

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

**MONTMORILONITA SÓDICA NA DIETA DE
FRANGOS DE CORTE INTOXICADOS COM
AFLATOXINA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ana Paula Dullius

Santa Maria, RS, Brasil

2013

MONTMORILONITA SÓDICA NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE INTOXICADOS COM AFLATOXINA

por

Ana Paula Dullius

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

Orientador: Prof. Dr. Irineo Zanella

Santa Maria, RS, Brasil

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Dullius, Ana Paula

Montmorilonita sódica na dieta de frangos de corte intoxicados com aflatoxina / Ana Paula Dullius.-2013.
49 p.; 30cm

Orientador: Irineo Zanella

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, RS, 2013

1. Adsorvente 2. Enzimologia hepática 3. Fígado 4. Micotoxina I. Zanella, Irineo II. Título.

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

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

**MONTMORILONITA SÓDICA NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE
INTOXICADOS COM AFLATOXINA**

elaborada por
Ana Paula Dullius

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Irineo Zanella, Dr.
(Presidente/Orientador)

Berilo de Souza Brum Júnior, Dr. (IFF)

Paulo Dilkin, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 22 de fevereiro de 2013.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por me guiar sempre.

Agradeço a minha família pelo apoio e amor incondicional. Meu pai, Enésio, por acreditar na possibilidade de traçar um futuro bom através do estudo e me apoiar. Minha mãe, Terezinha, que mesmo não estando presente fisicamente me inspirou e me ensinou a não desistir diante das dificuldades. Meus irmãos: Michelle, Marcelle e Paulo pela confiança, amizade e por sempre me motivarem a não desistir dos meus objetivos.

Ao meu namorado, Lucas Oberherr, por sempre participar, incentivar e apoiar as minhas decisões, pelo companheirismo, amizade, amor e dedicação.

Aos meus sogros, Leonides e Salete, que são como pais para mim, pelo amor dedicado e por me incentivarem sempre.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão de bolsa de estudos durante o mestrado.

Ao meu orientador, Irineo Zanella, pela compreensão, confiança e carinho, e por me estender a mão quando mais precisei. Serei sempre grata por tudo.

A minha irmã de coração, Marinês Lazzari, pelos momentos divididos na graduação e no mestrado, pelo apoio, amizade e afeto.

Ao SAMITEC pela oportunidade da realização do trabalho de pesquisa, pelo apoio e aprendizado, especialmente ao Prof^o Carlos Augusto Mallmann, Prof^o Paulo Dilkin e Leandro Giacomini, grandes aliados e provedores de grande parte dos meios, sem os quais seria difícil viabilizar esse trabalho, bem como meu agradecimento a toda equipe do laboratório, pelo seu apoio e auxílio na execução do trabalho.

Ao Prof^o Paulo Pacheco Santana, pela orientação nas análises estatísticas.

Aos colegas de LAVIC e aos amigos queridos: Ana Kátia, João, Mariane, Antonello, Ju Broch e Bety, pelo companheirismo e amizade.

RESUMO

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

MONTMORILONITA SÓDICA NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE INTOXICADOS COM AFLATOXINA

AUTORA: ANA PAULA DULLIUS

ORIENTADOR: IRINEO ZANELLA

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 22 de fevereiro de 2013

O objetivo desta dissertação foi avaliar os impactos da aflatoxina, na concentração de 2,8mg/kg, e da montmorilonita sódica sobre o desempenho, atividade enzimática e função do fígado em frangos de corte de 1 aos 21 dias, bem como comparar o produto à outros já existentes no mercado. Foram utilizados 540 frangos, alojados em baterias metálicas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por 9 tratamentos e 6 repetições. Os tratamentos utilizados foram: Controle (dieta basal), Ads0,50 (dieta basal + 0,50% adsorvente Teste), Afla (dieta basal + 2,8mg/kg de aflatoxina), Ads0,25+Afla (dieta basal + 0,25% adsorvente Teste + 2,8mg/kg de aflatoxina), Ads0,50+Afla (dieta basal + 0,50% adsorvente Teste + 2,8mg/kg de aflatoxina), AdsA+Afla (dieta basal + 0,50% adsorvente A + 2,8mg/kg de aflatoxina), AdsB+Afla (dieta basal + 0,50% adsorvente B + 2,8mg/kg de aflatoxina), AdsC+Afla (dieta basal + 0,50% adsorvente C + 2,8mg/kg de aflatoxina), AdsD + Afla (dieta basal + 0,50% adsorvente D + 2,8mg/kg de aflatoxina). Os adsorventes A, B, C, D são à base de montmorilonita sódica, porém oriundos de diferentes empresas. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância, e a comparação entre médias pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Conclui-se que o adsorvente Teste na concentração de 0,50% foi eficaz e promoveu uma redução dos efeitos tóxicos da aflatoxina sobre o desempenho zootécnico de frangos de corte aos 21 dias de idade, porém não evitou alterações nas enzimas e função hepática. E ainda, apresentou resultados semelhantes aos produtos C e D, e superior ao produto B.

Palavras chave: Adsorvente. Enzimologia hepática. Fígado. Micotoxina.

ABSTRACT

Dissertation
Graduate Program in Animal Science
Universidade Federal de Santa Maria

SODIC MONTMORILLONITE IN DIET OF BROILER INTOXICATED BY AFLATOXIN

AUTHOR: ANA PAULA DULLIUS

SUPERVISOR: IRINEO ZANELLA

Place and Date of Defence: Santa Maria, February 22, 2013

Abstract: The objective of this dissertation was to evaluate the impacts of aflatoxin in a concentration of 2,8mg/kg, and sodic montmorillonite on performance, enzyme activity and liver function in broilers from 1 to 21 days, as well as compare to other products already on the market. Were utilize 540 chickens housed in cages. Experimental design was completely randomized, with 9 treatments and 6 replications. The treatments were: Control (basal diet), Ads0,50 (basal diet + 0,50% Test adsorbent), Afla (basal diet + 2,8mg/kg of Aflatoxin), Ads0,25 + Afla (basal diet + 0,25% Test adsorbent + 2,8mg/kg of Aflatoxin), Ads0,50 + Afla (basal diet + 0,50% Test adsorbent + 2,8mg/kg of Aflatoxin), AdsA + Afla (basal diet + 0,50% A adsorbent + 2,8mg/kg of Aflatoxin), AdsB + Afla(basal diet + 0,50% B adsorbent + 2,8mg/kg of Aflatoxin), AdsC + Afla (basal diet + 0,50% C adsorbent + 2,8mg/kg of Aflatoxin), AdsD + Afla (basal diet + 0,50% D adsorbent + 2,8mg/kg of Aflatoxin). The adsorbents A, B, C, D are based sodic montmorillonite, but come from different companies. The data collected were subjected to analysis of variance and comparison of means by Tukey test ($P \leq 0.05$). It is concluded that the test adsorbent in a concentration of 0,50% was effectively promoted and a reduction of toxic effects of aflatoxin on performance of broilers at 21 days of age but did not avoided changes in liver function and liver enzymes. And gave results similar to the products C and D, and higher than product B.

Keywords: Adsorbent. Liver enzymology. Liver. Mycotoxin.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Estruturas químicas da aflatoxina B1 e aflatoxina G1 (HUSSEIN e BRASEL, 2001)..... 15
- Figura 2 – Esquema de biotransformação da Aflatoxina B1 no fígado de aves. ... 19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados de consumo de ração (g), peso corporal (g), conversão alimentar e mortalidade de frangos de corte aos 21 dias de idade. 37

Tabela 2 – Resultados das concentrações séricas da aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transpeptidase (GGT), proteínas totais (PT) e albumina (ALB) em frangos de corte aos 21 dias. 38

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Normas para Publicação na Revista Ciência Rural	46
---	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
CAPÍTULO 1	12
ESTUDO BIBLIOGRÁFICO.....	12
1.1 Micotoxinas	12
1.2 Aflatoxinas.....	13
1.3 Distribuição e prevalência	16
1.4 Mecanismo de ação	17
1.5 Perdas econômicas.....	20
1.6 Aditivos antimicotoxinas	22
CAPÍTULO 2	25
RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CONCLUSÃO	33
AGRADECIMENTOS	34
REFERÊNCIAS.....	34
Referências bibliográficas	39

INTRODUÇÃO

A introdução e a manutenção dos nossos produtos avícolas no mercado externo é um grande desafio e uma oportunidade para estabelecer um diferencial competitivo, mas depende da constante busca tanto da qualidade quanto do menor custo de produção. As barreiras sanitárias impostas pelos países importadores de carne de frango exigem cuidados extremos, que iniciam na seleção da matéria-prima utilizada na alimentação das aves. A maior preocupação será sempre prevenir a contaminação desses produtos, contudo, uma vez que a mesma já tenha ocorrido, os esforços são direcionados para minimizar ao máximo os efeitos e prejuízos dela decorrentes.

Dentre as várias possibilidades de contaminação de produtos utilizados como matéria prima na formulação de rações para aves, as micotoxinas têm destaque, principalmente as aflatoxinas.

O desenvolvimento dos fungos e formação de micotoxinas em alimentos são dependentes de fatores relacionados à umidade, temperatura, oxigênio e composição do substrato (MALLMANN et al., 2006; TANAKA et al. 2001). Em condições favoráveis, estes fungos se desenvolvem nas culturas de grãos ainda no campo ou durante o armazenamento (PITT, 2000).

A ingestão de alimentos que contenham micotoxinas pode causar graves efeitos sobre a saúde animal e humana (SANTURIO, 2000).

As aflatoxinas são metabólitos tóxicos secundários produzidos por cepas toxígenas de linhagens fúngicas do gênero *Aspergillus*, como *A. flavus*, *A. parasiticus*. e *A. nominus*, e têm sido frequentemente encontrados em milho, amendoim, feijão, arroz e trigo, sementes de algodão, sorgo, rações e frutas (CORRÊA, 2000). A aflatoxina B1 (AFB1) é a que apresenta maior poder toxigênico, seguida de G1, B2 e G2 (COULOMBE, 1991).

A sensibilidade aos efeitos tóxicos das aflatoxinas varia consideravelmente entre as espécies animais. Dentro de uma mesma espécie, a relação dose-resposta pode variar de acordo com raça, sexo, idade, entre outros fatores (COULOMBE, 1991). Mariani (1998) relata que o efeito das aflatoxinas em

frangos é maior na fase inicial de crescimento, ou seja, quando as aves ingerem aflatoxinas nos primeiros 21 dias de idade. A intoxicação de frangos de corte por aflatoxinas causa diversas perdas zootécnicas, sendo o ganho de peso bastante afetado (GIACOMINI et al., 2006).

Dentre os métodos existentes para minimizar os efeitos tóxicos da aflatoxicose nas aves, o mais frequentemente utilizado é a ligação irreversível da aflatoxina a um adsorvente (DIAZ et al., 2002; OGUZ et al., 2002).

Segundo Olver (1997), os adsorventes possuem a habilidade de se aderir fisicamente à aflatoxina e impedir sua absorção pelo trato gastrointestinal, demonstrando-se inertes e não tóxicos para os animais. A montmorilonita sódica (bentonita sódica) é uma argila que está classificada no grupo dos filosilicatos e é uma substância naturalmente abundante (PHILLIPS et al., 2002).

O objetivo do presente estudo foi definir os impactos da aflatoxina, na concentração de 2,8mg/kg, e da montmorilonita sódica sobre o desempenho e metabolismo da albumina e proteínas totais, e verificar possíveis alterações na atividade das enzimas hepáticas de frangos de corte, machos de 1 aos 21 dias, e comparar o adsorvente testado com outros quatro, à base de montmorilonita sódica, já existentes no mercado e oriundos de diferentes empresas.

CAPÍTULO 1

ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

1.1 Micotoxinas

Os fungos podem modificar a qualidade dos cereais, influenciando negativamente em algumas propriedades dos grãos. A contaminação pode causar danos aos cereais, favorecendo a deterioração dos grãos, gerando descoloração, aquecimento da massa de grãos e reduzindo o valor nutricional do produto armazenado (BHATTACHARYA e RAHA, 2002). Além disso, em condições de estresse, alguns fungos produzem metabólitos tóxicos denominados micotoxinas (DILKIN, 2002).

Micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários produzidos por vários fungos filamentosos, particularmente por espécies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* e *Altemaria* (HUWING et al., 2001), que se desenvolvem naturalmente em produtos alimentícios, tais como milho, amendoim, trigo, entre outros, causando efeitos tóxicos em animais vertebrados, incluindo o homem (BORETTI, 1998).

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. Os efeitos tóxicos das micotoxinas podem ser potencializados pelo sinergismo que pode haver entre elas ou com doenças, principalmente imunossupressoras (HUSSEIN e BRASSEL, 2001).

Estes metabólitos não têm significância bioquímica no crescimento e no desenvolvimento do fungo, portanto, nem todas cepas são produtoras de toxinas nocivas. A toxicidade, frequentemente, é espécie específica e pode ser afetada por muitos fatores incluindo idade, sexo, estresse e rota de contaminação (MOSS, 1991).

De acordo com Mallmann et al. (2006) existem algumas condições essenciais para a produção de micotoxinas, como a presença do fungo toxígeno, umidade, oxigênio e temperatura adequada, sendo que a ausência de algum desses fatores previne a formação de micotoxinas.

Em climas tropicais e subtropicais o desenvolvimento fúngico é favorecido por fatores como excelentes condições de umidade e temperatura. Nesse ambiente os fungos crescem e proliferam-se bem em diversos tipos de cereais como o milho, encontrando um substrato altamente nutritivo para seu desenvolvimento (MALLMANN et al., 2007).

Entre as micotoxinas mais comuns estão as aflatoxinas, ocratoxina A, tricotecenos, zearalenona e fumonisinas (HUWING et al., 2001), dentre as quais, a aflatoxina é conhecida como a primeira micotoxina documentada por causar doença em aves (WYATT, 1991).

1.2 Aflatoxinas

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

As aflatoxinas podem ser encontradas em praticamente todos os grãos e cereais utilizados para o consumo humano e animal. Cereais como o milho, trigo, cevada, arroz e sorgo, dentre outros, são passíveis de serem infestados por fungos, podendo ser detectados níveis elevados de aflatoxinas (SANTIN, 2000).

A contaminação de cereais por fungos toxígenos e produção de micotoxinas nos mesmos podem ocorrer no período de pré-colheita, na colheita, transporte, secagem, armazenamento e beneficiamento dos grãos, dependendo dos híbridos envolvidos, fatores geográficos, climáticos e manipulação dos mesmos (DILKIN et al., 2000).

Em milho armazenado, os fatores mais importantes para o crescimento de fungos toxígenos do gênero *Aspergillus* e a produção de aflatoxinas são a temperatura de armazenamento, a umidade relativa do ar e do substrato. Os *A. flavus* e *A. parasiticus* proliferam em temperaturas entre 10°C e 43°C, com temperatura ótima entre 32 e 33°C (SPINOSA et al., 2008). Umidade relativa de 80 a 85% com 17% de umidade do milho e temperatura de 24° a 35°C são condições ótimas para produção de aflatoxinas (DILKIN et al., 2000; SPINOSA et al., 2008).

As aflatoxinas são potentes micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, sendo *A. flavus* e *A. parasiticus* os de maior relevância na produção avícola. O descobrimento das propriedades hepatológicas e hepatocarcinogênicas no início da década de 60, seguida pela elucidação da estrutura dos metabólitos tóxicos decorrentes da ingestão de aflatoxinas, deram novo enfoque e prioridade para a pesquisa sobre micotoxinas (SANTURIO, 2000).

São conhecidos 17 compostos similares designados pelo termo aflatoxina (AFL), porém, os principais tipos de interesse médico-sanitário são identificados como B1, B2, G1 e G2, sendo que a aflatoxina B1 (AFB1), além de ser a mais frequentemente encontrada em cereais, é a que apresenta maior poder toxigênico (LEESON e SUMMERS, 1995a).

A estrutura química das AFL é muito semelhante, dado que são compostos químicos simples e de baixo peso molecular, sendo que todas apresentam um núcleo central cumarínico ligado a uma estrutura bi-furanóide (OLIVEIRA et al., 2001), as aflatoxinas B apresentam anel ciclopentona e as do grupo G apresentam anel lactona na molécula (GOURAMA e BULLERMAN, 1995) (Figura 1). Em função da alta lipossolubilidade e baixo peso molecular, as moléculas de aflatoxinas são facilmente absorvidas no trato gastrintestinal (DA SILVA, 2007).

As aflatoxinas recebem a designação B ou G devido à propriedade de emitirem coloração azul (blue=B) ou verde-azulada (green=G) sob luz ultravioleta.

Do ponto de vista químico, são cumarinas termorresistentes, insolúveis em óleo, pouco solúveis em água e bastante solúveis em solventes orgânicos *moderadamente* polares como clorofórmio, metanol, etanol e dimetil sulfóxido (IARC, 1993).

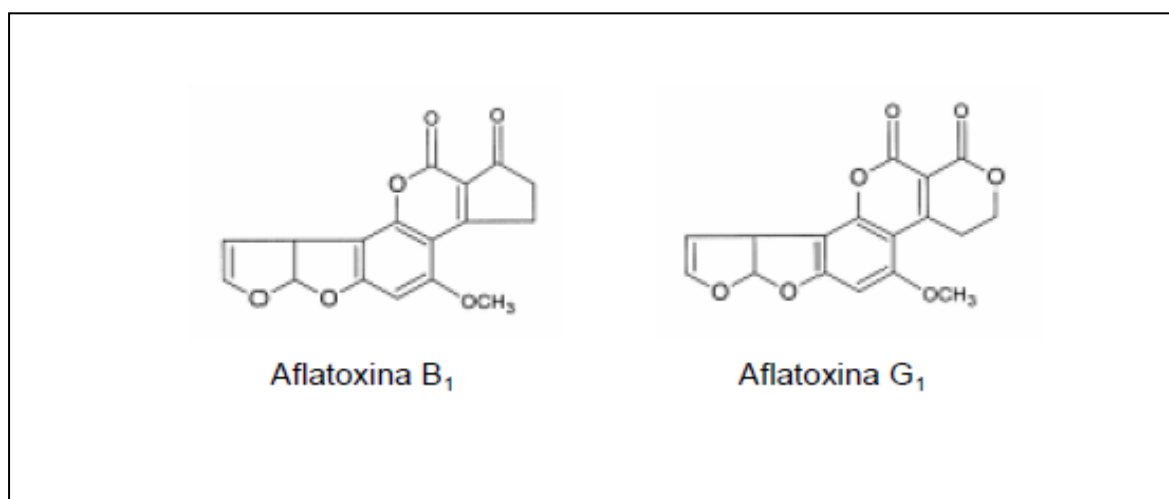


Figura 1 - Estruturas químicas da aflatoxina B1 e aflatoxina G1 (HUSSEIN e BRASEL, 2001).

Entre todas as aflatoxinas, a B1 (AFB1) é considerada a mais importante, devido a seu alto potencial tóxico, sendo considerada também um dos mais potentes hepatocarcinógenos conhecidos em grande variedade de espécies animais, e também em humanos (SWEENEY e DOBSON, 1998; HUSSEIN e BRASEL, 2001; IARC, 2002; MOSS, 2002).

Bioquimicamente, as aflatoxinas podem afetar o metabolismo de energia, de carboidratos e de lipídios e também dos ácidos nucleicos e das proteínas. Os efeitos biológicos incluem carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, hepatotoxicidade e aflatoxicoses (BRADBURN e COKER, 1993). A interferência na síntese proteica altera a biologia celular em diversos sistemas. Nas células hepáticas ocorre degeneração gordurosa e proliferação dos ductos biliares, que induzem a várias alterações séricas (OLIVEIRA e GERMANO, 1997). Outra consequência é a diminuição nos níveis de fatores de coagulação, o que gera hemorragias. Nas aves, estas hemorragias ocorrem principalmente nos músculos

do peito e da coxa, prejudicando o rendimento dos cortes na indústria (GIACOMINI et al., 2006).

No Brasil, em fevereiro de 2011, entrou em vigor uma nova legislação sobre os limites máximos tolerados de micotoxinas em alimentos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária em concordância com o Ministério da agricultura, através da Resolução RDC Nº 7, estabeleceu o limite de tolerância de 20µg/Kg, somando as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, para milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolos de milho (ANVISA, 2011).

1.3 Distribuição e prevalência

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

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 e SABINO, 2002).

Os fungos toxigênicos podem invadir e desenvolverem-se em uma grande variedade de substratos como cereais, sementes e alimentos. 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% e temperatura entre 24° e 35°C representam boas condições para a produção de aflatoxinas (MALLMANN e 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 9,1µg/kg (LAMIC, 2012).

A análise dos dados referentes ao ano de 2011 do relatório anual do RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed), que é uma ferramenta para gerir incidentes e crises alimentares na União Européia, mostra que as micotoxinas são os agentes químicos que envolveram maior número de notificações, sendo que de um total de 635 notificações, 585 corresponderam à presença de aflatoxinas.

1.4 Mecanismo de ação

O mecanismo de ação das micotoxinas na célula animal ocorre, na maioria das vezes, através de alterações dos processos metabólicos básicos (como no metabolismo de carboidratos, lipídios e esteróides) e de alterações da função mitocondrial, da síntese protéica 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 (KIESSLING, 1986).

Sawhney et al. (1973) descreveram que no primeiro dia de intoxicação, a concentração de aflatoxinas é elevada no fígado, órgãos reprodutores e rins, supostamente devido ao papel que esses órgãos desempenham na excreção das toxinas, sendo somente detectadas nos excrementos sete dias após a ingestão.

O aspecto macroscópico de fígados de frangos alimentados com ração contaminada por aflatoxinas demonstra hipertrofia, acúmulo de gordura, consistência friável e coloração amarelada, quando comparado ao aspecto normal de fígados de aves dos tratamentos sem aflatoxinas. O peso relativo do fígado (%) apresenta-se aumentado nas aves intoxicadas. O exame histopatológico

revela grande acúmulo de gordura, muitas vezes deslocando o núcleo das células nas aves submetidas a dietas contendo aflatoxinas. Além do acúmulo de gordura hepática, fibrose de regiões do sistema porta e hiperplasia dos ductos biliares são comumente encontrados em aves intoxicados com aflatoxinas, sendo que em experimentos conduzidos até 42 dias, as lesões são mais pronunciadas nessa idade do que as encontradas aos 21 dias, conforme experimento conduzido por Allameh et al. (2005).

Alterações histopatológicas no fígado de frangos de corte como degeneração hepática com reação proliferativa ductal, hiperplasia, proliferação dos ductos biliares e infiltração de heterofilos também foram descritas por Tessari (2004).

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 e GERMANO, 1997). Outros órgãos como intestino, baço, linfonodos e rins também podem sofrer alterações, principalmente em animais monogástricos como aves e suínos (MARIN et al., 2002).

Uma vez absorvida, ao alcançar a corrente sanguínea, a aflatoxina B1 é imediatamente ligada às proteínas plasmáticas, principalmente à albumina. 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 B2 α e epóxido de aflatoxina (Figura 2). Estes metabólitos reativos têm a habilidade de ligar-se de forma covalente com constituintes intracelulares, incluindo DNA e RNA. No núcleo do hepatócito ocorre a inibição da enzima RNA-polimerase, inibindo a síntese proteica (CLIFORD e REES, 1966; WYATT, 1991; SANTIN, 2000; EATON e GALLAGHER, 2004).

A AFB1 necessita, porém, sofrer ativação metabólica para manifestar seus efeitos tóxicos (CHU, 1991; WOGAN, 1992). É no fígado onde ocorre a maior parte do processo de biotransformação das aflatoxinas pelas enzimas microsomais do citocromo P-450. A forma pura da AFB1 não apresenta atividade

mutagênica. A biotransformação deste composto nos tecidos animais pelas enzimas microsossomais do citocromo P-450 é que transforma a AFB₁ no maior carcinógeno natural existente, o 8-9 epóxido de aflatoxina (CHU, 1991; OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

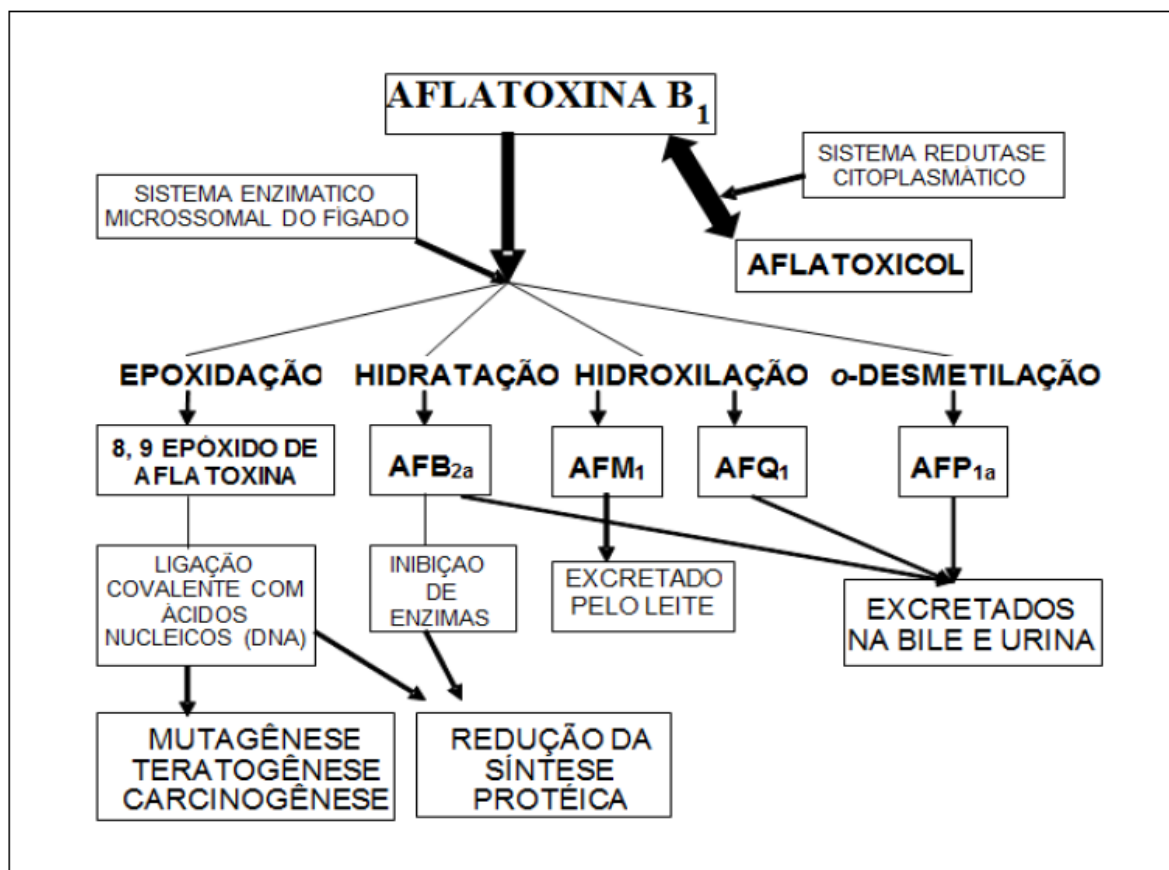


Figura 2 – Esquema de biotransformação da aflatoxina B1 no fígado de aves.

Fonte: Adaptado de OMS, 1983.

Após uma hora, da ingestão das aflatoxinas, já ocorre inibição na síntese protéica *in vitro*, devido a uma acentuada inibição da RNA-polimerase (SANTIN, 2000). Os efeitos deletérios das aflatoxinas sobre a síntese de proteína, não são explicados apenas pela dose de aflatoxinas utilizada. Fatores como desbalanceamento nutricional, erros de manejo, variações extremas na temperatura, condições das camas utilizadas, assim como a qualidade dos pintos alojados, têm grande importância na resposta das aves ao nível de aflatoxinas

exposto (SANTURIO, 2000). Quanto maior o nível de estresse, menor será a dose de aflatoxinas necessária para comprometer o desempenho dos animais (DOERR et al., 1983).

A toxicidade das aflatoxinas varia de acordo com a espécie animal, a idade, o sexo, o estado nutricional, o tempo de exposição e a quantidade de toxina ingerida, sendo os animais mais jovens susceptíveis aos seus efeitos, uma vez que seus sistemas enzimáticos hepáticos ainda não estão completamente desenvolvidos (SPINOSA et al, 2008).

A determinação dos efeitos bioquímicos tóxicos da aflatoxina é importante para o diagnóstico de aflatoxicose em frangos de corte (ROSA et al., 2001). A sua toxicidade, nestes animais, é caracterizada pela diminuição das concentrações de proteína total, albumina, colesterol, glicose, ácido úrico, P inorgânico e Ca, e pelo aumento da atividade enzimática da aspartato aminotransferase (AST) e da alanina aminotransferase (ALT), indicativos de lesões hepáticas (SANTURIO et al., 1999).

Cada célula de um órgão possui uma função específica e contém enzimas destinadas a auxiliar nesta função. Em muitas situações as enzimas são específicas de um único órgão, em outros casos estas enzimas são encontradas em inúmeros órgãos. Quando a integridade da célula é comprometida, as enzimas vazam para circulação, onde sua atividade pode ser medida obtendo-se o índice de lesão celular. É importante ter em mente que a célula deve ser lesada para que ocorra o vazamento excessivo de suas enzimas para a circulação. Entretanto, os testes de base-enzimática são uma medida de lesão, e não necessariamente uma medida de função do órgão (HOCHLEITHNER, 1994).

1.5 Perdas econômicas

O uso de produtos contaminados pela aflatoxina, para fabricação de rações, tem sido um grande problema para a indústria avícola, e vem causando sérias implicações econômicas (LEDOUX et al., 1998; PARLAT et al., 1999). A frequência da contaminação dos produtos de consumo e a exposição crônica das

aves a essas toxinas podem significar a diferença entre o lucro e prejuízo na indústria aviária (LEESON e SUMMERS, 1995b).

Aves, especialmente perus, são extremamente sensíveis à ação tóxica e cancerígena de AFB₁, resultando em milhões de dólares em perdas anuais para os produtores, devido à taxa de crescimento reduzida, aumento da susceptibilidade à doenças, redução na produção de ovos e outros efeitos adversos (RAWAL et al. 2010).

A remoção de aflatoxinas de alimentos permanece ainda como um dos grandes problemas, em produção animal, havendo a necessidade de tecnologias efetivas para os procedimentos de descontaminação. Um processo de detoxificação efetivo deve ser econômico, capaz de eliminar todos os traços de toxina, sem deixar resíduos indesejáveis, além de não alterar a qualidade nutricional. Métodos de detoxificação de aflatoxina práticos, viáveis economicamente e para uso em larga escala, não são facilmente encontrados, embora uma variedade de procedimentos venha sendo empregada, com limitado sucesso (PARLAT et al., 1999).

A presença de fungos nas rações ou nos grãos pode representar importantes perdas em termos da qualidade nutricional, tornando o processo de descontaminação oneroso e difícil (KESHAVARZ, 1987). Estes problemas podem ser reduzidos, caso seja adotada uma série de medidas, como redução no período de armazenamento da ração e peletização (GOOD e HAMILTON, 1981; TABIB et al., 1984), que diminuem a contagem de bolores; melhoria das práticas agrícolas e controle das condições de armazenamento (MALLMANN et al. 2006); podem ser usados programas com a introdução de antifúngicos, que inibem a produção de colônias fúngicas nos grãos e rações (KRABBE e PENZ, 1995; e SANTURIO, 1995) ou a adição de compostos adsorventes de micotoxinas incorporados às rações, destacando-se os aluminossilicatos e a bentonita (WYATT, 1991; DEVEGOWDA et al., 1994).

Como alternativa, há a possibilidade da adição de substâncias não nutritivas, que se ligam a aflatoxina, reduzindo sua absorção no trato gastrointestinal (KUBENA et al., 1990). O aluminossilicato de cálcio e sódio é utilizado para reduzir a biodisponibilidade de aflatoxina (LEESON e SUMMERS, 1995a).

1.6 Aditivos antimicotoxinas

Os adsorventes ou aditivos antimicotoxinas são argilas selecionadas e processadas, utilizadas para sequestrar micotoxinas, com o objetivo de reduzir a absorção das mesmas pelo trato gastrointestinal dos animais (MALLMANN et al., 2006).

O mercado especializado dispõe de uma ampla variedade de produtos adsorventes. A maioria apresenta grande poder de adsorção *in vitro*. Contudo, testes *in vivo*, são necessários para confirmar a eficácia ou não, de adsorção do produto (AVANTAGGIATO et al., 2005).

As estratégias que visam eliminar ou reduzir os níveis de contaminação de micotoxinas nos alimentos, incluem métodos químicos, biológicos e físicos. A escolha por um destes métodos deve atender aos seguintes requisitos: efetividade na destruição, remoção, e inativação das micotoxinas; ausência de efeitos tóxicos ou carcinogênicos; a manutenção da palatabilidade e a preservação das propriedades nutricionais dos alimentos. Além disso, o processo escolhido deve ser viável tanto tecnologicamente, quanto economicamente (DIAZ e SMITH, 2005).

De acordo com Huwing et al. (2001), os métodos biológicos envolvem a degradação das micotoxinas por microrganismos; métodos químicos induzem a destruição de micotoxinas por diferentes produtos químicos (ácidos ou básicos) ou tratamentos por ozonização e amonização; e os físicos fazem a remoção das micotoxinas através da utilização de diferentes substâncias inorgânicas, denominadas adsorventes, adicionadas às dietas contaminadas.

Dentre estes métodos, o mais frequentemente utilizado é a ligação irreversível da aflatoxina a um adsorvente (DIAZ et al., 2002), na tentativa de se minimizar os efeitos tóxicos da aflatoxina nas aves (OGUZ et al., 2002).

Os adsorventes além de prevenir ou limitar a absorção das micotoxinas no trato gastrointestinal, devem ser efetivos contra vários tipos de micotoxinas, uma vez que os alimentos normalmente encontram-se contaminados com mais de uma delas (DIAZ e SMITH, 2005).

A eficácia da adsorção depende da estrutura química de ambos, adsorvente e micotoxina. Nos adsorventes, o fator mais importante da adsorção é a estrutura física, ou seja, a carga elétrica total e sua distribuição, tamanho dos poros na molécula e principalmente a área de superfície. Já nas micotoxinas, a adsorção depende da solubilidade, da polaridade da molécula e da distribuição das cargas elétricas (AVANTAGGIATO et al., 2005).

Desde o início dos anos noventa, estudos têm sido dirigidos para o uso de adsorventes, naturais ou sintéticos, na tentativa de minimizar os efeitos da ingestão de alimento contaminado e da toxicidade da aflatoxina nas aves (OGUZ et al., 2002). De acordo com Phillips et al. (1990), os adsorventes possuem a habilidade de aderir à aflatoxina e impedir sua absorção pelo trato gastrointestinal tornando-a inerte e não permitindo que a micotoxina cause efeitos deletérios no animal.

Dentre os adsorventes que são adicionados às dietas estão os aluminossilicatos de cálcio e sódio (KUBENA et al., 1990), as bentonitas (SANTURIO et al., 1999), os zeolitos (HARVEY et al., 1993) e o carvão ativado na redução da toxicidade da aflatoxina em aves (PARLAT et al., 1999).

Os minerais silicatos compreendem o maior e mais complexo grupo de agentes adsorventes de micotoxinas. Este grupo se subdivide em duas subclasses, os tectosilicatos (zeólitas) e os filosilicatos, no qual estão incluídas a montmorilonita, a caolinita e a illita (DIAZ e SMITH, 2005).

A montmorilonita sódica, pertence ao grupo das argilas, classificadas como Esmectitas, do grupo dos aluminossilicatos, é considerada promissora na absorção das aflatoxinas por reduzir os danos metabólicos em frangos de corte (PHILLIPS et al., 1988; SANTURIO et al., 1999). O principal mecanismo de adsorção desses minerais está relacionado com a troca de cargas entre o adsorvente e a micotoxina. Entretanto, como as estruturas das micotoxinas são diferentes, a eficácia desse processo não é a mesma para todas as toxinas dos fungos (KUBENA et al., 1991).

Além de existir uma considerável variação na capacidade de absorção dos diversos aluminossilicatos, em relação às distintas estruturas de micotoxinas, deve-se observar se o aluminossilicato empregado tem a possibilidade de

adsorver outros componentes da dieta (vitaminas, minerais, promotores de crescimento e coccidiostáticos (SHRYOCK et al., 1994).

CAPÍTULO 2

MONTMORILONITA SÓDICA NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE INTOXICADOS COM AFLATOXINA

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas para publicação na **Revista Ciência Rural**

1 Montmorilonita sódica na dieta de frangos de corte intoxicados com aflatoxina

2 Sodic montmorillonite in diet of broiler intoxicated by aflatoxin

3
4 Ana Paula Dullius^{1*} Irineo Zanella²

5 6 RESUMO

7 O objetivo deste estudo foi avaliar os impactos da aflatoxina, na concentração de
8 2,8mg/kg, e da montmorilonita sódica sobre o desempenho, atividade enzimática e função
9 hepática de frangos de corte, bem como comparar o produto à outros já existentes no
10 mercado. Foram utilizados 540 frangos, da linhagem Cobb, submetidos a nove tratamentos
11 entre 1° ao 21° dia de vida. Os tratamentos utilizados foram: Controle (dieta basal), Ads0,50
12 (dieta basal + 0,50% adsorvente Teste), Afla (dieta basal + 2,8mg/kg de aflatoxina),
13 Ads0,25+Afla (dieta basal + 0,25% adsorvente Teste + 2,8mg/kg de aflatoxina),
14 Ads0,50+Afla (dieta basal + 0,50% adsorvente Teste + 2,8mg/kg de aflatoxina), AdsA+Afla
15 (dieta basal + 0,50% adsorvente A + 2,8mg/kg de aflatoxina), AdsB+Afla (dieta basal +
16 0,50% adsorvente B + 2,8mg/kg de aflatoxina), AdsC+Afla (dieta basal + 0,50% adsorvente
17 C + 2,8mg/kg de aflatoxina), AdsD+Afla (dieta basal + 0,50% adsorvente D + 2,8mg/kg de
18 aflatoxina). Os adsorventes A, B, C, D também são à base de montmorilonita sódica. Conclui-
19 se que o adsorvente Teste na concentração de 0,50% foi eficaz e promoveu uma redução dos
20 efeitos tóxicos da aflatoxina sobre o desempenho zootécnico de frangos de corte aos 21 dias
21 de idade, porém não evitou alterações nas enzimas e função hepática. E ainda, apresentou
22 resultados semelhantes aos produtos C e D, e superior ao produto B.

23 **Palavras-chave:** Adsorvente, enzimologia hepática, fígado, micotoxina.

24

¹Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: apdullius@yahoo.com.br *Autor para correspondência

²Departamento de Zootecnia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

1 **ABSTRACT**

2 The objective of this study on was to evaluate the impacts of aflatoxin concentration
3 of 2.8 mg/kg, and montmorillonite on performance, enzyme activity and liver function in
4 broilers and compare the product to others already on the market. Were used 540 chickens, of
5 Cobb, who underwent nine treatments from 1 st to 21 th day of life. The treatments were:
6 Control (basal diet), Ads0,50 (basal diet + 0,50% adsorbent Test), Afla (basal diet + 2,8mg/kg
7 Aflatoxin), Ads0,25+Afla (basal diet + 0,25% Test adsorbent + 2,8mg/kg Aflatoxin),
8 Ads0,50+Afla (basal diet + 0,50% Test adsorbent + 2,8mg/kg Aflatoxin), AdsA+Afla (basal
9 diet + 0,50% adsorbent A + Aflatoxin 2,8mg/kg), AdsB+Afla (basal diet + 0,50% adsorbent
10 B + 2,8 mg/kg Aflatoxin), AdsC+Afla (basal diet + 0,50% adsorbent C + 2,8mg/kg
11 Aflatoxin), AdsD+Afla (basal diet + 0,50% adsorbent D + 2,8mg/kg Aflatoxin). The
12 adsorbents A, B, C, D are based sodic montmorillonite. It is concluded that the test adsorbent
13 in a concentration of 0,50% was effectively promoted and a reduction of toxic effects of
14 aflatoxin on performance of broilers at 21 days of age but did not avoided changes in liver
15 function and liver enzymes. And gave results similar to the products C and D, and higher than
16 product B.

17 **Key words:** Adsorbent, liver enzymology, liver, mycotoxin.

18

19 **INTRODUÇÃO**

20 As aflatoxinas são metabólitos tóxicos secundários produzidos por cepas toxígenas de
21 linhagens fúngicas do gênero *Aspergillus*, como *A. flavus* e *A. parasiticus*. O desenvolvimento
22 e formação de micotoxinas em alimentos são dependentes de fatores relacionados à umidade,
23 temperatura, oxigênio e composição do substrato (MALLMANN et al., 2006).

24 A exposição às toxinas ocorre, predominantemente, pela ingestão de alimentos
25 contaminados, sobretudo cereais utilizados na preparação de dietas, como milho, trigo,
26 amendoim e sorgo, entre outros (CHU, 1991). A sensibilidade aos efeitos tóxicos das

1 aflatoxinas varia consideravelmente entre as espécies animais. Dentro de uma mesma espécie,
2 a relação dose-resposta pode variar de acordo com raça, sexo, idade, entre outros fatores
3 (COULOMBE, 1991).

4 A extrema toxicidade das aflatoxinas para as aves pode ser explicada pela sua rápida
5 absorção no trato gastrointestinal (WYATT, 1991), sendo que o fígado é o órgão alvo da
6 aflatoxicose nesta espécie (OSWEILER, 1990). Uma variedade de efeitos tóxicos pode ser
7 causada por esta micotoxina nas aves, incluindo diminuição da performance, doenças
8 hepáticas, imunossupressão e mudanças no peso relativo dos órgãos (KUBENA et al., 1998),
9 sendo também caracterizada por apatia, anorexia com diminuição na taxa de crescimento,
10 deficiente utilização do alimento, diminuição de ganho de peso, diminuição da produção de
11 ovos, aumento da suscetibilidade ao estresse ambiental e aumento da mortalidade (BAILEY
12 et al., 1998; KUBENA et al., 1998). A intoxicação de frangos de corte por aflatoxinas causa
13 diversas perdas produtivas, sendo o ganho de peso significativamente afetado (GIACOMINI
14 et al., 2006).

15 Dentre os métodos existentes para minimizar os efeitos tóxicos da aflatoxicose nas
16 aves, o mais frequentemente utilizado é a ligação irreversível da aflatoxina a um adsorvente
17 (DIAZ et al., 2002; OGUZ et al., 2002). Segundo OLVER (1997), os adsorventes possuem a
18 habilidade de se aderir fisicamente à aflatoxina e impedir sua absorção pelo trato
19 gastrintestinal, demonstrando-se inertes e não tóxicos para os animais. A montmorilonita
20 sódica é uma argila que está classificada no grupo dos filosilicatos e é uma substância
21 abundante na natureza (PHILLIPS et al., 2002).

22 Diante disso, faz-se necessário aprofundar a pesquisa com aditivos antimicotoxinas e
23 verificar a resposta dos animais diante de uma possível contaminação por aflatoxinas. O
24 objetivo deste trabalho foi avaliar os impactos da aflatoxina, na concentração de 2,8mg/kg e

1 da montmorilonita sódica sobre o desempenho, função e níveis enzimáticos hepáticos de
2 frangos de corte aos 21 dias, bem como comparar o produto à outros já existentes no mercado.

3

4 **MATERIAL E MÉTODOS**

5 O experimento foi realizado na unidade experimental de frangos de corte do Instituto
6 de Soluções Analíticas, Microbiológicas e Tecnológicas (SAMITEC), na cidade de Santa
7 Maria, situada na região central do Rio Grande do Sul, no período de 22 de agosto à 12 de
8 setembro de 2012.

9 Estudou-se o efeito da utilização de um novo aditivo antimicotoxinas à base de
10 montmorilonita sódica na dieta para frangos de corte de 1 aos 21 dias de idade intoxicados
11 com aflatoxinas, denominado neste trabalho como aditivo Teste, e comparou-se o mesmo a
12 quatro diferentes marcas já existentes no mercado.

13 As aves foram alojadas em sala climatizada, medindo 22m², equipada com
14 condicionadores de ar e exaustor. Foram utilizadas gaiolas dispostas em baterias com 4
15 gaiolas sobrepostas, sendo cada gaiola dividida em 2 boxes. Cada box equipado com
16 comedouro tipo calha e bebedouro tipo nipple, além de uma campânula adicional para
17 aquecimento. As gaiolas possuíam piso telado e bandeja para coleta de excretas.

18 Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado,
19 composto por nove tratamentos com seis repetições cada, totalizando 54 unidades
20 experimentais com 10 aves cada.

21 Foram utilizados 540 pintos de corte, de um dia de idade, machos, da linhagem Cobb
22 500. O período experimental foi de 21 dias. As variáveis analisadas durante o período foram:
23 Desempenho produtivo: mortalidade, peso corporal (PC), consumo de ração (CR), conversão
24 alimentar (CA). Parâmetros bioquímicos: proteínas totais (PT), albumina (ALB), aspartato

1 aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transpeptidase
2 (GGT).

3 Os tratamentos utilizados foram: Controle = dieta basal; Ads0,50 = dieta basal +
4 0,50% do adsorvente Teste; Afla = dieta basal + 2,8mg/kg de aflatoxina; Ads0,25+Afla =
5 dieta basal + 0,25% do adsorvente Teste + 2,8mg/kg de aflatoxina; Ads0,50+Afla = dieta
6 basal + 0,50% do adsorvente Teste + 2,8mg/kg de aflatoxina; AdsA+Afla = dieta basal +
7 0,50% do adsorvente A* + 2,8mg/kg de aflatoxina; AdsB+Afla = dieta basal + 0,50% do
8 adsorvente B* + 2,8mg/kg de aflatoxina; AdsC+Afla = dieta basal + 0,50% do adsorvente C*
9 + 2,8mg/kg de aflatoxina; AdsD+Afla = dieta basal + 0,50% do adsorvente D* + 2,8mg/kg de
10 aflatoxina. Onde * (A, B, C, D) = produtos provenientes de diferentes empresas.

11 As dietas foram isonutritivas, formuladas de acordo com as exigências nutricionais
12 propostas por NRC (1994). As aves receberam alimentação e água *ad libitum* durante todo o
13 período de criação.

14 As aves e a ração foram pesadas no dia do alojamento, aos 7, 14 e 21 dias para realizar
15 a determinação do PC, CR e CA. As excretas foram retiradas a cada dois dias a partir do
16 quinto dia. Foram fornecidas 24 horas de luz diárias durante todo o experimento.

17 No 21º dia realizou-se a autópsia das aves em frigorífico e coletou-se 18 amostras de
18 sangue por tratamento para posterior análise bioquímica do soro. Foram coletados em média
19 8mL de sangue das aves no momento da sangria. As análises bioquímicas foram realizadas
20 com o auxílio do aparelho de espectrofotômetro da marca Thermo Plate com utilização de
21 "Kits" comerciais da marca Labtest para preparação das amostras.

22 Os dados coletados foram analisados em duas etapas, sendo primeiramente analisada a
23 eficiência do adsorvente Teste, e na segunda etapa foi realizada a comparação do adsorvente
24 Teste com os produtos A, B, C e D utilizados no estudo. Os dados, em ambas as etapas, foram

1 submetidos à análise de variância, sendo as médias submetidas ao teste de Tukey ao nível de
2 5% de probabilidade, através do programa estatístico SAS (2009).

3

4 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

5 Os resultados de desempenho estão demonstrados na tabela 1. Os animais intoxicados
6 com aflatoxina apresentaram retardo no crescimento e baixo ganho de peso, concordando com
7 KUBENA et al. (1998) e GIACOMINI et al. (2006), que descreveram estes como sendo
8 alguns dos sinais apresentados por aves com aflatoxicose.

9 O tratamento Afla apresentou o pior desempenho tanto no consumo de ração (CR)
10 quanto no peso corporal (PC), diferindo estatisticamente dos tratamentos Controle, Ads0,50 e
11 Ads0,50+Afla, concordando com os resultados obtidos por LOPES et al. (2006).

12 Segundo MALLMANN et al. (2006) o critério para aprovação de um adsorvente
13 testado *in vivo* é que o grupo de animais intoxicados com a presença de adsorvente na ração
14 apresente um ganho de peso diferente estatisticamente do grupo intoxicado sem a adição do
15 adsorvente. Neste estudo, esta diferença ocorreu na concentração de 0,50% do adsorvente
16 Teste, demonstrando que este foi eficiente na proteção contra a aflatoxina e pode-se então,
17 nesta concentração, compará-lo aos quatro produtos comerciais utilizados neste trabalho.

18 O adsorvente Teste quando comparado aos produtos comerciais A, B, C e D, apenas
19 mostrou CR e PC inferior quando comparado ao produto A, sendo este último o que
20 apresentou melhores índices de desempenho.

21 A mortalidade (MORT) não diferiu estatisticamente entre os tratamentos. Quanto à
22 conversão alimentar (CA), foram observadas diferenças significativas entre o tratamento
23 Controle quando comparado ao Ads0,50+Afla, concordando com LOPES et al. (2006). Na
24 comparação entre os produtos não houve diferenças na CA e na MORT.

1 O tratamento Ads0,50 onde havia somente o adsorvente Teste não diferiu
2 estatisticamente do Controle no PC, o que era esperado, haja visto que o adjuvante não deve
3 ter efeito sobre a dieta ou a biodisponibilidade de nutrientes.

4 Na tabela 2 encontram-se os resultados obtidos para as enzimas hepáticas e os valores
5 de albumina e PT. A enzima AST não apresentou diferença significativa nos níveis séricos
6 entre os tratamentos, o que está de acordo com os resultados encontrados por BATINA et al.
7 (2005), porém difere dos obtidos por SANTURIO et al. (1999) e AMER et al. (1998).

8 Ocorreu aumento dos níveis de ALT, indicando uma possível lesão hepática, o que
9 está de acordo com AMER et al. (1998) e SANTURIO et al. (1999) que encontraram aumento
10 dessa enzima em frangos intoxicados com aflatoxina.

11 A concentração sérica da enzima GGT no grupo controle foi de 24,6UI/L. A adição de
12 2,8mg/kg de aflatoxinas à dieta não promoveu alteração significativa na concentração de GGT
13 ($P>0,05$), concordando com resultados obtidos por MACIEL et al. (2007a). Já o tratamento
14 Ads0,50+Afla que apresentou 31,96UI/L de GGT diferiu estatisticamente do grupo Controle e
15 do Ads0,50.

16 Os valores de AST, ALT e GGT do produto Teste não apresentaram diferenças
17 significativas quando comparado aos demais produtos comerciais testados.

18 O valor médio da proteína total, encontrado no tratamento Controle, foi de 3,96g/dL.
19 Esse valor ficou próximo de 3,71g/dL e 3,17g/dL, encontrados nas mesmas condições
20 por BATINA et al. (2005) e FRANCISCATO et al. (2006), respectivamente, quando
21 realizaram experimentos com aflatoxinas, na mesma espécie, sexo, raça e testando a
22 montmorilonita sódica como adsorvente, porém utilizando aves até os 42 dias de idade.

23 A adição de 2,8mg/kg de aflatoxinas na ração, resultou na redução de 50% na
24 concentração de proteína total. FRANCISCATO et al. (2006), observaram um declínio
25 de 44,79% na síntese de proteína total, ao utilizar 3mg/kg de aflatoxinas em frangos aos

1 42 dias de idade. Porém, BATINA et al. (2005) e MACIEL et al. (2007b) utilizando
2 5mg/kg de aflatoxinas, observaram uma redução na síntese de proteína total de 33,69% e
3 51,90%, respectivamente. A redução no nível de proteínas totais, um dos principais
4 efeitos das aflatoxinas, ocorre pela inibição da síntese protéica (SANTIN, 2000). As
5 aflatoxinas têm a habilidade de se ligarem de forma covalente com constituintes
6 intracelulares da célula hepática, principalmente DNA e RNA, comprometendo a síntese
7 de proteínas (SANTURIO, 2000). Na comparação entre os produtos, o produto comercial
8 B induziu o menor valor de PT, diferindo estatisticamente do tratamento Ads0,50+Afla.

9 Diferenças na concentração de albumina foram observadas entre os tratamentos,
10 sendo que as aves intoxicadas apresentaram o pior resultado, o que concorda com os
11 resultados obtidos por HARVEY et al. (1988) e BATINA et al. (2005), que também
12 obtiveram diminuição de proteínas totais e albumina, em intoxicações experimentais por
13 aflatoxina. A concentração de albumina não apresentou diferença na comparação entre os
14 produtos.

15 De acordo com KEÇECI et al. (1998), a diminuição das concentrações séricas de
16 proteína e albumina são indicadores confiáveis de hepatotoxicidade em frangos e perus,
17 em consequência da aflatoxicose.

18

19 **CONCLUSÃO**

20 A aflatoxina na concentração de 2,8mg/kg causa perdas significativas de desempenho
21 e diminuição da função hepática, evidenciada pela redução dos níveis séricos de proteínas
22 totais e albumina.

23 O uso do adsorvente Teste na concentração de 0,5% é eficaz na redução dos efeitos
24 tóxicos da aflatoxina sobre o desempenho zootécnico de frangos de corte aos 21 dias de idade.

25 O adsorvente Teste na concentração de 0,5% mostrou resultados semelhantes aos
26 produtos existentes no mercado.

1 **AGRADECIMENTOS**

2 Instituto de Soluções Analíticas, Microbiológicas e Tecnológicas (SAMITEC).

3 Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

4

5 **REFERÊNCIAS**

6 AMER, A.M.M. et al. Effect of aflatoxicosis on kinetic behaviour of ceftiofur in chickens.

7 **Research Veterinary Science**, v.65, p.115-118, 1998.

8 CHU, F.S. Mycotoxins, food contamination, mechanism, carcinogenic potencial and
9 preventive measures. **Mutation Research**, v. 259, p. 291-306, 1991.

10 COULOMBE, R.A. Aflatoxins. In: SHARMA, R.P.; SALUNKHE, D.K. **Mycotoxins and**
11 **phytoalexins**. Boca Raton, CRC Press, 1991. p.103-43.

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

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

17 FARVER, T.B. Concepts of normaly in clinical biochemistry. In: KANEKO, J.J. et al.
18 **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1989. p. 1-19.

19 GIACOMINI, L. et al. Desempenho e plumagem de frangos de corte intoxicados por
20 aflatoxinas. **Ciência Rural**, v. 36, n.1, p. 234-239, jan-fev, 2006.

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

23 LOPES, J.M. et al. Adição de bentonita sódica como adsorvente de aflatoxinas em rações de
24 frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 36, n.5, p. 15894-1599, set-out, 2006.

- 1 MACIEL, R.M. et al. Função hepática e renal de frangos de corte alimentados com dietas
2 com aflatoxinas e clinoptilolita natural. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.9, p.
3 1221-1225, 2007a.
- 4 MACIEL, R.M. et al. Perfil eletroforético das proteínas séricas de frangos de corte
5 alimentados com dietas contendo aflatoxinas e/ou argila clinoptilolita natural. **Ciência Rural**,
6 v.37, n.3, p.744-749, mai-jun, 2007b.
- 7 MALLMANN, C.A. et al. Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas.
8 In: Conferência APINCO 2006 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2006, Santos/SP. **Anais...**
9 Campinas/SP: FACTA, 2006. p. 213-224.
- 10 NEFF, D. V. **Determinação de produtos de biotransformação de aflatoxina B1 e**
11 **aplicabilidade na avaliação da eficiência de um adsorvente à base de aluminossilicato de**
12 **cálcio e sódio hidratado em frangos de corte.** 2012. 77p. Dissertação (Mestrado em
13 Zootecnia – Área Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia
14 de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2012.
- 15 NRC. National Research Council. **Nutrient requirements of poultry**, 1994.
- 16 OGUZ H. et al. Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary
17 aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. **Research Veterinary Science**, v.73,
18 p.101-103, 2002.
- 19 OLVER, M.D. Effect of feeding clinoptilolite (zeolite) on the performance of three strains of
20 laying hens. **British Poultry Science**, v.38, p.220-222, 1997.
- 21 OSWEILER, G.D. Mycotoxins and livestock: what role do fungal toxins play in illness and
22 production losses? **Veterinary Medicine**, v. 85, p. 89-94, 1990.
- 23 PHILLIPS, T.D. et al. Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of
24 aflatoxins. In: DEVRIES, J.W.; TRUCKSESS, M.W.; JACKSON, L.S. **Mycotoxins and food**
25 **safety**. New York : Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002. p.157-171.

- 1 SANTIN, E. Micotoxicoses. In: JÚNIOR, A.B.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas:
2 FACTA, 2000. Cap.6, p.379-387.
- 3 SANTURIO, J.M. et al. Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables
4 of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. **British Poultry Science**, v.40, p.115-119,
5 1999.
- 6 SANTURIO, J.M. Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura. **Revista Brasileira de Ciência**
7 **Avícola**, Campinas, v.2, n.1, 2000.
- 8 SAS, Statistical Analysis System. **User'guide**: Stat Version. Ed. Cary: SAS Institute, USA,
9 2009.
- 10 WYATT, R.D. Poultry. IN: SMITH, J.E; HENDENSON, R.S. **Mycotoxins and animal**
11 **foods**. Boca Raton : CRC Press, 1991. p.553-605.

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

1 Tabela 1 – Resultados de consumo de ração (g), peso corporal (g), conversão alimentar e
 2 mortalidade de frangos de corte aos 21 dias de idade.

	CR (g)	PC (g)	CA	MORT(%)
Controle ¹	1164,31 ^a	836,13 ^a	1,39 ^b	0
Ads0,50 ²	1139,8 ^a	804,55 ^a	1,42 ^{ab}	1,7
Afla ³	900,52 ^c	627,13 ^c	1,43 ^{ab}	0
Ads0,25+Afla ⁴	959,53 ^{bc}	681,2 ^{bc}	1,44 ^{ab}	1,7
Ads0,50+Afla ⁵	997,45 ^b	683,46 ^b	1,46 ^a	3,3
Ads0,50+Afla ⁵	997,45 ^B	683,46 ^{BC}	1,46	3,3
AdsA+Afla ⁶	1078,52 ^A	767,26 ^A	1,41	8,3
AdsB+Afla ⁷	903,02 ^C	631,77 ^C	1,43	5,0
AdsC+Afla ⁸	1064,12 ^{AB}	728,35 ^{AB}	1,44	6,7
AdsD+Afla ⁹	1022,54 ^{AB}	715,46 ^{AB}	1,43	0

3 Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

4 Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

5

6 ¹ Controle = dieta basal

7 ² Ads0,50 = dieta basal + 0,50% do adsorvente Teste

8 ³ Afla= dieta basal + 2,8 mg/kg de aflatoxina

9 ⁴ Ads0,25+Afla = dieta basal + 0,25% do adsorvente Teste + 2,8 mg/kg de aflatoxina

10 ⁵ Ads0,50+Afla = dieta basal + 0,50% do adsorvente Teste + 2,8 mg/kg de aflatoxina

11 ⁶ AdsA + Afla = dieta basal + 0,50% do adsorvente A + 2,8 mg/kg de aflatoxina

12 ⁷ AdsB+Afla = dieta basal + 0,50% do adsorvente B + 2,8 mg/kg de aflatoxina

13 ⁸ AdsC+Afla = dieta basal + 0,50% do adsorvente C + 2,8 mg/kg de aflatoxina

14 ⁹ AdsD+Afla = dieta basal + 0,50% do adsorvente D + 2,8 mg/kg de aflatoxina

15

16

17

18

19

20

1 Tabela 2 – Resultados das concentrações séricas da aspartato aminotransferase (AST), alanina
 2 aminotransferase (ALT), gama glutamil transpeptidase (GGT), proteínas totais
 3 (PT) e albumina (ALB) em frangos de corte aos 21 dias.

	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	GGT (UI/L)	PT (g/dL)	ALB (g/dL)
Controle	425,51	14,01 ^b	24,6 ^b	3,96 ^a	2,02 ^a
Ads0,50	384,77	20,66 ^{ab}	25,02 ^b	3,44 ^a	1,92 ^a
Afla	389,41	22,58 ^a	30,72 ^{ab}	1,98 ^c	1,50 ^b
Ads0,25+Afla	404,34	22,33 ^a	27,97 ^{ab}	2,53 ^{bc}	1,51 ^b
Ads0,50+Afla	412,09	23,39 ^a	31,96 ^a	2,68 ^b	1,44 ^b
Ads0,50+Afla	412,09 ^{AB}	23,39	31,96	2,68 ^A	1,44
AdsA+Afla	540,35 ^{AB}	23,32	29,28	3,09 ^A	1,43
AdsB+Afla	398,41 ^B	25,49	34,69	2,02 ^B	1,12
AdsC+Afla	523,06 ^{AB}	18,33	27,95	2,77 ^A	1,15
AdsD+Afla	557,66 ^A	20,262	31,87	2,51 ^{AB}	1,53

4 Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

5 Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAMEH, A. et al. Evaluation of biochemical and production parameters of broiler chicks fed ammonia treated aflatoxin contaminated maize grains. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 122, n. 3, p. 289-301, 2005.

ANVISA. **Resolução RDC N° 7 de 18 de fevereiro de 2011**. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, 2011.

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

AVANTAGGIATO, G.; SOLFRIZZO, M.; VISCONT, A. Recent advances on the use of adsorbent materials for detoxification of *Fusarium* mycotoxins. **Food additives and contaminants**, Oxford, v.22, n.4, p.379-388, 2005.

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

BRADBURN, N.; COKER, R.D. Aflatoxin contamination in maize. **Tropical Science**, v.33, n.44, p.418-428, 1993.

BORETTI, L. Micotoxinas em poedeiras. **Revista Avicultura Industrial**, n.1059, p.41-44, 1998.

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

CORRÊA, B. Fungos toxigênicos: panorama nacional. In: Encontro nacional de micotoxinas e simpósio de armazenamento qualitativas de grãos do Mercosul, 9., 1998, Florianópolis. **Atualidades em micotoxinas e armazenagem de grãos**. Florianópolis: Vildes M^o. Scussel, p.162-168, 2000.

COULOMBE, R.A. Aflatoxins. In: SHARMA, R.P.; SALUNKHE, D.K. **Mycotoxins and phytoalexins**. Boca Raton, CRC Press, p.103-43, 1991.

CHU, F.S. Mycotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenic potencial and preventive measures. **Mutation Research**, Amsterdam, v.259, p.291-306, 1991.

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

DA SILVA, A. V. A. F. et al. **Ocorrência de Aflatoxinas em Milho Destinado à Alimentação de Aves no Estado da Bahia**. 2007. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2007.

DEVEGOWDA, G., ARAVIND, B.I.R., RAJUNDRA, K. et al. A biological approach to counteract aflatoxicosis in broiler chickens and ducklings by the use of *Saccharomyces cerevisiae* cultures added to feed. In: Biotechnology in the feed industry, alltech's annual symposium, 10, 1994. **Proceedings...** Loughborough: Nottingham University Press, p.235-45, 1994.

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

DIAZ, D.E.; SMITH, T.K. Micotoxin sequestering agents: practical tools for the neutralization of mycotoxins. In: DIAZ, D.E. **The mycotoxin blue book**. England: Nottingham University Press, p.349, 2005.

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

DILKIN, P. et al. Classificação macroscópica, identificação da microbiota fúngica e produção de aflatoxinas em híbridos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 137-141, 2000.

DOERR, J.A. et al. Effects of low levels chronic aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science**, Texas, n.62, p.1971-1977. 1983.

EATON D. L.; GALLAGHER, E. P. Mechanisms of aflatoxins carcinogenesis. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology** 34:135–72, 2004.

GIACOMINI, L. et al. Desempenho e plumagem de frangos de corte intoxicados por aflatoxinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n.1, p. 234-239, jan-fev, 2006.

GOOD, R.E., HAMILTON, P.B. Beneficial effect of reducing the feed residence time in a field problem of suspected moldy feed. **Poultry Science**, v.60, n. 7, p.1403-1405, jul, 1981.

GOMPERTZ , O. F. et al. Características gerais dos fungos. In: TRABULSI ,L. R. e ALTERTHUM ,F. **Microbiologia**. São Paulo - SP: Atheneu, p.760, 2008.

GOURAMA, H.; BULLERMAN, L. B. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.58, n.12, p.1395-1404, 1995.

HOCHLEITHNER, M. Biochemisteris. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian Medicine: principles and application**, Florida:Wingers, p.229, 1994.

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.

HUSSEIN, H.S.; BRASEL, J.M.; Review: toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v. 167, n. 2, p. 101-1374, 2001.

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

IARC. **Monographs on the evolution of carcinogenic risks to humans**. Lyon. v.56: Some naturally occurring substances: foods items and constituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, p.245-524, 1993.

IARC. INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CANCER, **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**. Lyon: WHO, v.82, 2002.

KESHAVARZ, K. Formulação de rações e manejo de alimentação. **Avicultura Industrial**, v. 77, p. 27-31, 1987.

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

KRABBE, E.L., PENZ JR., A.M. Efeito das condições de armazenagem de grãos na energia metabolizável aparente para frangos de corte criados com dietas de diferentes qualidades. In: CONFERÊNCIA APINCO 1995 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Santos, 1995. **Anais...** Campinas: FACTA, 1995b, p.9-10.

KUBENA, L.F. et al. Diminution of aflatoxicosis in growing chickens by the dietary addition of hydrated, sodium aluminosilicate. **Poultry Science**, 69, p.727-735, 1990.

KUBENA, L.F. et al. Effects of hydrated sodium calcium aluminosilicate on growing turkey poult during aflatoxicosis. **Poultry Science**, Texas, n.70, p.1823-1830, 1991.

LAMIC – Laboratório de Análises Micotoxológicas – Universidade federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, Brasil. Disponível em <http://www.lamic.ufsm.br>. Acesso 20 dezembro de 2012.

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

LEESON, S.; DIAZ, G.J.; SUMMERS, J.D. **Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins**. 1 ed. Guelph, Ontario, Canada: University Books, p.352, 1995a.

LEESON, S., DIAZ, G.; SUMMERS, J.D. Aflatoxins. In: LEESON, S., **Mycotoxins**. Ontario, Canada: University Books, p. 248-279, 1995b.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; GIACOMINI, L. Z. . Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. In: Conferência APINCO 2006 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2006, Santos/SP. **Anais...** Campinas/SP: FACTA, p. 213-224, 2006.

MALLMANN. C. A.; DILKIN. P. **Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos**, 1a ed. Santa Maria: Editora Palotti, p.240, 2007.

MALLMANN, C. A. et al. Micotoxinas en Ingredientes para Alimento Balanceado de Aves. In: XX CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 2007, Porto Alegre/RS. **Anais...** Porto Alegre, RS, p. 191- 204, 2007.

MARIANI, G. V. C. **Desempenho produtivo de frangos de corte submetido à intoxicação experimental com aflatoxinas em diferentes idades**. 1998. 79 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

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.

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

MOSS, M. O. Mycotoxin review: *Aspergillus* and *Penicillium*. **Mycologist**, Cambridge, v.16, n.3, p.116-119, 2002.

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

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.

OLIVEIRA, C.A.F. et al. Produção e Qualidade dos ovos de poedeiras submetidas à intoxicação prolongada com aflatoxina B1. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 68, p. 1-4, 2001.

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

OMS (ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD). Criterios de salud ambiental 11: Micotoxinas. Mexico: OMS, 131 p., 1983.

PARLAT, S.S.; YILDIZ, A.Ö.; OGUZ, H. Effect of clinoptilolite on performance of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during experimental aflatoxicosis. **British Poultry Science**, London, p.495-500. 1999.

PHILLIPS, T.D. et al. Hydrated sodium calcium aluminosilicate. A high affinity sorbent for aflatoxin. **Poultry Science**, v.67, p. 234-247, 1988.

PHILLIPS, T.D et al. Detection and detoxification of aflatoxins: Prevention of aflatoxicosis and aflatoxin residues with hydrated sodium calcium aluminosilicate. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v.32, p.15-19, 1990.

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

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

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

RAWAL, S.; KIM, J. E.; COULOMBE, R. J. Aflatoxin B1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. **Research in Veterinary Science**, v.89, p.325-331, 2010.

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.

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

SANTIN, E. Micotoxicoses. In: JÚNIOR, A.B.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, Cap.6, p.379-387, 2000.

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

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

SANTURIO, J.M. Antifúngicos e adsorventes de aflatoxinas em grãos: Quando usá-los? In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES, Curitiba, 1995. **Anais...** Campinas: FACTA, p.97-108, 1995.

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

SAWHNEY, D. S.; VADEHRA, D. V.; BACKER, R. C. The metabolism of ¹⁴C aflatoxins in laying hens. **Poultry Science**, v.52, p.1302-1309, 1973.

SHRYOCK, T.R. et al. Effect of bentonite incorporated in a feed ration with tilmicosin in the prevention of induced mycoplasma *gallisepticum airsacculitis* in broiler chickens. **Avian Diseases**, Georgia, n.38, p.501-505, 1994.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIAK, S.L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. Barueri, SP: Ed. Manole, 1a Edição, 2008.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.43, n.8, p.141-158, 1998.

TABIB, Z., JONES, F.T., HAMILTON, P.B. Effect of pelleting of poultry feed on the activity of molds and mold inhibitors. **Poultry Science**, v. 63, n.7, p.70-75, 1984.

TANAKA, M.A.S. et al. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Scientia Agricola**, v.58, n.3, p.501-508, 2001.

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 Sao Paulo, 2004.

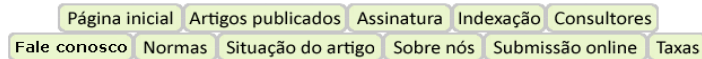
WOGAN, G.N. Aflatoxins as risk factors for hepatocellular carcinoma in humans. **Cancer Research**, Chestnut, 52 (Suppl.), p.2114S-8S, 1992.

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

ANEXO A – Normas para Publicação na Revista Ciência Rural



Português | Eng



Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via [eletrônica](#) e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery.** Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros.** Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid.** Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques.** 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte.** São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

ANEXO A – continuação...

9.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow dysplasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.