

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

**EFEITOS DAS AFLATOXINAS NO PÂNCREAS
EXÓCRINO E DESEMPENHO DE FRANGOS DE
CORTE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Alexandro Marchioro

Santa Maria, RS, Brasil

2012

EFEITOS DAS AFLATOXINAS NO PÂNCREAS EXÓCRINO E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

Alexandro Marchioro

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

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Mallmann

Santa Maria, RS, Brasil

2012

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

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

**EFEITOS DAS AFLATOXINAS NO PÂNCREAS EXÓCRINO E
DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE**
elaborada por
Alexandro Marchioro

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Carlos Augusto Mallmann, Dr., UFSM
(Presidente/Orientador)

Irineo Zanella, Dr., UFSM

Deise Helena Baggio Ribeiro, Dra., UFSC

Santa Maria, 27 de setembro de 2012.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pelas pessoas boas que fazem parte dela.

À Universidade Federal de Santa Maria e aos professores e funcionários do PPGMV, pela estrutura e qualidade do ensino público e gratuito.

Ao Prof. Carlos Augusto Mallmann, orientador deste trabalho, pela orientação, convívio profissional, amizade e pela oportunidade em fazer parte da equipe do LAMIC.

Ao Prof. Paulo Dilkin, pelo convívio, conselhos, sugestões e amizade, meu muito obrigado.

Aos meus, pais Ivania e Teugenes, e à minha irmã Tainara, com certeza as pessoas mais importantes em minha vida, que mesmo longe, sempre incentivaram muito para que eu alcançasse meus objetivos, pelos seus sacrifícios tão bem conhecidos por nós, para poder oferecer as condições necessárias para a minha formação. Saibam que os teus suores, não foram em vão. Agradeço pela pessoa que me tornei e por todos os valores que vocês sempre passaram.

Ao Instituto SAMITEC, por ter disponibilizado suas estruturas para a realização desse trabalho.

Ao CNPQ e ao LAMIC, fomentadores desta pesquisa.

A toda equipe do LAMIC, Andressa, Camila, Carlos, Cristiane, Dima, Fabiana, Fernanda, Francis, Ielena, Jane, Liziane, Luciane, Marília, Maurício, Vanessa e a todos que passaram por esse Laboratório, pelo auxílio concedido na execução deste trabalho, pelo convívio, amizade e momentos de descontração.

Ao Ricardo, pela amizade e ajuda durante o experimento e posterior análise dos dados.

Aos amigos do Instituto SAMITEC, Vinícius, André, Luiz, Diego, Camila, Liziane, Lidiane, Solange e Leandro, pelos trabalhos em conjunto nesse período, pela amizade e momentos de descontração.

À minha namorada Ronise, pelo amor, carinho, compreensão e apoio que recebi nesses dois anos de mestrado. Aos meus sogros, Normélia e Eldiro, pelos momentos que passamos juntos e ao apoio concedido.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e à minha formação pessoal e profissional, meu muito obrigado!

RESUMO

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

EFEITOS DAS AFLATOXINAS NO PÂNCREAS EXÓCRINO E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

Autor: Alexandro Marchioro
Orientador: Carlos Augusto Mallmann
Santa Maria, 27 de setembro de 2012.

Vários estudos relacionam os problemas com a saúde de aves de produção com as intoxicações decorrentes da ingestão de aflatoxinas. Porém, tem-se a necessidade da realização de pesquisas que aprofundem ainda mais o conhecimento dos efeitos das aflatoxinas sobre os sistemas envolvidos na digestão e no aproveitamento dos ingredientes das dietas, com isso, o objetivo desse trabalho, foi avaliar semanalmente os efeitos das aflatoxinas sobre a atividade das enzimas digestivas (α -amilase, lipase e tripsina) no pâncreas, parâmetros zootécnicos ao final de cada fase de produção e histologia do pâncreas de frangos de corte intoxicados aos 42 dias de experimento. Para tanto, foram utilizados 1080 pintos de corte, da linhagem Cobb, machos, de 1 dia de idade. Foi empregado delineamento experimental totalmente casualizado, no qual as aves foram divididas em quatro tratamentos com 18 repetições. Cada repetição foi composta por 15 aves, totalizando 270 animais por tratamento. Os tratamentos foram definidos conforme a concentração de aflatoxinas adicionadas na dieta: T1=0 mg/kg de aflatoxinas na ração; T2=0,7 mg/kg de aflatoxinas na ração; T3=1,7 mg/kg de aflatoxinas na ração e T4=2,8 mg/kg de aflatoxinas na ração. As coletas dos pâncreas foram realizadas em uma ave de cada repetição, escolhida ao acaso, aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade, totalizando dezoito aves de cada tratamento. O pâncreas de cada ave foi homogeneizado com água destilada, congelado em nitrogênio líquido, liofilizado e armazenado a -20 °C. O consumo de ração, peso corporal e conversão alimentar foram mensurados aos 21, 35 e 42 de experimento. Fragmentos de pâncreas de 6 aves de cada tratamento foram coletados aos 42 dias de idade, mantidos em formol 10% para avaliação histopatológica. A inclusão de aflatoxinas na dieta promoveu um aumento significativo nas atividades das enzimas lipase e α -amilase nos tratamentos T3 e T4. A atividade específica de tripsina apresentou diferença significativa somente no tratamento T4. As aflatoxinas induziram efeito negativo sobre o desempenho zootécnico, bem como alterações histopatológicas comprometendo o pâncreas exócrino das aves. As enzimas pancreáticas desempenham um papel crucial na digestão e absorção de macromoléculas ingeridas, portanto a influência na atividade dessas enzimas causada pelas aflatoxinas afeta diretamente a digestibilidade da dieta levando a prejuízos na produtividade dos animais.

Palavras-chave: Micotoxinas, α -amilase, lipase, tripsina, atividade enzimática, aves.

ABSTRACT

Master`s Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

EFFECTS OF AFLATOXINS IN THE EXOCRINE PANCREAS AND PERFORMANCE OF BROILER CHICKENS

Author: Alexandro Marchioro

Adviser: Carlos Augusto Mallmann

Santa Maria, September 27th, 2012.

Several studies have related the problems with the health of poultry production with poisoning resulting from ingestion of aflatoxins. However, there is a need to conduct further research to deepen knowledge of the effects of aflatoxin on the systems involved in digestion and utilization of the diet ingredients, with this, the objective of this study was to evaluate the effects of aflatoxin weekly on the activity of digestive enzymes (α -amylase, lipase and trypsin) in the pancreas, zootechnical parameters at the end of each stage of production and histology of pancreas of broilers intoxicated for 42 days of experiment. For this, we used 1080 broiler chicks, the Cobb males, 1 day old. Was completely randomized experimental design, in which the birds were divided into four treatments with 18 replications. Each replication consisted of 15 birds, totaling 270 animals per treatment. The treatments were defined as the concentration of added dietary aflatoxin: T1 = 0 mg / kg of aflatoxin in feed, T2 = 0.7 mg / kg of aflatoxin in feed; T3 = 1.7 mg / kg of aflatoxin in feed and T4 = 2.8 mg / kg of aflatoxin in feed. The samples of the pancreas were performed in a bird each repetition, chosen at random, at 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days, totaling eighteen birds per treatment. The pancreas of each bird was homogenized with distilled water, frozen in liquid nitrogen, lyophilized and stored at -20 °C. Feed intake, body weight and feed conversion were measured at 21, 35 and 42 of the experiment. Fragments of pancreas of 6 birds from each treatment were collected at 42 days of age, maintained in 10% formalin for histopathological evaluation. The inclusion of aflatoxins in the diet caused a significant increase in the activities of the enzymes α -amylase and lipase in treatments T3 and T4. The specific activity of trypsin only significant difference in treatment T4. Aflatoxins induced negative effect on live performance, as well as histopathological changes affecting the exocrine pancreas of birds. The pancreatic enzymes play a crucial role in digestion and absorption of ingested macromolecules, so the influence on the activity of these enzymes caused by aflatoxins directly affects the digestibility of the diet leading to losses in productivity of animals.

Key words: Mycotoxins, α -amylase, Lipase, Trypsin, Poultry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esquema da biotransformação da aflatoxina B ₁ e seus metabólitos, conforme OMS 1983.....	14
Figura 2- Mecanismo de ação das enzimas sobre os substratos.....	17

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Efeito de diferentes concentrações de aflatoxinas no peso corporal, consumo de ração e conversão alimentar de frangos de corte intoxicados durante 42 dias. 34
- Tabela 2- Atividade das enzimas α -amilase, lipase e tripsina em frangos de corte aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade, alimentados com diferentes concentrações de aflatoxinas na ração.....35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aw	Atividade de Água
ANOVA	Análise de variância
AFB ₁	Aflatoxina B ₁
Ca	Cálcio
Cl	Cloro
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
FAO	Food and Agriculture Organization
IARC	International Agency for Research on Cancer
LAMIC	Laboratório de Análises Micotoxicológicas
OMS	Organização Mundial da Saúde
ppb	Partes por bilhão
ppm	Partes por milhão
RASAF	Rapid Alert System for Food and Feed
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria
Ubabef	União Brasileira de Avicultura
UE	União Européia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Micotoxinas.....	11
2.1.1 Aflatoxinas	12
2.2 Enzimas.....	17
2.2.1 Enzimas digestivas em aves	18
3. CAPÍTULO I - EFFECTS OF AFLATOXINS ON PERFORMANCE AND EXOCRINE PANCREAS OF BROILER CHICKENS	22
INTRODUCTION	23
MATERIAL AND METHODS.....	24
RESULTS.....	26
DISCUSSION	27
REFERENCES	31
ACKNOWLEDGEMENTS.....	33
4. CONCLUSÕES	37
5. REFERÊNCIAS	38
6. ANEXO.....	43

1. INTRODUÇÃO

A contaminação dos alimentos por fungos representa um sério risco, tanto para saúde animal quanto para a saúde humana. As micotoxinas começaram a receber maior importância científica a partir de 1960, quando as aflatoxinas foram responsáveis pela mortalidade de mais de 100.000 aves na Europa. Com o avanço das pesquisas, ficou evidente que as mesmas possuem propriedades extremamente tóxicas a todos os mamíferos. Desta forma, cada vez mais, as micotoxinas vêm recebendo espaço no cenário mundial. BENÍTEZ (2002) afirma que um quarto dos grãos produzidos no mundo estão contaminados por micotoxinas. O Brasil, um dos líderes na produção de alimentos agrícolas e de commodities, possui condições ambientais excelentes para o crescimento de fungos micotoxigênicos. Dentre as micotoxinas existentes, a aflatoxina, produzida por fungos do gênero *Aspergillus*, ocorre frequentemente em grãos, como o milho, o qual se destaca como cereal de grande importância, constituindo cerca de 70% das rações formuladas para aves e suínos (SANTOS, 2010).

O Brasil atualmente ocupa posição de destaque mundial no mercado de frango de corte. Dados publicados no último relatório da União Brasileira de Avicultura (Ubabef), demonstram que o Brasil produziu, no ano de 2011, 13.058 milhões de toneladas de carne de frango, o que representa um crescimento de 6,8% em relação a 2010 e um recorde na história do setor. Com este desempenho, o Brasil destaca-se como o terceiro maior produtor mundial de carne de frango, ficando atrás apenas da China e Estados Unidos (UBABEF, 2012).

Existem vários estudos que relacionam os problemas com a saúde de aves de produção com as intoxicações decorrentes da ingestão de aflatoxinas. Embora tais estudos sejam de importância para a micotoxicologia, tem-se a necessidade da realização de trabalhos que aprofundem ainda mais o conhecimento dos efeitos das aflatoxinas sobre os sistemas envolvidos na digestão e no aproveitamento dos ingredientes das dietas. Com isso, objetivou-se nesse trabalho, avaliar semanalmente os efeitos das aflatoxinas sobre a atividade das enzimas digestivas (α -amilase, lipase e tripsina) no pâncreas, parâmetros zootécnicos ao final de cada fase de produção e histologia do pâncreas de frangos de corte intoxicados aos 42 dias de experimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Micotoxinas

Micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos, de baixo peso molecular e não antigênicos (QUIN *et al.*, 2005), produzidos por algumas espécies de fungos, sobretudo dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Estes fungos estão associados à produção de aflatoxinas, ocratoxinas, esterigmatocistina, patulina, rubratoxina B, ácido penicílico, citrina, zearalenona e tricotecenos, sendo estas micotoxinas comprovadamente tóxicas em alimentos (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

Metabólitos secundários não são substâncias essenciais ao crescimento ou manutenção dos fungos, e sua síntese ocorre no final da fase log de crescimento (DEMAIN *et al.*, 2005). A produção de micotoxina está diretamente relacionada com o crescimento do fungo, entretanto, a presença da toxina também não indica a contaminação fúngica, já que estas podem ser destruídas durante as etapas de preparação da ração (GONÇALEZ *et al.*, 2001).

Estima-se que existam de 100 a 250 mil espécies fúngicas. Destas, cerca de 200 são capazes de produzir micotoxinas, mas somente 30 são efetivamente responsáveis por casos de micotoxicoses (GOMPERTZ *et al.*, 2008). Diferentes espécies de fungos podem produzir um mesmo tipo de micotoxina, assim como, uma única espécie pode produzir mais de um tipo de toxina (BACK, 2004). Atualmente já foram identificadas pelo menos 300 micotoxinas (BORGES *et al.*, 2004).

Existem algumas condições que predispõem a produção de micotoxinas pelos fungos: umidade, temperatura, aeração, tipo e disponibilidade de substrato (PITT & HOCKING, 2009). Para que os fungos desenvolvam-se adequadamente no substrato, é necessária a disponibilidade de água (MALLOZZI & CORRÊA, 1998). Além de fatores relativos às condições ambientais necessárias para a produção de micotoxinas pelos fungos, existem também fatores relativos ao próprio fungo, como as diferentes espécies e cepas (KOZAKIEWICZ & SMITH, 1994).

A *International Agency for Research on Cancer* (1993) classifica as substâncias de acordo com seu potencial carcinogênico. No caso das micotoxinas, a aflatoxina foi classificada como carcinogênica para humanos (Grupo 1), a ocratoxina e as fumonisinas como possíveis carcinogênicos (Grupo 2B), e zearalenona, deoxinivalenol (DON) e toxina T-2

como substâncias não classificadas (Grupo 3). As micotoxinas são consideradas um problema mundial e a Organização de Agricultura e Alimentos das Nações Unidas (FAO) estimou que mais de 25% da produção mundial de alimentos encontra-se contaminada com algum tipo de micotoxina (BENÍTEZ, 2002).

2.1.1 Aflatoxinas

As aflatoxinas são produzidas principalmente por fungos do gênero *Aspergillus* (*A. flavus* e *A. parasiticus*). Atualmente são conhecidos 18 compostos similares designados pelo termo aflatoxina, porém, os principais são identificados como B₁, B₂, G₁ e G₂ (RICHARD, 2007), sendo a B₁ a mais tóxica. São compostos de natureza cristalina, termoestáveis, superando 200°C e não são afetadas pelo frio. Solúveis em solventes polares, como clorofórmio e metanol, e insolúveis em gorduras e óleos. São relativamente instáveis quando expostas à luz e à radiação ultravioleta. São destruídas na presença de amônia, hipoclorito ou soluções fortemente alcalinas. Além disso, são incolores, inodoras e não alteram o sabor dos alimentos (BORETTI, 1998).

Distribuição e prevalência

A presença e a magnitude da contaminação dos alimentos por aflatoxinas variam em razão de fatores geográficos, sazonais e também das condições de cultivo, colheita e armazenamento dos produtos agrícolas. Os cultivos em zonas tropicais e subtropicais são mais propensos à contaminação do que em regiões temperadas, pois as condições ótimas para a produção de toxinas predominam nas regiões de elevada umidade (RODRIGUEZ, 2002). Os fungos toxigênicos podem invadir e desenvolverem-se em uma grande variedade de substratos como cereais, sementes e alimentos durante as fases de crescimento, cultivo, colheita, transporte processamento e armazenamento. No entanto, a presença de fungos não significa necessariamente a presença das toxinas, pois nem todos são produtores delas. Da mesma forma, a presença das toxinas não necessariamente pode estar relacionada à presença do fungo produtor, pois aquela apresenta grande estabilidade em grãos, mesmo após a deterioração do fungo. Em cereais estocados, os fatores como umidade relativa do ar de 80 a 85%, com Aw superior a 0,7 em cereais, e temperatura entre 24 e 35°C representam boas condições para a produção de aflatoxinas (MALLMANN & DILKIN, 2007). Resultados de

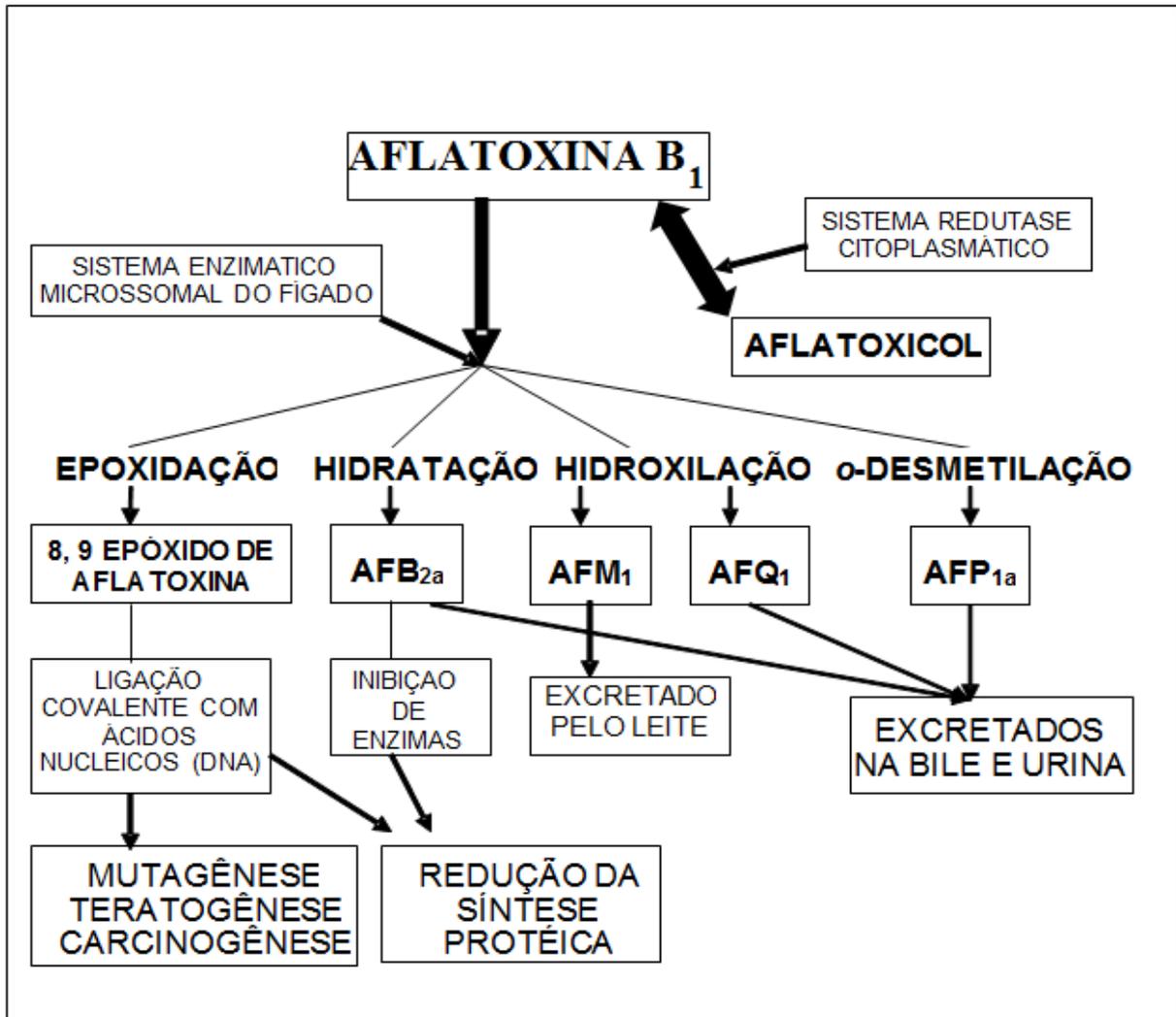
análises, realizadas no Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) durante os últimos 17 anos, demonstraram que a ocorrência de aflatoxinas no milho, apresenta uma frequência de positividade de 46% nas 68.420 amostras analisadas na rotina desse laboratório, com uma média de contaminação de 9,1 µg/kg (LAMIC, 2012).

Na União Européia (UE), no âmbito da gestão dos riscos, desenvolveu-se o RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*), que é uma ferramenta para gerir incidentes e crises alimentares, permitindo estabelecer o panorama no que se refere às tendências dos perigos de segurança alimentar que afetam os consumidores Europeus. A análise dos dados do relatório anual do RASFF referente ao ano de 2011 mostra que as micotoxinas são os agentes químicos que envolveram maior número de notificações. De um total de 635 notificações, 585 correspondem à presença de aflatoxinas.

Absorção e metabolismo das aflatoxinas

A absorção das aflatoxinas ocorre pela passagem do meio externo, geralmente por uma barreira composta por membranas, para o meio interno do organismo, alcançando a corrente sanguínea. Em decorrência da composição lipídica das membranas que compõem as células, a lipossolubilidade do xenobiótico absorvido assume fundamental importância, facilitando o trânsito por essa barreira. Assim, as aflatoxinas, por sua alta lipossolubilidade, podem ser facilmente absorvidas pela pele, pulmões e trato gastrointestinal (FERNANDEZ, 1994).

Uma vez absorvida, a aflatoxina B₁ é imediatamente ligada, de forma irreversível, à albumina e, em menor escala, a outras proteínas. Formas de aflatoxinas ligadas e não ligadas a proteínas séricas espalham-se pelos tecidos, especialmente o fígado. Depois de depositada no fígado, as aflatoxinas são biotransformadas pelo sistema microsomal hepático em metabólitos tóxicos: aflatoxina B_{2α} e epóxido de aflatoxina. Estes metabólitos reativos têm a habilidade de ligar-se de forma covalente com constituintes intracelulares (WYATT, 1991). O mecanismo de ação das aflatoxinas na célula animal ocorre, na maioria das vezes, através de alterações dos processos básicos (como no metabolismo de carboidratos, lipídios e esteróides) e de alterações da função mitocondrial, da síntese proteica e de ácidos nucleicos, constituindo-se estes últimos nos principais sítios de ação das aflatoxinas. Todos esses efeitos primários somados à ação direta sobre enzimas proteínas ou coenzimas, determinam efeitos secundários que alteram a regulação da atividade metabólica da célula afetada (UENO, 1991).



Fonte: adaptado de OMS, 1983.

Figura 1 – Esquema da biotransformação da aflatoxina B₁ e seus metabólitos.

Efeito das aflatoxinas sobre as aves

Com relação às espécies exploradas na avicultura comercial, a susceptibilidade de intoxicação por aflatoxinas é maior em patos, seguidos de perus, gansos, faisões e frangos (MULLER *et al.*, 1970). MALLMANN *et al.* (2009) afirmam que mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie, a resposta à exposição de aflatoxinas pode variar de acordo com a raça, sexo, idade e composição da dieta entre outros fatores.

Quando as aflatoxinas são ingeridas pelos animais podem, produzir diversos efeitos deletérios à saúde, sobretudo pelas suas propriedades carcinogênicas, teratogênicas, mutagênicas, hemorrágicas e desenvolvimento de carcinomas hepáticos. Os efeitos tóxicos destas aflatoxinas podem afetar o desempenho metabólico em aves como conversação

alimentar e ganho de peso (KUMAR *et al.*, 2007; MALLMANN & DILKIN, 2007). Na avicultura industrial, rações contaminadas mesmo com doses inferiores a 75 µg/kg de aflatoxina causam reduções de até 10% no peso das aves (LAZZARI, 1997). TESSARI (2004) demonstrou que níveis a partir de 50 µg/kg de AFB₁ causam uma redução no ganho de peso corpóreo de frangos de corte ao final do experimento. CARDOSO (2007), administrando aflatoxinas em frangos de corte até os 21 dias de idade, observou redução no ganho médio de peso do grupo que foi inoculado somente com aflatoxinas na dose de 2 mg/kg.

O fígado é o órgão mais lesado resultando em uma série de danos ao metabolismo das proteínas, carboidratos e lipídeos (HOERR, 1997), a degeneração gordurosa hepática e proliferação dos ductos biliares induzem diversas alterações séricas, principalmente constatadas pelo aumento da atividade das enzimas, coagulopatias e diminuição na produção de proteínas (OLIVEIRA & GERMANO, 1997). SANTIN *et al.* (2003) relataram, além da redução no desempenho, alterações patológicas em importantes órgãos, como rim e fígado, e alterações no sistema imunológico das aves. Outros órgãos como intestino, baço, linfonodos e rins também podem sofrer alterações, principalmente em animais monogástricos como aves e suínos (MARIN *et al.*, 2002). Alterações histopatológicas no fígado de frangos de corte como degeneração hepática, hiperplasia e infiltração de heterofilos, foram observadas por TESSARI (2004).

Na aflatoxicose aguda os sinais clínicos observados são prostração, anorexia, icterícia e, dependendo da dose ingerida, alta mortalidade. Já a aflatoxicose crônica não é facilmente reconhecida, pois prejudica a produtividade do lote. Sinais clínicos como depressão, perda de apetite, penas arrepiadas, paralisia e diarreia foram observadas em frangos de corte por (LEESON *et al.*, 1995). A aflatoxicose também causa considerável redução nos níveis de proteínas plasmáticas, influenciando na produção de hemoglobinas, no mecanismo de coagulação sanguínea e na síntese de importantes sistemas enzimáticos que, associados ao aumento da fragilidade capilar, provocando hemorragias generalizadas (BURAGAS, 2005).

Em surtos de aflatoxicose, uma das características mais marcantes, é a má absorção, na qual prejudica a eficiência alimentar e eleva o custo de produção. A má absorção manifesta-se como partículas mal digeridas de ração na excreta das aves e está associada com esteatorréia ou excreção aumentada de lipídeos. Em frangos de corte a esteatorréia é causada devido a o impacto causado pelas aflatoxinas na atividade das enzimas pancreáticas, principalmente sobre a lipase, e pela diminuição dos sais biliares, necessários para digestão e absorção das gorduras (MALLMANN *et al.*, 2007).

O dano mais proeminente à produção animal decorre do efeito de baixas concentrações de aflatoxinas nas rações, insuficientes para desencadear quadro perceptível, mas capazes de alterar o desempenho animal, prejudicando a lucratividade. A perda no ganho de peso é determinada pela redução nas taxas de síntese proteica e por alterações no metabolismo energético, comprometendo o sistema imunológico dos animais e tornando-os propensos a patologias infecciosas (ARAVIND *et al.*, 2003). A sensibilidade do sistema imunológico para a imunossupressão induzida pela aflatoxina pode ser manifestada pela depressão da atividade dos linfócitos T ou B e do comprometimento da função efetora dos macrófagos (CORRIER, 1991). Ocorre aplasia do timo e da bursa de Fabricius, redução do número e da atividade de células T, supressão da atividade fagocitária e redução dos componentes humorais, como complemento (C4), interferon e imunoglobulinas IgG e IgA (PIER, 1992). Estas alterações contribuem para ocorrência de infecções concomitantes, sobretudo por agentes virais e bacterianos. Frangos alimentados com 300 µg/kg de aflatoxinas na dieta apresentaram diminuição dos níveis séricos de albumina e globulinas, como também redução da síntese proteica pelo fígado (GHOSH, 1990).

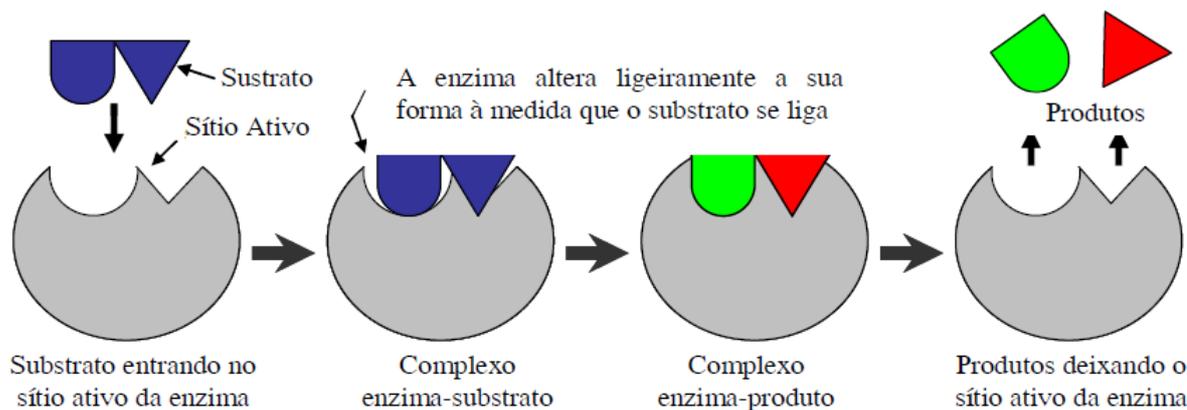
Limite máximo de aflatoxinas para aves de produção

Considerando a toxicidade das aflatoxinas, a legislação brasileira estabeleceu limites máximos seguros para as aflatoxinas presentes em alimentos destinados a alimentação animal e humana. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento com a Portaria MA/SNAD/SFA N°. 07, de 09/11/88 estabelece o limite máximo de 50 µg/kg para essas micotoxinas em rações destinadas ao consumo animal (BRASIL, 1988). MALLMANN *et al.*, (2007) observou que o limite máximo de aflatoxinas em rações (50 µg/kg) adotado pela legislação brasileira não pode ser considerado seguro na criação de frangos de corte, uma vez que níveis bastante inferiores acarretaram alterações em alguns parâmetros hematológicos, sendo, portanto, potencialmente capaz de afetar o desempenho das aves. Assim, com base em experimentos realizados *in vivo*, novas recomendações foram estabelecidas com relação aos limites seguros de micotoxinas para rações de frangos de corte. De acordo com LAMIC (2012), estes limites são de 0, 2 e 5 µg/kg de aflatoxinas, para frangos de corte em fase inicial, crescimento e final, respectivamente, estando bem abaixo dos valores descritos pela portaria ministerial citada.

2.2 Enzimas

As enzimas são proteínas com propriedades catalisadoras sobre as reações que ocorrem nos sistemas biológicos. Elas apresentam um elevado grau de especificidade sobre seus substratos acelerando reações específicas sem serem alteradas ou consumidas durante o processo. As enzimas são sintetizadas por células vivas e atuam em quase todas as reações químicas do metabolismo dos organismos vivos e, portanto, também estão presentes nos vários alimentos, atuando na hidrólise do material alimentício em compostos mais simples. (NELSON & COX, 2002).

Segundo BOYER (2005) as moléculas de enzimas contêm uma fenda especial denominada sítio ativo, que contém aminoácidos cujas cadeias laterais criam uma superfície complementar ao substrato. Isso permite que as enzimas atuem na ruptura de determinadas ligações químicas. O sítio ativo liga-se ao substrato, formando um complexo enzima-substrato que será convertido à enzima e produto (Figura 2). Qualquer que seja o mecanismo catalítico de uma reação, uma vez que as moléculas de substrato tenham reagido, a enzima separa-se dos produtos, liberando a molécula de enzima para novas reações. Portanto, as enzimas não são consumidas nas reações que catalisam.



Fonte: BRONDANI, 2010.

Figura 2 – Mecanismo de ação das enzimas sobre os substratos.

A catálise enzimática é essencial para os sistemas vivos. Nas condições biológicas relevantes, as reações não catalisadas tendem a ser lentas. A maioria das moléculas biológicas são muito estáveis nas condições internas das células com pH neutro, temperaturas amenas e ambiente aquoso. Além disso, muitos processos bioquímicos corriqueiros são desfavoráveis ou improváveis no ambiente celular sem a presença das enzimas. As enzimas contornam estes

problemas ao proporcionarem um ambiente específico adequado para que uma dada reação possa ocorrer mais rapidamente (NELSON & COX, 2010).

O processo digestivo, em termos gerais, é a transformação do alimento no trato digestório em compostos mais simples (aminoácidos, ácidos graxos, glicerol, açúcares) para que sejam transportados aos tecidos, via corrente sanguínea. Para que estas alterações ocorram, é necessária a presença de enzimas digestivas ao longo do trato digestório (DE SILVA & ANDERSON, 1995).

2.2.1 Enzimas digestivas em aves

As enzimas digestivas já se encontram ativas no embrião das aves, assim como mecanismos de absorção de nutrientes no intestino. Enzimas extracelulares, secretadas pela endoderme do saco vitelino, atuam sob o substrato, permitindo a absorção dos produtos da digestão, inclusive de macromoléculas (SKLAN & NOY, 2000).

Na eclosão, o sistema digestivo da ave está anatomicamente completo, mas sua capacidade funcional de digestão e absorção ainda está imatura, se comparado à de aves adultas (OVERTON & SHOUP 1964; CHAMBERS & GREY, 1979, apud MAIORKA *et al.*, 2002). No período imediatamente após a eclosão, o peso do intestino do pintinho aumenta com maior velocidade do que o seu peso corporal como um todo. Este processo de rápido desenvolvimento atinge um pico máximo por volta de 6 a 8 dias para o intestino, entretanto, outros órgãos do sistema digestório como o pâncreas e moela não apresentam o mesmo ritmo de crescimento quanto ao seu peso relativo (SKLAN & NOY, 2000). As aves nascem com alguma reserva enzimática no pâncreas, que tende ser reduzida até o quinto ou sexto dia de vida e, posteriormente, aumentada novamente até atingir produções máximas aos 10 dias de idade (NITSAN *et al.*, 1991).

Atualmente a primeira semana representa 17% da vida do frango de corte e é nesta fase, estendendo-se até a segunda semana, onde se estabelecem transformações fundamentais para o desenvolvimento e terminação das aves. Logo após a eclosão, os pintinhos já interagem fortemente com o ambiente procurando bicar e ingerir partículas, o que leva a mudanças na estrutura morfofisiológicas do trato gastrointestinal. Com a ingestão de alimentos, a maturação dos órgãos digestórios é acelerada (e induz a produção de secreções digestivas),

assim como a utilização das reservas do saco vitelino, possivelmente devido ao aumento de intensidade de movimentos antiperistálticos no intestino (MAIORKA *et al.*, 2002).

O pâncreas é um órgão com características endócrinas e exócrinas. Diretamente envolvido com a digestão está a porção exócrina que possui duas funções: 1) secreções de suco rico em íons bicarbonato e água, para elevar o pH ácido do conteúdo proveniente da moela que flui para o duodeno; e 2) secreção de enzimas para a digestão luminal de proteínas, carboidratos e gorduras. As enzimas proteolíticas são as que degradam as proteínas, sendo a tripsina a mais abundante. A enzima para a digestão de carboidratos é a amilase pancreática. A digestão de gorduras é feita pela lipase pancreática. Essas são as três principais enzimas digestivas, presentes na região duodenal liberadas pelo pâncreas em frangos de corte (MAIORKA *et al.*, 2002). A alimentação de pintinhos estimula a secreção das enzimas pancreáticas e a utilização de níveis adequados de sódio é essencial para os mecanismos de absorção de nutrientes (em especial glicose e aminoácidos) pela mucosa intestinal (NOY & SKLAN, 2000).

A lipase (triacilglicerol ester hidrolase), presente no suco pancreático dos animais, catalisa a hidrólise dos triacilgliceróis em ácidos carboxílicos em solução aquosa. Essa enzima é ativada em solventes orgânicos hidrofóbicos com pequena quantidade de água, onde ocorre o equilíbrio químico (JAEGER & REETZ, 1998). Essa enzima é capaz de realizar uma reação hidrolítica muito rápida entre duas fases não miscíveis. O substrato encontra-se na fase lipídica, enquanto moléculas de água, necessárias para a hidrólise, estão presentes na fase aquosa. A reação enzimática ocorre na interface óleo - água, favorecida pela colipase, que é um cofator proteico liberado pelo pâncreas que permite a interação da lipase com gotículas de gordura na luz intestinal. Os sais biliares e a colipase alteram o pH ótimo da lipase pancreática de 8,5 para 6,0, beneficiando um incremento em sua atividade, pois o pH da porção superior do intestino delgado, principal local de ação da enzima, está normalmente entre 6,0 e 6,5 (SMITH *et al.*, 1988; MORAN, 1985).

A digestão dos lipídios ocorre com o auxílio de enzimas e de emulsificantes que permitem uma maior área para a ação da enzima lipase pancreática. Grande parte deste processo ocorre no duodeno, jejuno e íleo. Quando as gorduras provenientes do estômago ingressam no intestino delgado encontram um ambiente alcalino ($\text{pH} \cong 5,8 - 6,0$) que permite uma atuação da bile produzida no fígado e armazenada na vesícula biliar. A bile tem por função emulsificar os lipídios, aumentando superfície dos mesmos com a formação de microgotículas de gordura (FREEMAN, 1985). Segundo este mesmo autor, esta fina subdivisão à bile, tem por propósito expor uma superfície apropriada para a ação da lipase

pancreática na interface óleo - água. A lipólise é uma função diretamente relacionada com a área de superfície exposta ao substrato da presente enzima. A colipase é requerida para a ativação e funcionamento da lipase no substrato. Uma estreita relação cinética é conhecida e ela age por interação entre a colipase, sais biliares e lipase.

A α -amilase presente no suco pancreático de animais (α -1,4-glucano-4-glucano hidrolase) é uma endoglicosidase que catalisa a hidrólise das ligações (1-4)- α -D-glicosídicas do amido, amilose, amilopectina, glicogênio e várias maltodextrina (YOON & ROBYT, 2003). Em aves é a principal enzima envolvida no processo de hidrólise de sacarídeos e na digestão do amido, quase exclusivamente, pois elas não possuem α -amilase salivar (MORAN, 1982). O principal local da digestão do amido e do glicogênio é o intestino delgado, pois as enzimas amidolíticas não estão presentes no suco gástrico. A hidrólise do amido pela α -amilase é rápida, sendo geralmente completada no momento em que os conteúdos intestinais alcançam a junção do duodeno e jejuno (SMITH *et al.*, 1988; NELSON & COX, 2002; BERG *et al.*, 2002). A hidrólise do amido se inicia no papo pela ação fermentativa de microrganismos com baixa produção de ácido lático e ácido acético, contribuindo com aproximadamente 3% da necessidade energética do animal. Assim, a digestão dos carboidratos realmente acontece quando o bolo alimentar entra em contato com a α -amilase pancreática no duodeno da ave (ROSTAGNO, 1994).

A atividade da α -amilase é praticamente desprezível até o segundo dia de idade, apenas entre o segundo e o sétimo dia é que existe um aumento na secreção desta enzima. Isto se deve provavelmente à quase ausência de carboidratos no saco vitelino, e esta demora na secreção destas enzimas deve-se à adaptação das secreções aos nutrientes ingeridos pelo pintinho nas primeiras horas. MORAN (1985) observou que a secreção de α -amilase é substrato-dependente, sendo influenciada pela quantidade de amido da dieta. Atividade enzimática de α -amilase é dependente de íons Ca^{++} e Cl^- . Um íon Ca^{++} é firmemente ligado a cada molécula da enzima e remove totalmente a supressão da atividade. Os íons Ca^{++} aumentam a taxa de hidrólise dos triacilgliceróis ao interagirem com os ácidos graxos livres, formando sais de cálcio insolúveis melhorando as condições do meio para a ação da enzima (SMITH *et al.*, 1988). A perda de íons Ca^{++} na digesta causa várias mudanças conformacionais que aumentam a sensibilidade para que a digestão pela tripsina aconteça. O cloro também é necessário para a atividade de α -amilase, entretanto, não está ligado à molécula como o Ca^{++} . Outros ânions podem suprir o requerimento para atividade de α -amilase em frangos, mas o íon Cl^- é o mais eficiente (MORAN, 1982).

O suco pancreático contém ainda o tripsinogênio e o quimiotripsinogênio, formas inativas em que são secretadas as enzimas proteolíticas tripsina e quimiotripsina. Sendo produzidas na forma inativa, as proteases não digerem suas células secretoras. Na luz do duodeno, o tripsinogênio entra em contato com a enteroquinase, enzima secretada pelas células da mucosa intestinal, convertendo-se a tripsina, que por sua vez contribui para a conversão do precursor inativo quimiotripsinogênio em quimiotripsina, enzima ativa. A tripsina e a quimiotripsina hidrolisam polipeptídios, transformando-os em oligopeptídeos. A pepsina, a tripsina e a quimiotripsina rompem ligações peptídicas específicas ao longo das cadeias de aminoácidos (ERLANGER *et al.*, 1961).

DUNNINGTON; SIEGEL (1995) verificaram que a atividade relativa de tripsina de frangos selecionados para alto/baixo peso vivo aos 42 dias de idade teve o mesmo comportamento da amilase (níveis mais elevados aos 10 dias), só que continuou aumentando até 15 dias de idade. Da mesma forma, a atividade específica de tripsina no pâncreas de frangos de corte do nascimento até 20 dias, em estudo realizado por NITSAN *et al.* (1991), diminuiu durante os 6 primeiros dias após nascimento e aumentou cerca de 10 - 20% aos 14 dias de idade.

As mudanças nas atividades das enzimas digestivas afetam diretamente a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta, afetando o desenvolvimento dos animais. RICHARDSON & HAMILTON (1987), observaram um aumento significativo da atividade da lipase e da α -amilase em aves de postura que receberam 4 mg de aflatoxina B₁/kg na dieta. Por outro lado, OSBORNE & HAMILTON (1981) relataram que a aflatoxicose causou, além de má absorção dos nutrientes da dieta, esteatorréia e redução dos sais biliares, diminuição na atividade das enzimas pancreáticas lipase, tripsina, amilase e RNase em frangos de corte aos 21 dias de idade. MATUR *et al.* (2010) constatou que a presença de aflatoxinas na dieta em níveis de 100 μ g/kg causa efeitos adversos sobre as enzimas hepáticas e sobre as enzimas digestivas em poedeiras.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir do trabalho desenvolvido permitem concluir que as aflatoxinas promovem:

1. piora no desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar) em frangos de corte até os 42 dias de idade;
2. aumento da atividade das enzimas endógenas no pâncreas em frangos de corte intoxicados com aflatoxinas;
3. alterações histológicas no pâncreas exócrino das aves comprometendo diretamente sua função.

Comprovados os efeitos das aflatoxinas sobre a produção e excreção das enzimas digestivas, podem-se elaborar estratégias para reformular as dietas afetadas por estas micotoxinas aumentando o aporte enzimático com a suplementação de enzimas exógenas (industriais) visando corrigir a carência das enzimas pancreáticas causadas por esta intoxicação.

5. REFERÊNCIAS

- ARAVIND, K. L. et al. Efficacy of sterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. **Poultry Science**, v.82, p.571-576, 2003.
- BENÍTEZ, J. Manejo integrado de micotoxinas utilizando el concepto análisis de peligro y puntos de control críticos. **Revista Indústria Avícola**, v.2, p.24-30. 2002.
- BERG, J. M. S.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Biochemistry**. 5th ed. New York; W. H. Freeman and Company, 2002, 974 p.
- BORETTI, L. Micotoxinas em poedeiras. **Revista Avicultura Industrial**, São Paulo, n.1059, p. 41-44, set. 1998.
- BORGES, L. R.; PIMENTEL, I. C.; BEUX, M. R.; TALAMINI, A. Contagem de fungos no controle de qualidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) e isolamento de gêneros potencialmente micotoxigênicos **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.20, n.1, p.103-110. 2004.
- BOYER, R. F. **Concepts in Biochemistry**. 3nd ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, 2005. 736p.
- BRASIL. Leis e Decretos. Ministério da Agricultura. Portaria MA/SNAD/SFA nº. 07, de 09 de novembro de 1988, Diário Oficial da União de 09 de novembro de 1988 - Seção I, página 21.968.
- BRONDANI, D. **Desenvolvimento de biossensores para determinação de adrenalina**. Dissertação de Mestrado. Florianópolis (SC), Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.
- BURAGAS, A. **Comportamento alimentar de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix japonica*) recebendo rações com diferente micotoxinas**. 2005. Dissertação de Mestrado. Pirassununga (SP), Universidade de São Paulo, 2005.
- CARDOSO, V. S. **Efeitos da piperina em frangos de corte (*Gallus gallus*) com intoxicação experimental por aflatoxinas**. Dissertação de Mestrado. Seropédica (RJ): Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.
- CORRIER, D. E. Micotoxicoses: Immunossuppression of mechanisms. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.30, p.73-87, 1991.
- DEMAIN, A. L.; VELASCO, J.; ADRIO, J. L. Industrial mycology: past, present and future. In: Z. An. **Handbook of Industrial Mycology**. New York: Marcel Dekker, v.22, p.763. 2005.
- DE SILVA, S. S.; ANDERSON, T. A. **Fish Nutrition in Aquaculture**. Ed. Chapman & Hall, London. 319p. 1995.

DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL P. B. Enzyme activity and organ development in newly hatched chicks selected for high or low eight-week body weight. **Poultry Science**, v.74, p.761-770, 1995.

ERLANGER, B. F.; KOKOWSY, N.; COHEN, W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.95, n.2, p.271-278, 1961.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. D. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul. 2004. 510 p.

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

FREEMAN, C. P. The digestion, absorption and transport of fats-non-ruminants. In: **Fats in Animal Nutrition**. Butterworths, London, p. 105-122, 1985.

GHOSH, R. C. Immunosuppression in broiler under experimental aflatoxicosis. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**. v. 146, p. 457-462, 1990.

GOMPERTZ, O. F.; GAMBALE, W.; PAULA, C. R.; CORRÊA, B. Características gerais dos fungos. In: L. R. Trabulsi e F. Alterthum **Microbiologia**. São Paulo - SP: Atheneu, 2008. p.760.

GONÇALEZ, E.; PINTO, M. M.; FELICIO, J. D. Análise de Micotoxinas no Instituto Biológico de 1989 a 1999. **Biológico**, v.63, n.1/2, p.15-19, 2001.

HOERR, F. J. Mycotoxicoses. In: CALNEK, B. W.; BARNES, H. J.; BEARD, C. W. **Diseases of Poultry**, 10th ed. Iowa, State University Press, 1080p. 1997.

IARC - International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins**. Lyon, v.56. 489-521 p. 1993.

JAEGER, K-E.; REETZ, M. T. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. **Tibtech**, v. 16, n.9, p.396-403, 1998.

KOZAKIEWICZ, Z.; SMITH, D. Physiology of *Aspergillus*. In: J. E. Smith. **Biotechnology Handbooks 7 - *Aspergillus***. New York: Plenum Press, p. 23-40, 1994.

KUMAR, V. et al. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. **Crop Protection**, v. 27, p. 89-905, 2007.

LAMIC – Laboratório de Análises Micotoxicológicas – Universidade federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, Brasil. Disponível em <http://www.lamic.ufsm.br>. Acesso 24 agosto de 2012.

LAZZÁRI, F. A. **Umidade, Fungos e Micotoxinas na Qualidade de Sementes, Grãos e Rações**. 2 ed. Curitiba. Ed. Do Autor, p. 73-123, 1997.

- LEESON, S.; DIAZ, G.J.; SUMMERS, J.D. **Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins**. 1 ed. Guelph, Ontario, Canada: University Books, 1995. 352p.
- MAIORKA, A. et al. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. FUNEP/UNESP, Jaboticabal, São Paulo, 2002. 113-123p.
- MALLMANN, C. A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos**, 1^a ed. Santa Maria: Editora Palotti, 2007, 240p.
- MALLMANN, C. A. et al. Micotoxinas em Ingrediente para Alimento Balanceado de Aves. In: XX Congresso Latinoamericano de Avicultura, Porto Alegre, RS: 2007. **Anais...** p. 191-204.
- MALLMANN, C. A., P. DILKIN, R. H. RAUBER. Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura. P. 821-832. In: **Doença das aves**. 2nd ed. Berchieri, A. J., E. N. Silva, J. Di Fabio, L. Sesti and M. A. F. Zuanaze. Campinas, FACTA – Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, São Paulo, Brasil. 2009, p.1104.
- MALLOZZI, A. B.; CORRÊA, B. Fungos Toxigênicos e Micotoxinas. **Boletim Técnico do Instituto Biológico**, v.12, p.5-26, 1998.
- MARIN, D. E. Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin. **Rev. American. Society of Animal Science**, v. 80, n.5, p. 1250-1257, 2002.
- MATUR, E., E. et al. The effects of *Saccharomyces cerevisiae* extract on the weight of some organs, liver, and pancreatic digestive enzyme activity in breeder hens fed diets contaminated with aflatoxins. *Poult. Sci.* 89:2213-2220, 2010.
- MORAN, E. T. Jr. Starch digestion in fowl. **Poultry Science**, v.61, n.17, p.1257-1267, 1982.
- MORAN Jr., E. T et al. Digestion and absorption of carbohydrate in fowl and events through prenatal development. **Journal of Nutrition**. V.115, p.665-674, 1985.
- MULLER, R.D. et al. The response of chicks, ducklings, goslings, pheasants and pouits to graded levels of aflatoxin. **Poultry Science**, v, 49, p. 1346-1350, 1970.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. Tradução: Arnaldo Antônio Simões. 3^a ed., São Paulo: Editora Sarvier, 2002, 975p.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5^a ed., São Paulo: Editora Sarvier, 2010, 1273p.
- NITSAN, Z. et al. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**. V.32, p.515-523, 1991.
- OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu desenvolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista Saúde Pública**, v.31, n 4 , p.417-424, 1997.

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

OSBORNE, D. J.; HAMILTON, P. B. Decreased pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis. **Poultry Science**. 60:1818-1821, 1981.

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

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and Food Spoilage**. 3rd ed. 540 p. 2009.

QUIN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre - RS: Artmed. 2005.

RASFF - RAPID ALERT SYSTEM FOR FOOD AND FEED. Annual Report for 2011. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/docs/rasff_annual_report_2011_en.pdf.

RICHARD, J. L. Some major mycotoxins and their micotoxicoses - An overview. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, n. 1-2, p. 3-10, 2007.

RICHARDSON, K. E.; HAMILTON, P. B. Enhanced production of pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis in egg-type chickens. **Poultry Science**. 66:640-644, 1987.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SABINO, M. Mycotoxin research in Brazil: the last decade in review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2002.

ROSTAGNO, H. S. Fisiologia da digestão e absorção das aves. In: **Anais Conferência 94 APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas**, FACTA, Santos, 23-25 de maio de 1994, p.43-58.

SANTIN, E. et al. Evaluation of the efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. **International Journal of Poultry Science**. v. 2, n. 4, p. 341-344, 2003.

SANTOS, V. M. **Avaliação da Adição de Parede Celular de *Saccharomyces cerevisiae* e de Aflatoxina B₁ na ração para Frangos de Corte na Fase Inicial**. Dissertação de Mestrado. Seropédica (RJ): Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2010.

SKLAN, D.; NOY, Y. Hydrolysis and absorption in the intestine of newly hatched chicks. **Poultry Science**. V.79, p.1306-1310, 2000.

SMITH, E. L. et al. **Bioquímica: Mamíferos**. Trad. por Patrícia Lydie Vouex Pinho. 7 Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 620 p.

TESSARI, E. N. C. **Efeitos da administração de aflatoxina B₁ e fumonisina B₁ sobre frangos de corte**. 2004. 134p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Área Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2004.

WYATT, R. Disease of Poultry. In: Smith, J.E. & Henderson, R.S. **Mycotoxins and Animal Foods**. 3 ed. 1991, p. 553-605.

UBABEF – União Brasileira de Avicultura. **Relatório Anual 2010/2011** – Produção de carne de frango de corte, Brasília, 2012. Disponível em:
<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=2761>.

UENO Y. Biochemical mode of action of mycotoxins In: Smith J.E. and Handerson R.S. **Mycotoxins and Animal Foods**. 3 ed. 1991, p.437-447.

YOON, S. H.; ROBYT, J. F. Study of inhibition of four alpha amylase by acarbose and its 4^{IV}- α -maltododecaosy analogues. **Carbohydrate Research**, v.338, n.19, p.1969-1980, 2003.

6. ANEXO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMITÊ INTERNO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL-UFSM**

CARTA DE APROVAÇÃO

Título do Projeto: "Perfil enzimático como possível marcador do comprometimento bioquímico na aflatoxicose em frangos de corte.."

Numero do Parecer: 032/2011

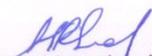
Pesquisador Responsável: Carlos Augusto Mallmann

Este projeto foi **APROVADO** em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê.

Os membros da CIETEA-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA REUNIÃO DE APROVAÇÃO:

Santa Maria, 11 de abril de 2011.


Marta Lizandra do Rêgo Leal
Coordenador do Comitê Interno de Ética em Experimentação
Animal-UFSM