dessa micotoxina sob a síntese proteica [1,11,52].

Tricotecenos como DON e toxina T-2 são reconhecidamente potentes inibidores da síntese proteica. Isso ocorre por meio ligação com consequente do bloqueio da enzima peptidil-transferase. Com isso esses compostos são capazes de inibir a síntese de DNA e RNA e interferir na síntese de fosfolipídios de membrana [38,62]. Da mesma forma que [55,36], no presente estudo apenas a toxina T-2 foi capaz de diminuir os níveis de proteínas totais.

Em algumas ocasiões micotoxinas podem alterar a atividade sérica de enzimas hepáticas como AST e ALT, o que indica lesão nesse órgão, porém, o aumento dessas enzimas não pode ser considerado um marcador de doença hepática ocasionada pela ingestão dessas substâncias tóxicas [59,]. E o aumento da atividade de enzimas como ALT em frangos que consumiram dietas contaminadas com micotoxinas pode ocorrer mesmo sem lesões histopatológicas [20]. Como demonstrado nesse estudo, outras pesquisas também relataram aumento da atividade da enzima AST em frangos intoxicados com fumonisinas [48,57] ou de ALT em frangos que ingeriram toxina T-2 [63].

Dietas contaminadas com aflatoxinas podem causar diminuição nos níveis séricos de colesterol total, visto que essa toxina pode inibir a biossíntese e transporte desse metabólito devido à lesão hepática [56]. Isso pode explicar a redução de 36,5% nos níveis séricos de colesterol dos frangos que receberam as dietas contaminadas com aflatoxinas nesse estudo.

A presença de micotoxinas na dieta dos animais pode atuar promovendo decréscimo nos níveis séricos de cálcio e fósforo, por conta da baixa ingestão de alimentos, ou mesmo devido à lesão ocasionada por esses metabólitos tóxicos no intestino dos animais, o que diminui a absorção [6]. Porém em algumas ocasiões, micotoxinas podem causar lesão no

tecido renal, diminuindo a taxa de filtração glomerular em com isso elevar os níveis séricos de cálcio e fósforo no soro de animais intoxicados [16]. O que pode explicar os dados obtidos nesse estudo, já que a presença de todas micotoxinas testadas promoveram aumento nos níveis de fósforo sérico e apenas o tratamento com fumonisinas não apresentou elevação no nível de cálcio no soro das aves intoxicadas.

A mucosa intestinal atua como uma barreira seletiva, por um lado, permitindo a passagem de água eletrólitos e nutrientes, e por outro atuando como uma barreira de defesa contra patógenos [10]. A microbiota presente nesse órgão desempenha importantes funções, tais como síntese de vitaminas, digestão de alimentos [40] e também participa da modulação da resposta imunológica e proteção contra a colonização de patógenos [14].

O intestino é o primeiro alvo das micotoxinas e local de sua absorção. A presença desses metabólitos tóxicos nas dietas pode comprometer a função desse órgão. No presente estudo foi possível observar diminuição na altura de vilosidades no jejuno de frangos que consumiram aflatoxinas. Da mesma forma [32,47] também verificaram diminuição das vilosidades jejunais de frangos intoxicados com essa toxina. O mesmo ocorreu com a presença de fumonisinas nas dietas de frangos, onde a presença dessa toxina foi capaz de diminuir a altura das vilosidades intestinais. Dados semelhantes, obtidos por [48], confirmam a hipótese que essas substâncias tóxicas são capazes de prejudicar o a diferenciação e o desenvolvimento de células intestinais, e, com isso diminuir a área de absorção de nutrientes. Dados de pesquisas anteriores, nos mostram que DON é capaz de alterar a morfometria do intestino, promovendo alteração na profundidade de criptas jejunais de aves intoxicadas [45], bem como observado nessa pesquisa. Mas diferente que [50], não foi possível verificar diminuição na altura das vilosidades do jejuno de frangos que receberam DON na dieta.

A microbiota intestinal pode reagir com esses metabólitos tóxicos de muitas formas, seja se ligando as micotoxinas, diminuindo sua absorção, ou mesmo, ativando essas micotoxinas, tornando-as moléculas mais tóxicas. Seja qual for o mecanismo envolvido, a presença de micotoxinas no trato gastrointestinal pode levar à disbiose e provocar doenças [27].

No presente estudo, as aves de todos os tratamentos contaminados com micotoxinas apresentaram aumento na contagem de coliformes totais. A presença de aflatoxinas na dieta de aves pode promover mudanças na microbiota cecal, fazendo com que aumente a contagem de bactérias Gram-negativas no conteúdo desse órgão [25]. Também foi observado a mudança da microbiota intestinal em animais intoxicados com deoxivalenol [40,64], e fumonisinas [7].

Algumas espécies de *Lactobacillus*, como o *Lactobacillus aviarius* estão relacionados com o bom desenvolvimento das aves. E a alta abundância desses microrganismos é um indicador de saúde intestinal, pois promovem a produção de bacteriocinas e ácidos orgânicos, que inibem a multiplicação e ação de patógenos [18]. Assim como no presente estudo, [60] não encontraram diferenças significativas na contagem de *Lactobacillus* spp. no ceco de frangos intoxicados com aflatoxinas e [19] não observou diferença na contagem desses microrganismos no ceco de leitões intoxicados com fumonisinas.

CONCLUSÃO

A adição de aflatoxinas nas dietas de frangos de corte promoveu alterações na síntese de proteínas e colesterol nos animais testados e também provocou aumento da atividade de enzimas de extravasamento como AST e ALT. Da mesma forma, conforme os dados apresentados, micotoxinas foram capazes de influenciar na microbiota cecal, promovendo aumento da contagem de coliformes em todos os grupos desafiados com esses metabólitos

tóxicos, o que demonstra a sua interação com os microrganismos do intestino. Aos 28 dias de idade, as micotoxinas não elevaram os níveis de TBARS e CARB nesse estudo, porém nos grupos de desafiados com aflatoxinas de deoxinivalenol foi possível observar uma resposta do sistema antioxidante do organismo, elevando os níveis de TAC no plasma. Todavia, novos estudos são necessários, para acompanhar e melhor elucidar os efeitos das micotoxinas no organismo das aves. Também foi possível observar que as aflatoxinas e fumonisinas promoveram diminuição na altura das vilosidades jejunais, assim como deoxinivalenol alterou a profundidade das criptas dessa seção intestinal, confirmando os efeitos das micotoxinas sob a mucosa intestinal.

MANUFACTURERS:

¹Merck KGaA, Darmestádio, Hesse, Alemanha.

² Bio-Rad Laboratories, Berkeley, California, EUA.

³ Life Technologies, Carlsbad, Califórnia, EUA.

⁴ Biochrom, Cambridge, Reino Unido.

⁵Labtest Diagnóstica S.A., Vista Alegre, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.

⁶Bioplus Produtos para Laboratórios Ltda. Barueri, SP, Brazil.

⁷Kasvi- Produtos e Equipamentos para Laboratórios, São José dos Pinhais, São Paulo, Brasil.

⁸ Opticam Microscopy Technology

⁹ Statgraphics Technologies, Inc. The Plains, Virginia

Comitê de ética

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais da SAMITEC- Soluções Analíticas, Microbiológicas e Tecnológicas LTDA. Número E002/01/2021.

Declaração de interesse

Os autores relatam não haver nenhum conflito de interesse. Os autores são os únicos responsáveis pelo conteúdo.

Acknowledgments

Os autores gostariam de agradecer à “Universidade Federal de Santa Maria” e à SAMITEC-Soluções Analíticas, Microbiológicas e Tecnológicas LTDA. Este estudo foi parcialmente financiado pela “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” (CAPES), Brasil, Código Financeiro 001.

REFERÊNCIAS

- 1 Abdolmaleki M., Saki A.A., Alikhani M.Y. 2019.** Protective effects of *Bacillus* sp. MBIA2.40 and Gallipro on growth performance, immune status, gut morphology and serum biochemistry of broilers chickens feeding by aflatoxin B1. *Poultry Science Journal*. 7(2): 185-194. DOI: 10.22069/PSJ.2019.16593.1449
- 2 Abrar M., Anjum F. M., Butt M.S., Pasha I., Randhawa M.A., Saeed F. & Waqas K. 2013.** Aflatoxins: biosynthesis, occurrence, toxicity, and remedies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 53(8): 862-874. DOI: 10.1080/10408398.2011.563154
- 3 Alassane-Kpembé I., Pinton P. & Oswald I.P. 2019.** Effects of mycotoxins on the intestine. *Toxins*. 11(3): 159. DOI: 10.3390/toxins11030159
- 4 Alshannaq A. & Yu J.-H. 2017.** Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 14(6): 632. DOI: 10.3390/ijerph14060632
- 5 Andretta I., Kipper M., Lehnen C.R., Hauschild L., Vale M.M., Lovatto P.A. 2011.** Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in broilers. *Poultry Science*. 90(9): 1934-1940. DOI: 10.3382/ps.2011-01470
- 6 Andretta I., Kipper M., Lehnen C.R., Lovatto P.A. 2012.** Meta-analysis of the relationship of mycotoxins with biochemical and hematological parameters in broilers. *Poultry Science*. 91(2): 376-382. DOI: 10.3382/ps.2011-01813

- 7 Antonissen G., Croubels S., Pasmans F., Ducatelle R., Eeckhaut V., Devreese M., Verlinden M., Haesebrouck F., Eeckhout M., De Saeger S., Antlinger B., Novak B., Martel A. & Van Immerseel F. 2015.** Fumonisin affect the intestinal microbial homeostasis in broiler chickens, predisposing to necrotic enteritis. *Veterinary Research*. 46(98). DOI 10.1186/s13567-015-0234-8
- 8 Attia G., El-Eraky W., Hassanein E., El-Gamal M., Farahat M. & Hernandez-Santana A. 2017.** Effect of dietary inclusion of a plant extract blend on broiler growth performance, nutrient digestibility, ceecal microflora and intestinal histomorphology. *International Journal of Poultry Science*. 16(9): 344-353. DOI: 10.3923/ijps.2017.344.353
- 9 Awad W.A., Ghareeb K., Dadak A., Hess M. & Böhm J. 2014.** Single and combined effects of deoxynivalenol mycotoxin and a microbial feed additive on lymphocyte DNA damage and oxidative stress in broiler chickens. *PLOS ONE*. 9(1). DOI: 10.1371/journal.pone.0088028
- 10 Awad W.A. & Zentek J. 2015.** The feed contaminant deoxynivalenol affects the intestinal barrier permeability through inhibition of protein synthesis. *Archives of toxicology*. 89: 961-965. DOI 10.1007/s00204-014-1284-9
- 11 Barati M., Chamani M., Mousavi S.N., Hoseini S.A. & Ebrahimi M.T.A. 2018.** Effects of biological and mineral compounds in aflatoxin-contaminated diets on blood parameters and immune response of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*. 46(1): 707-713. DOI: 10.1080/09712119.2017.1388243
- 12 Bartosz G. 2003.** Total antioxidant capacity. *Advances in Clinical Chemistry*. 37: 219-292. DOI: 10.1016/S0065-2423(03)37010-6
- 13 Bracarense A.P.F.L., Lucioli J., Grenier B., Pacheco G.D., Moll W.D., Schatzmayr G. & Oswald I.P. 2012.** Chronic ingestion of deoxynivalenol and

fumonisin, alone or in interaction, induces morphological and immunological changes in the intestine of piglets. *British Journal of Nutrition*. 107(12): 1776-1786. DOI: 10.1017/S0007114511004946

14 Broom L. 2015. Mycotoxins and the intestine. *Animal Nutrition*. 1(4): 262-265. DOI: 10.1016/j.aninu.2015.11.001

15 Bryden W.L. 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology*. 173(1-2): 134-158. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2011.12.014

16 Bucci T.J., Howard P.C., Tolleson W.H., Laborde J.B. & Hansen D.K. 1998. Renal effects of fumonisin mycotoxins in animals. *Toxicologic Pathology*. 26(1): 160-164. DOI: 10.1177/019262339802600119

17 Calik A., Ceylan A., Ekim B., Abadi S.G., Dilber F., Bayraktaroglu A.G., Tekinay T., Özen D. & Sacakli P. 2017. The effect of intra-amniotic and posthatch dietary synbiotic administration on the performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens. *Poultry Science*. 96(1): 169-183. DOI: 10.3382/ps/pew218

18 Chang J., Wang T., Wang P., Yin Q., Liu C., Zhu Q., Lu F. & Gao T. 2020. Compound probiotics alleviating aflatoxin B1 and zearalenone toxic effects on broiler production performance and gut microbiota. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 194: 110420. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110420

19 Dang H.A., Zsolnai A., Kovács M., Bóta B., Mihucz G., Pósa R., Marosi K., Kachlek M. & Szabó-Fodor J. 2019. The effect of fumonisins producing *Fusarium verticillioides* on the microbiota in pig caecum. *Acta Veterinaria Brno*. 88(1): 65-71. DOI: 10.2754/avb201988010065

- 20 Dazuk V., Boiago M.M., Rolim G., Paravisi A., Copetti P.M., Bissacotti B.F., Morsch V. M., Vedovatto M., Gazoni F.L. & Matte F., Gloria E. 2020.** Laying hens fed mycotoxin-contaminated feed produced by *Fusarium* fungi (T-2 toxin and fumonisin B1) and *Saccharomyces cerevisiae* lysate: Impacts on poultry health, productive efficiency, and egg quality. *Microbial Pathogenesis*. 149. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104517
- 21 Domijan A.-M. & Abramov A.Y. 2011.** Fumonisin B1 inhibits mitochondrial respiration and deregulates calcium homeostasis—Implication to mechanism of cell toxicity. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 43(6): 897-904. DOI: 10.1016/j.biocel.2011.03.003
- 22 El-Sawi N.M. & Al-Seeni M.N. 2009.** Assessment of flavonoids as rutin for detoxification of T-2 toxin. *Journal of Applied Animal Research*. 35(1): 57-60. DOI: 10.1080/09712119.2009.9706985
- 23 Fremy J.M., Alassane-Kpembi I., Oswald I.P., Cottrill B. & Van Egmond H.P. 2019.** A review on combined effects of moniliformin and co-occurring *Fusarium* toxins in farm animals. *World Mycotoxin Journal*. 12(3): 281-291. DOI: 10.3920/WMJ2018.2405
- 24 Furtuoso B.F., Galli G.M., Griss L.G., Armanini E.H., Silva A.D., Fracasso M., Mostardeiro V., Morsch V.M., Lopes L.Q.S., Santos R.C.V., Gris A., Mendes R.E., Boiago M.M. & Da Silva A.S. 2020.** Effects of glycerol monolaurate on growth and physiology of chicks consuming diet containing fumonisin. *Microbial Pathogenesis*. 147: 104261. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104261
- 25 Galarza-Seeber R., Latorre J.D., Bielke L.R., Kuttappan V. A., Wolfenden A.D., Hernandez-Velasco X., Merino-Guzman R., Vicente J.L., Donoghue A., Cross D., Hargis B.M. & Tellez G. 2016.** Leaky gut and mycotoxins: aflatoxin B1 does not

increase gut permeability in broiler chickens. *Frontiers in Veterinary Science*. 3(10).

DOI: 10.3389/fvets.2016.00010

26 Galli G.M., Gris L.G., Fortuoso B.F., Silva A.D., Fracasso M., Lopes T.F., Schetinger M.R.S., Gundel S., Ourique A.F., Carneiro C., Mendes R.E., Boiago M.M. & Da Silva A.S. 2020. Feed contaminated by fumonisin (*Fusarium* spp.) in chicks

has a negative influence on oxidative stress and performance, and the inclusion of curcumin-loaded nanocapsules minimizes these effects. *Microbial Pathogenesis*. 148:

104496. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104496

27 Guerre P. 2020. Mycotoxin and gut microbiota interactions. *Toxins*. 12:769. DOI:

10.3390/toxins12120769

28 Guo Y., Balasubramanian B., Zhao Z.-H. & Liu W.-C. 2020. Marine algal polysaccharides alleviate aflatoxin B1-induced bursa of Fabricius injury by regulating redox and apoptotic signaling pathway in broilers. *Poultry Science*. DOI:

10.1016/j.psj.2020.10.050

29 Holanda D.M. & Kim S.W. 2020. Efficacy of mycotoxin detoxifiers on health and growth of newly-weaned pigs under chronic dietary challenge of deoxynivalenol. *Toxins*.

12(5): 311. DOI: 10.3390/toxins12050311

30 Hwang E.S. & Kim G.H. 2007. Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins in vitro and in vivo cancer research. *Toxicology*. 229(1-2): 1-10. DOI:

10.1016/j.tox.2006.10.013

31 Ismaiel A.A. & Papenbrock J. 2015. Mycotoxins: producing fungi and mechanisms of phytotoxicity. *Agriculture*. 5(3). 492-593. DOI: 10.3390/agriculture5030492

32 Jahanian, E., Mahdavi, A. H., Asgary, S. & Jahanian, R., 2016. Effect of dietary supplementation of mannanoligosaccharides on growth performance, ileal microbial

counts, and jejunal morphology in broiler chicks exposed to aflatoxins. *Livestock Science*. 190: 123-130. DOI: 10.1016/j.livsci.2016.05.008

33 Jahanian, E., Mahdavi, A.H., Asgary, S. & Jahanian, R., 2017. Effects of dietary inclusion of silymarin on performance, intestinal morphology and ileal bacterial count in aflatoxin-challenged broiler chicks. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 101(5): 43-54. DOI: 10.1111/jpn.12556

34 Joshi, A., Perluigi, M., Sultana, R., Agrippino, R., Calabrese, V. & Butterfield, D. A., 2006. In vivo protection of synaptosomes by ferulic acid ethyl ester (FAEE) from oxidative stress mediated by 2,2-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH) or Fe²⁺/H₂O₂: Insight into mechanisms of neuroprotection and relevance to oxidative stress-related neurodegenerative disorders. *Neurochemistry International*. 48: 318-327. DOI: 10.1016/j.neuint.2005.11.006

35 Kövesi B., Cserhádi M., Erdélyi M., Zándoki E., Mézes M. & Balogh K. 2020. Lack of dose- and time-dependent effects of aflatoxin B₁ on gene expression and enzymes associated with lipid peroxidation and the glutathione redox system in chicken. *Toxins*. 12(2): 84. DOI: 10.3390/toxins12020084

36 Krishnamoorthy P., Vairamuthu S., Balachandran C. & Muralimanohar B. 2006. Chlorpyrifos and T-2 toxin induced haemato-biochemical alterations in broiler chicken. *International Journal of Poultry Science*. 5(2): 173-177. DOI: 10.3923/ijps.2006.173.177

37 Lee, S. G., Wang, T., Vance, T. M., Hurbert, P., Kim, D., Koo, S. I. & Chun, O. K., 2017. Validation of Analytical Methods for Plasma Total Antioxidant Capacity by Comparing with Urinary 8-Isoprostane Level. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 27: 388-394. DOI: 10.4014/jmb.1604.04053

38 Li Y., Wang Z., Beier R.C., Shen J., De Smet D., De Saeger S. & Zhang S. 2011. T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin: review of toxicity, metabolism, and analytical

methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(8): 3441-3453. DOI: 10.1021/jf200767q

39 Liu Y. & Wang W. 2016. Aflatoxin B1 impairs mitochondrial functions, activates ROS generation, induces apoptosis and involves Nrf2 signal pathway in primary broiler hepatocytes. *Animal Science Journal*. 87(12): 1490-1500. DOI: 10.1111/asj.12550

40 Lucke A., Böhm J., Zebeli Q. & Metzler-Zebeli B. U. 2018. Dietary deoxynivalenol contamination and oral lipopolysaccharide challenge alters the cecal microbiota of broiler chickens. *Frontiers in Microbiology*. 10(808). DOI: 10.3389/fmicb.2018.00804

41 Ma Q., Li Y., Fan Y., Zhao L., Wei H., Ji C. & Zhang J. 2015. Molecular mechanisms of lipoic acid protection against aflatoxin B1- Induced liver oxidative damage and inflammatory responses in broilers. *Toxins*. 7(12): 5435-5447. DOI: 10.3390/toxins7124879

42 Marin S., Ramos A.J., Cano-Sancho G. & Sanchis V. 2013. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and chemical toxicology*. 60: 218-237. DOI: 10.1016/j.fct.2013.07.047

43 Mary V.S., Theumer M.G., Arias S.L. & Rubinstein H.R. 2012. Reactive oxygen species sources and biomolecular oxidative damage induced by aflatoxin B1 and fumonisin B1 in rat spleen mononuclear cells. *Toxicology*. 302(2-3): 299-307. DOI: 10.1016/j.tox.2012.08.012

44 Ohkawa H., Ohishi N. & Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95: 351-358.

45 Osselaere, A., Santos, R., Hautekiet, V., De Backer, P., Chiers, K., Ducatelle, R. and Croubels, S., 2013. Deoxynivalenol Impairs Hepatic and Intestinal Gene Expression of Selected Oxidative Stress, Tight Junction and Inflammation Proteins in Broiler

Chickens, but Addition of an Adsorbing Agent Shifts the Effects to the Distal Parts of the Small Intestine. *Plos One*. 8: e69014. DOI: 10.1371/journal.pone.0069014

46 Poersch A.B., Trombetta F., Braga A.C.M., Boeira S.P., Oliveira M.S., Dilkin P., Mallmann C.A., Figuera M.R., Royes L.F.F., Oliveira M.S. & Furian A.F. 2014. Involvement of oxidative stress in subacute toxicity induced by fumonisin B1 in broiler chicks. *Veterinary Microbiology*. 174(1-2): 180-185. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.08.020

47 Polovi, V., Magnoli, A., Fochesato, A., Cristofolini, A., Caverzan, M., Merkis, C., Montenegro, M. & Cavaglieri L., 2019. A *Saccharomyces cerevisiae* RC016-based feed additive reduces liver toxicity, residual aflatoxin B1 levels and positively influences intestinal morphology in broiler chickens fed chronic aflatoxin B1-contaminated diets. *Animal Nutrition*. 6: 31-38. DOI: 10.1016/j.aninu.2019.11.006

48 Rauber R.H., Oliveira M.S., Mallmann A.O., Dilkin P., Mallmann C.A., Giacomini L.Z. & Nascimento V.P. 2013. Effects of fumonisin B1 on selected biological responses and performance of broiler chickens. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(9): 1081-1086. DOI: 10.1590/S0100-736X2013000900006

49 Richard J.L. 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses — An overview. *International Journal of Food Microbiology*. 119(1-2): 3-10. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.019

50 Riahi, I., Marquis, V., Ramos, J. A., Brufau, J., Esteve-Garcia, E. & Pérez-Vendrell, A.M., 2020. Effects of Deoxynivalenol-Contaminated Diets on Productive, Morphological, and Physiological Indicators in Broiler Chickens. *Animals*. 10: 1795. DOI: 10.3390/ani10101795

51 Rodrigues J.V. & Gomes C. M. 2012. Mechanism of superoxide and hydrogen peroxide generation by human electron-transfer flavoprotein and pathological variants.

Free Radical Biology and Medicine. 53(1): 12-19. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.04.016

52 Rosim R.E., Faria Filho D.E., Almeida T.W., Corassin C.H. & Oliveira C.A.F. 2019. Determination of serum aflatoxin B1-lysine and biochemical parameters in broiler chicks fed an aflatoxin B1-contaminated diet. *Drug and Chemical Toxicology.* 43(6): 623-629. DOI: 10.1080/01480545.2019.1578786

53 Sakamoto M.I., Murakami A.E., Fernandes A.M., Ospina-Rojas I.C., Nunes K.C. & Hirata A.K. 2018. Performance and serum biochemical profile of Japanese quail supplemented with silymarin and contaminated with aflatoxin B1. *Poultry Science.* 97(1): 159,166. DOI: 10.3382/ps/pex277

54 Silva E.O., Bracarense A.P.F.L. & Oswald I.P. 2018. Mycotoxins and oxidative stress: where are are? *World Mycotoxyn Journal.* 11(1): 113-134. DOI: 10.3920/WMJ2017.2267

55 Singh R., Park S., Koo J.S., Kim I.H. & Balasubramanian B. 2020. Significance of varying concentrations of T-2 toxin on growth performance, serum biochemical and hematological parameters in broiler chickens. *Journal of Animal Science and Technology.* 62(4): 468-474. DOI: 10.5187/jast.2020.62.4.468

56 Sobrane Filho S.T., Junqueira O.M., Laurentiz A.C., Filardi R.S., Rubio M.S., Duarte K.F. & Laurentiz R.S. 2016. Effects of mycotoxin adsorbents in aflatoxin B1 - and fumonisin B1 -contaminated broiler diet on performance and blood metabolite. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 45(5): 250-256. DOI:10.1590/S1806-92902016000500007

57 Sousa M.C.S., Galli G.M., Bottari N.B., Alba D.F., Leal K.W., Lopes T.F., Druzian L., Schetinger M.R.C., Gloria E.M., Mendes R.E., Stefani L.M. & Da Silva

A.S. 2020. Fumonisin-(*Fusarium verticillioides*)-contaminated feed causes hepatic oxidative stress and negatively affects broiler performance in the early stage: Does supplementation with açai flour residues (*Euterpe oleracea*) minimize these problems? *Microbial Pathogenesis*. 146: 104237. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104237

58 Souza M., Baptista A.A.S., Valdiviezo M.J.J., Justino L., Menck-Costa M.F., Ferraz C.R., Gloria E.M., Verri Jr. W.A. & Bracarense A.P.F.R.L. 2020. *Lactobacillus* spp. reduces morphological changes and oxidative stress induced by deoxynivalenol on the intestine and liver of broilers. *Toxicon*. 185: 203-212. DOI: 10.1016/j.toxicon.2020.07.002

59 Sridhar M., Suganthi R.U. & Thammiah V. 2014. Effect of dietary resveratrol in ameliorating aflatoxin B₁-induced changes in broiler birds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 99(6): 1094-1104. DOI: 10.1111/jpn.12260

60 Tavangar, P., Gharahveysi, S., Rezaei-pour, V. & Irani, M., 2021. Efficacy of phytobiotic and toxin binder feed additives individually or in combination on the growth performance, blood biochemical parameters, intestinal morphology, and microbial population in broiler chickens exposed to aflatoxin B₁. *Tropical Animal Health and Production*. 53: 335. DOI: 10.1007/s11250-021-02778-0

61 Voss K.A., Smith G.W. & Haschek W. M. 2007. Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Animal Feed Science and Technology*. 137(3-4): 299-325. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2007.06.007

62 Yang L., Tu D., Zhao Z. & Cui J. 2017. Cytotoxicity and apoptosis induced by mixed mycotoxins (T-2 and HT-2 toxin) on primary hepatocytes of broilers in vitro. *Toxicon*. 129: 1-10. DOI: 10.1016/j.toxicon.2017.01.001

- 63 Yang L., Yu Z., Hou J., Deng Y., Zhou Z., Zhao Z. & Cui J. 2016.** Toxicity and oxidative stress induced by T-2 toxin and HT-2 toxin in broilers and broiler hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 87: 128-137. DOI: 10.1016/j.fct.2015.12.003
- 64 Yang X., Liang S., Guo F., Ren Z., Yang X. & Long F. 2020.** Gut microbiota mediates the protective role of *Lactobacillus plantarum* in ameliorating deoxynivalenol-induced apoptosis and intestinal inflammation of broiler chickens. *Poultry Science*. 99(5): 2395-2406. DOI: 10.1016/j.psj.2019.10.034
- 65 Yin H., Han S., Chen Y., Wang Y., Li D. & Zhu Q. 2020.** T-2 toxin induces oxidative stress, apoptosis and cytoprotective autophagy in chicken hepatocytes. *Toxins*. 12(2): 90. DOI: 10.3390/toxins12020090
- 66 Wang X., Wu Q., Wan D., Liu Q., Chen D., Liu Z., Martínez-Larrañaga M.R., Martínez M.A., Anadón A. & Yuan Z. 2015.** Fumonisin: oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro. *Archives of Toxicology*. 90: 81-101. DOI: 10.1007/s00204-015-1604-8
- 67 Wu Q., Wang X., Nepovimova E., Wang Y., Yang H., Li L., Zhang X. & Kuca K. 2017.** Antioxidant agents against trichothecenes: new hints for oxidative stress treatment. *Oncotarget*. 8(66): 110708-110726. DOI: 10.18632/oncotarget.22800
- 68 Zhou F., Sun W. & Zhao M. 2015.** Controlled formation of emulsion gels stabilized by salted myofibrillar protein under malondialdehyde (MDA)-induced oxidative stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63(14): 3766-3777. DOI: 10.1021/jf505916f

Tabela 1. Valores médios (n=12) de TBARS, CARB e TAC encontrados em frangos de corte intoxicados com 2,8 mg.kg⁻¹ de aflatoxinas, 120 mg.kg⁻¹ de fumonisinas, 50 mg.kg⁻¹ de deoxinivalenol e 3 mg.kg⁻¹ de toxina T-2.

Item	Tratamentos					Estatística	
	T1	T2	T3	T4	T5	CV ¹ (%)	P-value
TBARS ²	48,07	44,41	45,21	33,82	33,00	38,1	0,0811
CARB ³	1,69	1,89	1,44	1,62	1,47	29,5	0,1909
TAC ⁴	3136,2 ^b	3644,7 ^a	3614,8 ^{ab}	3632,1 ^a	3543,6 ^{ab}	11,2	0,0176

a-b= médias das colunas com letras diferentes diferem pelo teste de Bonferroni (P<0,05).

¹CV: Coeficiente de variação (%).

²TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, valores expressos em nmol TBARS/mL de plasma.

³CARB: Proteína carbonilada. Valores expressos em nmol/mg de proteína.

⁴TAC: capacidade antioxidante total. Valores expressos em TAC/mg de proteína.

T1: tratamento controle negativo (dieta basal); T2: dieta com aflatoxinas; T3: dieta com fumonisinas; T4: dieta com deoxinivalenol e T5: dieta com toxina T-2.

Tabela 2. Valores da série bioquímica (n=12) de frangos de corte intoxicados com 2,8 mg.kg⁻¹ de aflatoxinas, 120 mg.kg⁻¹ de fumonisinas, 50 mg.kg⁻¹ de deoxinivalenol e 3 mg.kg⁻¹ de toxina T-2.

Item	Tratamentos					Estatística	
	T1	T2	T3	T4	T5	CV ¹ (%)	P -value
Proteínas totais (g/dL)	2,73 ^a	2,18 ^c	3,14 ^a	2,66 ^a	2,48 ^b	12,6	<0,0001
Albumina (g/dL)	1,29 ^a	0,9 ^b	1,28 ^a	1,16 ^a	1,19 ^a	13,9	<0,0001
Ácido Úrico (mg/dL)	6,4	6,25	6,64	6,69	5,37	42,7	0,7603
Colesterol (mg/dL)	133,5 ^a	84,8 ^b	132,8 ^a	128,0 ^a	115,0 ^a	17,2	<0,0001
Triglicerídeos (mg/dL)	65,56	51,54	64,75	76,41	68,17	36,9	0,2148
Cálcio (mg/dL)	9,91 ^b	11,32 ^a	10,42 ^b	10,9 ^a	11,16 ^a	7,0	0,0002
Fósforo (mg/dL)	9,52 ^b	11,32 ^a	11,22 ^a	12,1 ^a	12,12 ^a	8,8	<0,0001
ALT (U/L)	9,42 ^b	10,27 ^b	10,74 ^b	10,28 ^b	13,12 ^a	24,6	0,0150
AST (U/L)	243,9 ^b	273,0 ^b	361,1 ^a	255,5 ^b	313,5 ^b	23,9	0,0198

a-c= médias das colunas com letras diferentes diferem pelo teste de Bonferroni (P<0,05).

¹CV: Coeficiente de variação (%).

T1: tratamento controle negativo (dieta basal); T2: dieta com aflatoxinas; T3: dieta com fumonisinas; T4: dieta com deoxinivalenol e T5: dieta com toxina T-2.

Tabela 3. Avaliação da microbiota cecal (n=12) de frangos intoxicados com 2,8 mg.kg⁻¹ de aflatoxinas, 120 mg.kg⁻¹ de fumonisinas, 50 mg.kg⁻¹ de deoxinivalenol e 3 mg.kg⁻¹ de toxina T-2 (valores expressos em log₁₀ UFC / g de conteúdo cecal).

Item	Tratamentos					Estatística	
	T1	T2	T3	T4	T5	CV ¹ (%)	P-value
Coliformes totais	7,91 ^b	8,9 ^a	8,77 ^a	8,56 ^a	8,53 ^a	4,8	0,0001
<i>Lactobacillus</i> spp.	2,74	2,19	2,48	2,58	2,37	19,5	0,0999

a-b= médias das colunas com letras diferentes diferem pelo teste de Bonferroni (P,0,05).

¹CV: Coeficiente de variação (%).

T1: tratamento controle negativo (dieta basal); T2: dieta com aflatoxinas; T3: dieta com fumonisinas; T4: dieta com deoxinivalenol e T5: dieta com toxina T-2.

Tabela 4. Avaliação da morfometria jejunal (n=12) de frangos de corte intoxicados com 2,8 mg.kg⁻¹ de aflatoxinas, 120 mg.kg⁻¹ de fumonisinas, 50 mg.kg⁻¹ de deoxinivalenol e 3 mg.kg⁻¹ de toxina T-2.

Item	Tratamentos					Estatística	
	T1	T2	T3	T4	T5	CV ¹	P-value
						(%)	
AV ²	1261,36 ^a	1037,78 ^{bc}	1012,68 ^c	1169,41 ^a	1147,82 ^{ab}	12,2	<0,0001
PC ³	173,21 ^a	159,47 ^a	163,11 ^a	133,27 ^b	165,64 ^a	15,0	<0,0001
AV:PC ⁴	7,25 ^b	6,6 ^b	6,4 ^b	8,4 ^a	7,01 ^b	15,8	<0,0001

a-c= médias das colunas com letras diferentes diferem pelo teste de Bonferroni (P<0,05).

¹CV: Coeficiente de variação (%).

²AV: Altura de vilosidades (μm).

³PC: Profundidade de criptas (μm).

⁴AV:PC: Relação altura de vilosidades, profundidade de criptas.

T1: tratamento controle negativo (dieta basal); T2: dieta com aflatoxinas; T3: dieta com fumonisinas; T4: dieta com deoxinivalenol e T5: dieta com toxina T-2.

4. CONCLUSÃO

Micotoxinas são substâncias tóxicas capazes de interferir em diferentes sistemas do organismo das aves. A presença desses metabólitos secundários como aflatoxinas, fumonisinas, deoxinivalenol e toxina T-2 nas dietas de frangos de corte é causa de grande preocupação na cadeia de produção avícola. Essas micotoxinas estão diretamente relacionadas com a perda de produtividade e aumento de custos. O conhecimento acerca da ação dessas toxinas nos parâmetros bioquímicos séricos, nos padrões histológicos de determinados tecidos e interação com a microbiota intestinal é de suma importância. Essas alterações nos ajudam a compreender o verdadeiro mecanismo de ação exercido pelas micotoxinas no organismo das aves. E com isso possibilita a melhor tomada de decisão a fim de evitar a ingestão desses metabólitos tóxicos, assim garantindo melhores condições sanitárias aos animais e maior segurança alimentar ao homem.

5. REFERÊNCIAS

- ABRAR, M. et al. Aflatoxins: Biosynthesis, Occurrence, Toxicity, and Remedies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, p. 862-874, 2013.
- ABUDABOS, M. A. et al. The effect of phytochemical feed additives to substitute in-feed antibiotics on growth traits and blood biochemical parameters in broiler chicks challenged with *Salmonella typhimurium*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 23, p. 24151–24157, 2016.
- AKBARI, P. et al. The intestinal barrier as an emerging target in the toxicological assessment of mycotoxins. **Archives of Toxicology**, ed. 91, p. 1007-1029, 2017.
- ALMEIDA, R. Surtos por *Salmonella*: dados estatísticos, sintomas e prevenção. **Food Safety Brazil**. 2015. Disponível em: < <https://foodsafetybrazil.org/surtos-porsalmonella-dados-estatisticos-sintomas-e-prevencoes/>>. Acesso em: 30 de agosto de 2020.
- ANTONISSEN, G. et al. Fumonisin affect the intestinal microbial homeostasis in broiler chickens, predisposing to necrotic enteritis. **Veterinary Research**, v. 46, n. 98, 2015.
- ANTONISSEN, G. et al. The mycotoxin deoxynivalenol predisposes for the development of *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis in broiler chickens. **Plos One**, v. 9, n. 9, p. 1-8, 2014.
- AWAD, W. A. et al. Feeding of deoxynivalenol increases the intestinal paracellular permeability of broiler chickens. **Archives of Toxicology**, v. 93, p. 2057-2064, 2019.
- AWAD, W. A. et al. Single and Combined Effects of Deoxynivalenol Mycotoxin and a Microbial Feed Additive and Lymphocyte DNA Damage and Oxidative Stress in Broiler Chickens. **Plos One**, v. 9, n. 1, 2014.
- AWAD, W. A. et al. The Impact of the Fusarium Toxin Deoxynivalenol (DON) on Poultry. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 9, p. 827-842, 2008.
- BASSO, K.; GOMES, F.; BRACARENSE, L. A. P. Deoxynivalenol and Fumonisin, Alone or in Combination, Induce Changes on Intestinal Junction Complexes and in E-Cadherin Expression. **Toxins**, v. 5, n. 12, p. 2341-2352, 2013.
- BENNET, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 3, p. 497-516, 2003.
- BERNABUCCI, U. et al. Aflatoxin B1 and fumonisin B1 affect the oxidative status of bovine peripheral blood mononuclear cells. **Toxicology in Vitro**, v. 25, p. 684-691, 2011.
- BOCHIO, V. et al. Efeitos da aflatoxina na produção avícola: Revisão. **PUBVET**, v. 11, n. 8, p. 832-839, 2017.

BÓCSAI, A. et al. Short-term effects of T-2 toxin exposure on some lipid peroxide and glutathione redox parameters of broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, p. 520-525, 2015.

BOUHET, S. et al. Mycotoxin fumonisin B1 selectively down-regulates the basal IL-8 expression in pig intestine: *in vivo* and *in vitro* studies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 10, p. 1768-1773, 2006.

BRACARENSE, A. P. et al. Chronic ingestion of deoxynivalenol and fumonisin, alone or in interaction, induces morphological and immunological changes in the intestine of piglets. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 12, p. 1776-1786, 2012.

BROOM, L. Mycotoxins and the intestine. **Animal Nutrition**, v. 1, n. 4, p. 262-265, 2015.

CALIK, A. et al. The effect of intra-amniotic and posthatch dietary synbiotic administration on the performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 96, p. 169-183, 2017.

CASTEGNARO, M. et al. Analytical method for the determination of sphinganine and sphingosine in serum as a potential biomarker for fumonisin exposure. **Journal of Chromatography B**, v. 720, p. 15-24, 1998.

CHAUDHARI, M. et al. Oxidative stress induction by T-2 toxin causes DNA damage and triggers apoptosis via caspase pathway in human cervical cancer cells. **Toxicology**, v. 262, n. 2, p. 153-161, 2009.

CHEAT, S. et al. The mycotoxins deoxynivalenol and nivalenol show *in vivo* synergism on jejunum enterocytes apoptosis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 87, p. 45-54, 2016.

CHENG, et al. Effect of fumonisins on macrophage immune functions and gene expression of cytokines in broilers. **Archives of Animal Nutrition**, v. 60, p. 267-276, 2006.

CHEN, X.; NAEHRER, K.; APPLGATE, T. J. Interactive effects of dietary protein concentration and aflatoxin B1 on performance, nutrient digestibility, and gut health in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 95, n. 6, p. 1312-1325, 2016.

DE ANGELIS, I. et al. Absorption of Fumonisin B1 and aminopentol on an *in vitro* model of intestinal epithelium; the role of P-glycoprotein. **Toxicon**, v. 45, p. 285-291, 2005.

DE CARVALHO, R. A. **Avaliação do biomarcador (esfinganina/esfingosina) como fator de exposição às fumonisinas em frangos de corte**. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Soropédica, RJ, 2006.

- DE LA TORRE-HERNÁNDEZ, M.E. et al. Fumonisin en la interacción Fusarium-maíz. **Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, v. 17, n. 1, p. 77-91, 2014.
- DENG, J. et al. Aflatoxin B₁ metabolism: Regulation by phase I and II metabolizing enzymes and chemoprotective agents. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 778, p. 79-89, 2018.
- DE SOUZA, M. et al. *Lactobacillus* spp. reduces morphological changes and oxidative stress induced by deoxynivalenol on the intestine and liver of broilers. **Toxicon**, v. 185, p. 203-212, 2020.
- DOMIJAN, A. M. et al. In vitro genotoxicity of mycotoxins ochratoxin A and fumonisin B₁ could be prevented by sodium copper chlorophyllin – Implication to their genotoxic mechanism. **Food Chemistry**, v. 170, p. 455-462, 2015.
- DONALDSON, G. P.; LEE, S. M.; MAZMANIAN, S. K. Gut biogeography of the bacterial microbiota. **Nature reviews microbiology**, v. 14, p. 20-32, 2016.
- ESTÉVEZ, M. Oxidative damage to poultry: from farm to fork. **Poultry Science**, v. 94, n. 6, p. 1368-1378, 2015.
- FAO-Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. Disponível em <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/mycotoxins/es/> 2015. Acesso em 02 de setembro de 2020.
- GALARZA-SEEBER, R. et al. Leaky gut and mycotoxins: aflatoxin B₁ does not increase gut permeability in broiler chickens. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 3, n. 10, p. 1-8, 2016.
- GALVANO, F. et al. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. **Journal of Food Protection**, v. 64, p. 120-131, 2001.
- GHAREEB, K. et al. Impacts of the feed contaminant deoxynivalenol on the intestine of monogastric animals: poultry and swine. **Journal of Applied Toxicology**, v. 35, n. 4, p. 327-337, 2014.
- GRENIER, B. et al. Susceptibility of broiler chickens to coccidiosis when fed subclinical doses of deoxynivalenol and fumonisins—special emphasis on the immunological response and the mycotoxin interaction. **Toxins**, v. 8, n. 8, p. 231-253, 2016.
- GUO, Y. et al. Marine algal polysaccharides alleviate aflatoxin B₁ – induced bursa de Fabricius injury by regulating redox and apoptotic signaling pathway in broilers. **Poultry Science**.
- HOLMES, E. et al. Understanding the role of gut microbiome-host metabolic signal disruption in health and disease. **Review Microbes and Metabolism**, v. 19, ed. 7, p. 349-359, 2011.

HOWARD, P. C. et al. Comparison of the toxicity of several fumonisin derivatives in a 28-day feeding study with female B6C3F₁ mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.185, p. 153-165, 2002.

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

HWANG, E. S.; KIM, G. H. Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids and proteins *in vitro* and *in vivo* cancer research. **Toxicology**, v. 229, p. 1-10, 2007.

IARC-INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Fumonisin B₁. **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans**, n.82, p. 275–366, 2002.

IARC-INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: A Review of Human Carcinogens**. C. Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts, IARC, Lyon (France), 2012.

JANDHYALA, S. M. et al. Role of the normal gut microbiota. **Word Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 29, p. 8787-8803, 2015.

JIANG, M. et al. Effect of aflatoxin B₁ on IgA⁺ cell number and immunoglobulin mRNA expression in the intestine of broilers. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 37, n. 5, p. 450-457, 2015.

KULANTHAIVEL, L. et al. Therapeutic efficacy of kaempferol against AFB₁ induced experimental hepatocarcinogenesis with reference to lipid peroxidation, antioxidants and biotransformation enzymes. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 2 p. 252-259, 2012.

KHOEN, R.; NYSKA, A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. **Toxicologic Pathology**, v. 30, n. 6, p. 620-650, 2002.

LEAL, M. et al. Effect of lycopene on lipid peroxidation and glutathione-dependent enzymes induced by T-2 toxin *in vivo*. **Toxicology Letters**, v. 109, p. 1-10, 1999.

LEVINE, R. L. et al. Determination of carbonyl groups in oxidized proteins. **Methods in Molecular Biology**, v. 99, p. 15-24, 2000.

LI, Y. et al. T-2 Toxin, a Trichothecene Mycotoxin: Review of Toxicity, Metabolism, and Analytical Methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 8, p. 3441-3453, 2011.

LIEW, W. P. P.; MOHD-REDZWAN, S. Mycotoxin: Its Impact on Gut Health and Microbiota. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, n. 60, 2018.

LIU, N. et al. Effect of yeast cell wall on the growth performance and gut health of broilers challenged with aflatoxin B₁ and necrotic enteritis. **Poultry Science**, v. 97, n. 2, p. 477-484, 2018.

- LUCKE, A. et al. Dietary Deoxynivalenol Contamination and Oral Lipopolysaccharide Challenge Alters the Cecal Microbiota of Broilers Chickens. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 809, 2018.
- MA, Q. et al. Molecular Mechanisms of Lipoic Acid Protection against Aflatoxin B1-Induced Liver Oxidative Damage and Inflammatory Responses in Broilers. **Toxins**, v.7, n. 12, p. 5435-5447, 2015.
- MACKEL, M. et al. Cellular Effects of T-2 Toxin on Primary Hepatic Cell Culture Models of Chickens. **Toxins**, v.12, n.1, p. 16, 2020.
- MAGNOLLI, P. A.; POLONI, L.; CAVAGLIER, L. Impact of mycotoxin contamination in the animal feed industry. **Current Opinion in Food Science**, 2019.
- MAIORKA, A. Impacto da Saúde Intestinal na Produtividade Avícola. **V Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, Santa Catarina, Brasil, 2004.
- MALLMANN, C.A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos**. Santa Maria: Pallotti, 2007. 238 p.
- MALLMANN, C. A. et al. Prevalência das micotoxinas no Brasil e impactos sobre a produção. In: **XVIII Congresso da Abraves 2017**. GO. Anais... p. 215-229. 2017.
- MARCHIORO, A. et al. Effects of Aflatoxins on Performance and Exocrine Pancreas of Broiler Chickens. **Avian Diseases**, v. 57, n. 2, p. 280-284, 2013.
- MARY, V. S. et al. Reactive oxygen species sources and biomolecular oxidative damage induced by aflatoxin B1 and fumonisin B1 in rat spleen mononuclear cells. **Toxicology**, v. 302, p. 299-307, 2012.
- MIGLIORINI, M. J. et al. The Protective Effects of an Adsorbent against Oxidative Stress in Quails Fed Aflatoxin-Contaminated Diet. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 1-7, 2017.
- MISHRA, B.; JHA, R. Oxidative stress in the Poultry Gut: Potential Challenges and Interventions. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, n. 60, 2019.
- MISHRA, S. et al. Role of oxidative stress in Deoxynivalenol induced toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 72, p. 20-29, 2014.
- RAWAL, S.; KIM, J. E.; COULOMBE, JR. R. Aflatoxin B1 in poultry: Toxicology, metabolism and prevention. **Research in Veterinary Science**, v. 89, p. 325-331, 2010.
- RODRIGUES, J. V.; GOMES, C. M. Mechanism superoxide and hydrogen peroxide generation by human electron-transfer flavoprotein and pathological variants. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, p. 12-19, 2012.
- OSSELAERE, A. et al. Deoxynivalenol Impairs Hepatic and Intestinal Gene Expression of Selected Oxidative Stress, Tight Junction and Inflammation Proteins in Broiler

Chickens, but Addition of an Adsorbing Agent Shifts the Effects to the Distal Parts of the Small Intestine. **Plos One**, v. 8, n. 7, 2013.

OSSELAERE, A. et al. Toxic effects of dietary exposure to T-2 toxin on intestinal and hepatic biotransformation enzymes and drug transporter systems in broilers chickens. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 150-155, 2013.

OSWALD, I. P. et al. Effects of Mycotoxins on the Intestine. **Toxins**, v. 11, n. 3, p. 159, 2019.

OSWALD, I. P. et al. Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 10, p. 5870-5874, 2003.

PINTON, P.; OSWALD, I. P. Effect of deoxynivalenol and other type B trichothecenes on the intestine: a review. **Toxins**, v. 6, n. 5, p. 1615-1643, 2014.

PIERRON, A.; ALASSANE-KPEMBI, I.; OSWALD, I. P. Impact of two mycotoxins deoxynivalenol and fumonisin on pig intestinal health. **Porcine Health Management**, v. 2, n. 21, p. 1-8, 2016.

PINTO, P. S. A. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 73, p. 39-43, 2000.

POLONI, V. et al. A *Saccharomyces cerevisiae* RC016-based feed additive reduces liver toxicity, residual aflatoxin B1 levels and positively influences intestinal morphology in broiler chickens fed chronic aflatoxin B1-contaminated diets. **Animal Nutrition**, v. 6, n. 1, p. 31-38, 2020.

RAJPUT, S. A. et al. Ameliorative Effects of Grape Seed Proanthocyanidin Extract on Growth Performance, Immune Function, Antioxidant Capacity, Biochemical Constituents, Liver Histopathology and Aflatoxin Residues in Broilers Exposed to Aflatoxin B₁. **Toxins**, v. 9, p. 371, 2017.

RAUBER R.H. et al. Effects of fumonisin B1 on selected biological responses and performance of broiler chickens. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 9, p. 1081-1086, 2013.

RAUBER, R. H. et al. Individual and combined effects of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide and fumonisin B1 in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 91, n. 11, p. 2785-2791, 2012.

RAWAL, S. et al. Aflatoxin B₁ in poultry: Toxicology, metabolism and prevention. **Research in Veterinary Science**, v. 89, n. 3, p. 325-331, 2010.

SHIBAMOTO. T.; BJELDANES, L.F. Introdução à toxicologia dos alimentos. 2ed **Elsevier**: Rio de Janeiro, 2014.

SILVA, E. O., BRACARENSE, A. P. F. L.; OSWALD, I. P. Mycotoxins and oxidative stress: where are we? **World Mycotoxin Journal**, v. 11, n. 1, p. 113-134, 2018.

SINGH, R. et al. Significance of varying concentrations of T-2 toxin on growth performance, serum biochemical and hematological parameters in broilers chickens. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 62, n. 4, p. 468-474, 2020.

SKLAN, D. et al. The effect of chronic feeding of diacetoxyscirpenol and T-2 toxin on performance, health, small intestinal physiology and antibody production in turkey poults. **British Poultry Science**, v. 44, p. 46-52, 2003.

SRIDHAR, M.; SUGANTHI, R. U.; THAMMIAHA, V. Effect of dietary resveratrol in ameliorating aflatoxin B1-induced changes in broiler birds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, p. 1094-1104, 2015.

TANARU, I. et al. Assessment of the efficacy of a grape seed waste in counteracting the changes induced by aflatoxin B1 contaminated diet on performance, plasma, liver and intestinal tissues of pigs after weaning. **Toxicon**, v. 162, p. 24-31, 2019.

TESSARI, E. N. C. et al. Effects of Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 on Blood Biochemical Parameters in Broilers. **Toxins**, v. 2, p. 453-460, 2010.

THEUMER M. G. et al., Subchronic mycotoxicoses in Wistar rats: Assessment of the in vivo and in vitro genotoxicity induced by fumonisins and aflatoxin B1, and oxidative stress biomarkers status. **Toxicology**, v. 268, p. 104-110, 2010.

YANG, L. et al. Toxicity and oxidative stress induced by T-2 toxin and HT-2 toxin in broilers hepatocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 87, p. 128-137, 2016.

YIN, H. et al. T-2 Induces Oxidative Stress, Apoptosis and Cytoprotective Autophagy in Chicken Hepatocytes. **Toxins**, v. 12, n. 90, 2020.

YUNUS, A. W. et al. Deoxynivalenol as a contaminant of broiler feed: Intestinal development, absorptive functionality, and metabolism of the mycotoxin. **Poultry Science**, v. 91, n. 4, p. 852-861, 2012.

YUNUS, A. W. et al. *In vitro* aflatoxin B1 exposure decreases response to carbamylcholine in the jejunal epithelium of broilers. **Poultry Science**, v. 89, n. 7, p. 1372-1378, 2010.

VICUÑA, E. A. et al. Effect of dexamethasone in feed on intestinal permeability, differential white blood cell counts, and immune organs in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 94, n. 9, p. 2075–2080, 2015.

VOSS, K. A., SMITH, G. W.; HASCHEK W. M. Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137 p. 299-325, 2007.

WANG, X. et al. Fumonisin: oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro. **Archives of Toxicology**, v. 90, p. 81-101, 2016.

WIJTEN, P. J.; VAN DER MEULEN, J.; VERSTEGEN, M. W. Intestinal barrier function and absorption in pigs after weaning: a review. **British Journal of Nutrition**, v. 105, n. 7, p. 967-981, 2011.

WU, QH. Oxidative stress-mediated cytotoxicity and metabolism of T-2 toxin and deoxynivalenol in animals and humans: an update. **Archives of Toxicology**, v. 88, p. 1309-1326, 2014.

WU, S. et al. Intestinal toxicity of deoxynivalenol is limited by supplementation with *Lactobacillus plantarum* JM₁₁₃ and consequentially altered gut microbiota in broiler chickens. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 9, n. 74, 2018.

ZHOU, F.; SUN, W.; ZHAO, M. Controlled formation of emulsion gels stabilized by salted myofibrillar protein under malondialdehyde (MDA)-Induced oxidative stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 14. p. 3766-3777, 2015.