



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**Efeitos do uso de adsorventes em frangos de corte alimentados com dietas naturalmente
contaminados com aflatoxina e fumonisina**

Victor Hugo de Vasconcelos Calado

RECIFE 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**Efeitos do uso de adsorventes em frangos de corte alimentados com dietas naturalmente
contaminados com aflatoxina e fumonisina**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Orientador: Valdemiro Amaro da Silva Junior

Victor Hugo de Vasconcelos

RECIFE, 2016

Ficha catalográfica

C141e Calado, Victor Hugo de Vasconcelos
Efeitos do uso de adsorventes em frangos de corte alimentados com dietas naturalmente contaminados com aflatoxina e fumonisina / Victor Hugo de Vasconcelos Calado.
– Recife, 2016.
48 f. : il.

Orientador: Valdemiro Amaro da Silva Junior.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2016.
Referencias.

1. Imunopatologia 2. Lesões hepáticas 3. Sistema imunológico
4. Aflatoxinas 5. Fumonisinias 6. Frango de corte I. Silva Junior, Valdemiro Amaro da, orientador II. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**Efeitos do uso de adsorventes em frangos de corte alimentados com dietas naturalmente
contaminados com aflatoxina e fumonisina**

VICTOR HUGO DE VASCONCELOS CALADO

Aprovado em: 11 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA:

Orientador: Prof. Dr. Valdemiro Amaro da Silva Junior
Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE

Prof. Dr. Frederico Celso Lyra Maia
Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE

Prof. Dr. Fernando Leandro dos Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE

Prof. Dra. Mércia Rodrigues Barros
Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE

“Mar calmo nunca fez bom marinheiro”

anônimo

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela oportunidade de estudar e construir um futuro melhor.

A meus pais Fernando e Frascinete, meus irmãos Érico e Frascynanda que sempre estiveram presentes e me apoiaram nos momentos mais difíceis da vida e sempre me incentivaram a ir além nos estudos. Muito obrigado!

A minha avó Dona Alzira (*in memoriam*) e minha tia Minervina que com grande carinho vibravam com minhas conquistas. Obrigado!

Ao professor Valdemiro Junior que vem me orientando e aconselhando desde a graduação, nos tempos de PIBIC. Pela confiança e por acreditar no meu potencial e esforço para desenvolver esta pesquisa na área avícola. Levarei suas lições comigo, valeu, muito obrigado!

Ao professor Frederico Maia por sua disponibilidade e aconselhamentos ajudando de forma impar, com seu conhecimento, na leitura das lâminas, muito obrigado.

A equipe do laboratório de pesquisas da patologia, Sandra Torres, Simone Macedo, Fabiana Felix, Alluanan, e Jéssica que foram cruciais em me passar as técnicas e procedimentos histotécnicos. Suas dicas foram bem aproveitadas. Muito obrigado.

A Luana Rodrigues que me ajudou de forma direta em todos os trabalhos laboratoriais. Minha gratidão.

Aos novos amigos que fiz: André, Winny e Ana Katharyne. Obrigado.

A minha noiva Elizabete Cristina, companheira de toda vida, que sempre me apoiou e esteve presente me incentivando a prosseguir, até mesmo nas horas que achava que não iria conseguir. Muito obrigado Mô.

A minha segunda família, Dona Nerice, Roberto, Manoel e Elaine que me ajudaram na condução do experimento em campo. Muito obrigado. Sem vocês não teria conseguido.

A Dra Sineide Vilela pelas conversas que tivemos e pelo grande auxílio nos resultados de análises, gentilmente cedidos, de materiais desta pesquisa enviados ao Laboratório de sua propriedade o Lada, Recife PE, muito obrigado!

A Prof Dra Mércia Barros por me incentivar nos estudos sempre que tínhamos oportunidade de conversar. Muito obrigado!

A Jamilly Meneses que me acolheu com garra para que pudesse iniciar o mestrado. Obrigado!

As aves que cederam suas vidas em prol da ciência avícola. Obrigado!

Ao Cnpq, pela concessão da bolsa.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco campus Recife PE por me dar a oportunidade de me tornar mestre.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1.INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. Efeitos das principais micotoxinas de importância na avicultura	13
2.1.1. Aflatoxinas.....	14
2.1.2. Fumonisinias	16
2.2. Níveis de tolerância e controle de micotoxinas	17
3. OBJETIVOS	20
4. REFERÊNCIAS	21
5. ARTIGO.....	29
6. CONCLUSÃO	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional das rações experimentais por fase de criação.	34
Tabela 2. Concentração de aflatoxinas e fumonisinas (expressas em ppm) presentes no milho utilizado nas rações experimentais e os padrões do LAMIC 2010, de acordo com as fases de criação.....	36
Tabela 3. Valores médios e desvios padrões para os parâmetros peso vivo semanal (14, 21 e 56 dias) e peso médio e peso relativo dos órgãos em cada tratamento.	36
Tabela 4. Resultados da descrição e comparação histopatológica dos órgãos analisados por tratamento.	40
Tabela 5. Resultados sorológicos dos testes para NDV e IBD obtidos de frangos de corte intoxicados com micotoxinas (aflatoxina e fumonisinas) e tratados com adsorventes.	43

RESUMO

As micotoxinas têm sido um problema na produção avícola por estarem presentes nos principais ingredientes (milho e farelo de soja) que compõem a ração para aves, levando a problemas como: inadequado aproveitamento dos alimentos e diminuição de imunidade animal frente a patógenos diversos. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da adição de adsorventes de micotoxinas, em dietas de frangos de corte contaminadas naturalmente com aflatoxinas e fumonisinas, sobre os parâmetros: biométricos, sorológicos e histopatológicos. O experimento foi realizado com 60 aves, com sete dias de idade, da linhagem comercial Cobb distribuídas em três tratamentos: T1 – Controle (sem inclusão de adsorventes de micotoxinas na dieta); T2 – inclusão de 0,5 kg/t do adsorvente A (composto por aluminossilicato de sódio e cálcio modificado industrialmente) e T3- inclusão de 1,5 kg/t do adsorvente B (composto por aluminossilicato de sódio e cálcio). As aves receberam, em todos os tratamentos, dietas isonutritivas, feitas com milho sabidamente contaminado, em campo por micotoxinas. Essas aves foram criadas até 60 dias de idade, quando foi realizada sorologia para NDV (vírus da doença de Newcastle) e IBDV (vírus da doença infecciosa bursal) e preparadas para eutanásia para posteriores análises histopatológicas e biométricas. Ao final, o peso vivo foi significativamente diferente entre os tratamentos T1 e T2 ($P=0,01400$), observando-se maior peso das aves que receberam o adsorvente A ($4,26 \pm 0,37$). Entre os órgãos analisados, apenas o peso da tonsila cecal apresentou diferença significativa entre os tratamentos T1 e T2 ($P<0,05$; $P=0,03008$), sendo que T1 ($5,20g \pm 1,239$) apresentou peso médio levemente superior ao peso médio do T2 ($4,05g \pm 1,208$). No teste sorológico, as quantidades de imunoglobulinas para IBDV apresentaram concentrações significativamente maiores no T2 ($P=0,041$). A intoxicação das aves com aflatoxinas e fumonisinas provocou lesões histopatológicas nos órgãos linfóides (bolsa cloacal, baço, timo e tonsilas cecais), fígado e rins. Contudo os adsorventes usados A e B minimizou as lesões, principalmente no fígado, bursa, e timo. A menor intensidade das lesões proporcionou melhores resultados sorológicos para IBDV no grupo tratado com o adsorvente A, resultando em aves com melhor desempenho, conclui-se sugerindo que este adsorvente produz melhor efeito nas aves em condições de campo.

Palavras-chave: imunopatologia avícola, lesões hepáticas, linfócitos, sistema imune, toxinas fúngicas

ABSTRACT

Mycotoxins have been a problem in poultry production to be present in the major ingredients (corn and soybean meal) that make up the poultry feed, leading to problems such as an inadequate use of food and reduction of animal front immunity to various pathogens. Thus it aimed to evaluate the effects of adding mycotoxin adsorbents in broiler diets naturally contaminated with aflatoxin and fumonisin, on the parameters: histopathology, biometric and serological. The experiment was conducted with 60 birds, seven-day-old Cobb commercial line in three treatments: T1 - control (not including mycotoxin adsorbents in diet); T2 - adding 0.5 kg / t. of adsorbent A and T3 inclusion of 1.5 kg / t of adsorbent B. The broilers receive in all treatments, isonutritives diets naturally contaminated by mycotoxins. These broilers were raised up to 60 days old when was made serology tests for NDV and IBDV, and after were sacrificed for histopathologic and biometric analysis. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) with significance level of 5% probability and Tukey test. There were significant differences between treatments ($P < 0.05$) in body weight. The body weight was significantly different between T1 and T2 ($P = 0.01400$), with a higher weight of the broilers receiving the adsorbent (4.26 ± 0.37). Among the organs analyzed, only the weight of the cecal tonsil significant difference between T1 and T2 ($P < 0.05$; $P = 0.03008$), and T1 ($5.20g \pm 1.239$) had an average weight slightly higher than average weight of T2 ($4.05g \pm 1.208$). The amounts of immunoglobulins to IBDV showed significantly higher concentrations in T2 ($P = 0.041$). This contamination of broilers aflatoxin and fumonisin caused histopathological lesions in immune organs, liver and kidneys. However adsorbents used A and B reversed in parts of the lesions, especially in the liver, bursa and thymus. This reversal of lesions led to improved serological tests for IBD (Gumboro bursal-infectious disease) in the group treated with the adsorbent, resulting in broilers with better performance, suggesting that this adsorbent showed better effect on broilers in field conditions.

Keywords: immune poultry pathology, hepatic lesions, lymphocytes, immune system, fungal toxins

1.INTRODUÇÃO

A avicultura de corte é uma atividade econômica de grande importância no setor agropecuário brasileiro. Conta com tecnologia de ponta nas diversas áreas do sistema de produção: genética, sanidade, nutrição, manejo e biossegurança. Isso tem contribuído de forma significativa no cenário mundial de produção de frangos de corte, levando o Brasil a ocupar o segundo lugar superando a China e ficando atrás apenas de Estados Unidos com produção de 13.546,5 milhões de toneladas (AVISITE, 2016). Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2016), o país lidera nas exportações mundiais com 4,304 milhões de toneladas de carne de frango (incluindo frangos inteiros, cortes, salgados, processados e embutidos) exportadas em 2015, o que representa, aproximadamente, 37% das exportações mundiais.

O destaque observado na cadeia avícola, no Brasil e no mundo, deve-se, principalmente, aos ganhos obtidos com os programas de melhoramento genético de aves, que desenvolveu diversas linhagens altamente produtivas. Atualmente o frango de corte apresenta uma conversão alimentar média de 1,8 (kg de ração consumida/kg de ave) e é abatido aos 42 dias de vida com peso médio de 2,6 kg (OLIVEIRA & NÄÄS, 2012; PATRICIO et. al., 2012). No entanto, essas linhagens atuais para alcançarem os parâmetros produtivos preconizados são muito exigentes quanto à sanidade, nutrição, instalações e ao manejo (TEIXEIRA,1998; BORGES et al., 2006).

Quanto à nutrição, a alimentação é o item que mais onera os sistemas de criação avícola, correspondendo à aproximadamente 70% dos custos da criação, uma vez que para atingir os índices de produção desejados são utilizadas rações balanceadas, contendo ingredientes de alto custo como milho e soja (ALBINO & TAVERNARI, 2008), para cada fase de vida das aves de corte como: pré-inicial (1-7 dias), inicial (8-21 dias), crescimento (22-35 dias) e terminação (de 36 dias até o abate). As rações contêm todos os nutrientes necessários para a manutenção biológica das aves bem como para produção de carne (TOLEDO, 2002). Porém, parte dos nutrientes pode ser perdida se os ingredientes da ração não forem de boa qualidade.

A qualidade dos ingredientes utilizados na fabricação de ração para os animais pode levar a maximização de ganhos ou perdas de resultados zootécnicos e econômicos. Um dos problemas que afetam a qualidade dos ingredientes das rações na produção avícola é a presença de micotoxinas (toxinas produzidas por fungos) nos ingredientes, notadamente milho e farelo de soja, que perfazem 70% do volume total da ração para aves. Estima-se que

25% da produção mundial de grãos contém algum tipo de micotoxina (SANTURIO, 2000; FREIRE et al., 2007). O milho, por exemplo, tem se mostrado contaminado com altos níveis de vários tipos de micotoxinas, tais como: aflatoxina e fumonensina que são as mais encontradas no território brasileiro. No intervalo de 10 anos (2004-2014) amostras de milho foram analisadas e confirmaram a presença em 47% delas contaminadas com aflatoxinas, com quantitativo médio de 0,009 ppm, enquanto o percentual no mesmo período para as fumonensinas foi de 81%, com quantitativo médio de 1,99 ppm. Mostrando predominância desses dois tipos de micotoxinas sobre as demais (MALLMANN et al., 2014). Essas micotoxinas causam grandes problemas nos animais que as consomem, tais como: inadequado aproveitamento dos alimentos e diminuição de imunidade animal frente a patógenos diversos. Dessa forma, torna-se substancial, pesquisas que solucionem ou minimizem os problemas zootécnicos e sanitários causados por micotoxinas em aves.

Os adsorventes de micotoxinas constituem em uma alternativa valiosa, mas paliativa, para minimizar os efeitos causados pelas toxinas aos animais, pois agem na detoxificação, ou seja, retira as toxinas do organismo do animal. Enquanto, os meios para evitar o crescimento dos fungos nas safras de grãos ainda são medidas de alto custo e, por esse motivo, são pouco empregados (SEKIYAMA et al., 2006). Existem vários tipos de adsorventes de micotoxinas comerciais, que agem sobre determinados tipos de micotoxinas e com recomendações de inclusão bastante variadas. Isso levanta dois questionamentos sobre quais são os melhores adsorventes e a quantidade que deve ser incluída nas rações das aves.

A maioria das literaturas, sobre o uso de adsorventes de micotoxinas nas rações de frango de corte, recomendam níveis de inclusão baseando-se nos resultados observados quanto às características de desempenho, principalmente, ganho de peso e peso ao abate (SMITH, 1999; SANTURIO, et al., 2005), porém uma minoria trata dos efeitos sobre órgãos específicos que são de extrema importância para o funcionamento e desenvolvimento fisiológico e imune das aves (ROSSI et al., 2010).

Dentro do contexto apresentado, objetivou-se com este avaliar os efeitos da adição de adsorventes de micotoxinas, em dietas de frangos de corte contaminadas naturalmente com aflatoxinas e fumonisinas, sobre os parâmetros: biométricos, sorológicos e histopatológicos, visando, dessa forma, identificar se as recomendações dos fabricantes de adsorventes atendem as necessidades de campo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Efeitos das principais micotoxinas de importância na avicultura de corte

Micotoxinas são descritas na literatura como sendo metabólitos secundários tóxicos e biologicamente diversos, produzidos por vários fungos, particularmente por espécies de *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicilium* (JOUANY & DIAZ, 2005). As micotoxinas são produzidas em condições de estresse sofridas pelos fungos como mudanças de temperatura, umidade ou aeração e na presença de agentes agressivos (SANTIN, 2005), podendo ocorrer no campo, antes mesmo da colheita, ou durante o armazenamento, persistindo em alimentos e rações destinados ao consumo humano e de animais, respectivamente (CARVAJAL & ARROYO, 1997). A intoxicação humana pode ocorrer por via direta ou indireta. Na via direta a intoxicação se dá pelo consumo de produtos de origem vegetal contaminados, enquanto, na indireta a intoxicação ocorre pelo consumo de produtos de origem animal com resíduos de micotoxinas (carne, leite, ovos, etc.) (FERNÁNDEZ et al., 1994). Nos animais, a intoxicação ocorre de forma direta quando estes são alimentados com rações contendo ingredientes de origem vegetal contaminados. Os produtos alimentícios mais susceptíveis ao desenvolvimento destes fungos incluem, principalmente, milho e trigo que, normalmente são utilizados na composição de rações empregadas em avicultura (LEESON et al., 1995). Na região nordeste, a composição de rações para frangos de corte é composta por, aproximadamente 70% de milho.

Os fungos podem ser divididos de acordo com o momento que contaminam o alimento: fungos de plantio e fungos de armazenamento. Os fungos de plantio são aqueles que contaminam os grãos antes da fase de colheita, e os fungos de armazenamento são responsáveis pela contaminação na fase de colheita ou etapas posteriores a colheita, tais como, transporte, armazenamento e processamento (FREIRE et al., 2007). Existem alguns fatores que determinam o crescimento dos fungos e a produção de micotoxinas, podendo ser divididos em físicos, químicos e biológicos. Os fatores físicos referem-se à umidade ou água livre, atividade de água, umidade relativa do ar, temperatura e integridade física dos grãos. Os fatores químicos consistem em pH, composição do substrato, nutrientes e minerais, etc. Enquanto, os fatores biológicos são a presença de invertebrados e cepas específicas de fungos com habilidade para produção de micotoxinas (GIMENO & MARTINS, 2011). Dessa forma, para evitar o crescimento dos fungos produtores de micotoxinas devem ser fornecidas condições desfavoráveis ao crescimento dos mesmos, refletindo na diminuição de contaminação dos alimentos por micotoxinas.

A grande preocupação com as micotoxinas, na avicultura, bem como na maioria dos sistemas de criação de animais de produção, refere-se às enfermidades denominadas de micotoxicoses (ROSMANINHO et al., 2001), que em aves causam graves problemas tanto pelo crescimento reduzido da ave como pela imunossupressão que deixa as aves mais suscetíveis aos agentes infecciosos e ainda aumenta as chances de falhas nas respostas vacinais. Além disso, as toxinas em aves são responsáveis por altas taxas de mortalidade e pela redução da conversão alimentar (EBRAHIMI & SHAHSAVANDI, 2008; SANTIN et al., 2003).

Na avicultura, as micotoxinas de maior importância são: aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxinas e os tricotecenos (SATURIO, 2000; MALLMANN, 2006). No entanto, a presença delas segue certa distribuição geográfica, predominando no Brasil as aflatoxinas e fumonisinas (DEVEGOWDA et al., 1998). A contaminação das aves com estas micotoxinas é quase inevitável, uma vez que cerca de 60% à 70% dos milhos estão contaminados com aflatoxina e fumonisina, respectivamente (LAMIC, 2012a, 2012b). A presença de uma micotoxina, não exclui a presença de outras como pode ser verificado no trabalho de KAWASHIMA et al. (2006), que analisaram a ocorrência de aflatoxina, fumonisina e ocratoxina em alimentos destinados a alimentação humana, tendo incidência principalmente das aflatoxinas e das fumonisinas em um mesmo alimento. Um estudo similar analisou a ocorrência de aflatoxina e fumonisina na cadeia de produção de frango de corte no estado de São Paulo, constatando a presença dessas duas micotoxinas em rações e milho (KOBASHIGAWA, 2010). A importância de se estudar a ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas refere-se ao efeito sinérgico que podem ocasionar, pois muitas vezes quantidades não tóxicas de uma determinada micotoxina podem se tornar tóxica quando agindo concomitantemente com outras micotoxinas (FERNANDES et al., 2006)

2.1.1. Aflatoxinas

As aflatoxinas são produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, espécies *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (MOSS, 1998) e consistem em pelo menos 18 compostos similares entre si, sendo os mais importantes identificados como B1, B2, G1 e G2 (COULOMBE, 1991). Apesar de possuírem uma distribuição cosmopolita, essas micotoxinas estão amplamente distribuídas em países de clima tropical e subtropical (LEESON et al., 1995) e são as que mais afetam as aves (GIMENO & MARTINS, 2011).

As aflatoxinas foram descobertas em 1960 quando provocaram um surto com alta letalidade em aves (especialmente em perus), na Inglaterra, que foram alimentados com amendoim proveniente do Brasil e da África. A partir dessa época, diversos estudos priorizaram as micotoxinas, especialmente as aflatoxinas, que hoje são as mais conhecidas e estudadas, não somente por serem tóxicas para os animais e humanos, mas também por apresentarem elevado potencial carcinogênico (RESANOVIĆ et al., 2009). As enfermidades causadas por aflatoxinas são denominadas de aflatoxicoses, que podem ser divididas em crônicas (ingestão de aflatoxinas em baixas dosagens, mas em longos períodos) e agudas (ingestão de altas concentrações de aflatoxinas). Os efeitos da aflatoxicose aguda são deterioração do estado geral das aves, diminuição no consumo de ração, hepatite aguda, icterícias, hemorragias e aumento na mortalidade, sinais esses que podem ser evidenciados rapidamente após a ingestão de alimentos contaminados (DILKIN & MALLMANN, 2004). Enquanto, as aflatoxicoses crônicas são mais difíceis de serem notadas, porém causam efeitos negativos na taxa de crescimento das aves ao longo do ciclo produtivo, resultando em perdas econômicas consideráveis (LEESON et al., 1995; DILKIN & MALLMANN, 2004). As aflatoxicoses agudas acometem, principalmente, as aves jovens, considerando que os efeitos deletérios das aflatoxinas são maiores na fase inicial de criação de frangos de corte (até os 21 dias de vida), enquanto que as aflatoxicoses crônicas acometem as aves até a fase final de criação, sendo observada pela diminuição no ganho de peso (HUFF et al., 1986) e piora na conversão alimentar devido as lesões intestinais que compromete a capacidade de absorção dos nutrientes (LAZZARI, 1993).

Em geral, a primeira mudança ocasionada pela aflatoxicose é alteração no tamanho dos órgãos internos com aumento de tamanho no fígado, baço e rins, e diminuição da bursa de Fabrício e timo. O fígado é o principal órgão onde as aflatoxinas são metabolizadas (HESSELTINE, 1976). Nas aves com aflatoxicose, o fígado sofre alterações para uma coloração amarelada e friável, com acentuada infiltração de gordura. Quanto maior for a dose e o tempo de intoxicação por aflatoxina, maior será o grau de infiltração gordurosa podendo chegar a 68% de aumento do fígado em frangos de corte (MERKLEY et al., 1987). Além dessas alterações, as aflatoxinas causam efeitos de imunossupressão (SHARMA, 1993; LEESON & SUMMERS, 2001). No caso de seus efeitos imunossupressores, podem-se citar os mais conhecidos que são a inibição dos fagócitos e da síntese de proteína, afetando os ácidos nucleicos e a síntese de proteínas e, conseqüentemente, diminuindo a produção de anticorpos que são gerados através da síntese proteica (BATINA, 2004). Embora os mecanismos de imunossupressão, pelas aflatoxinas, não sejam bem esclarecidos, já foi

demonstrado que as aves intoxicadas com as aflatoxinas apresentaram efeitos negativos sobre a resposta imunológica para doenças de Gumboro e redução na resposta imunológica humoral de vacinas contra as doenças de Newcastle e bronquite infecciosa (AZZAM & GABAL, 1997; GABAL & AZZAM, 1998). Seguramente, os efeitos deletérios das aflotoxinas podem ser determinados pelos níveis presentes nas rações e idade das aves; por exemplo, níveis a partir de 0,05 ppm de contaminação de alimentos causam uma diminuição da resposta imunológica humoral de frangos de corte vacinados contra doença de Newcastle aos 35 e 42 dias de idade das aves, levando as aves a apresentarem anemia acompanhado de leucopenia e trombocitose (TESSARI, 2004).

Uma das justificativas para os efeitos observados no sistema imunológico, ocasionado pela imunossupressão induzida pela aflatoxina, pode ser a diminuição da atividade dos linfócitos T ou B e do comprometimento da função efetora dos macrófagos (CORRIER, 1991), bem como uma diminuição da atividade fagocítica de monócitos (GHO SH et al., 1990). Adicionalmente, verifica-se que a aflatoxina causa a aplasia do timo, baço e bursa Fabrícus das aves, e quando as aves são alimentadas com rações contendo quantidades de 0,6 a 10,0 ppm de aflatoxinas ocorre a supressão da classe de imunoglobulina A e G durante a imunização (KARAMAN et al., 2005). No entanto, a resposta à intoxicação por aflotoxinas não deve ser relacionada apenas com a concentração, mas também com o nível de conforto das aves, pois quanto maior o nível de estresse, menor será a quantidade de toxina necessária para alterar o desempenho dos animais (DOERR et al., 1983).

2.1.2. Fumonisinias

As fumonisinias são metabólitos secundários produzidos, principalmente, pelas espécies *Fusarium verticillioides* e pelo *Fusarium proliferatum*, e por alguns fungos do gênero *Alernaria*. Uma das principais características em comum dessas espécies de fungos é a preferência por temperatura ambiente entre 25 e 35°C e atividade de água de 0,94 a 0,98. Essas condições são ideais para o bom desenvolvimento das colônias fúngicas produtoras de fumonisinina (SANCHIS et al., 2006).

As fumonisinias consistem em 6 compostos dos quais pode-se destacar pelo menos três mais frequentes nos grãos: fumonisinina B1, B2 e B3 (FB1, FB2 e FB3). O composto FB1 é o mais tóxico e abundante, sendo isolado em cerca de 70% das contaminações com fumonisinina em alimentos e rações, seguido pelos FB2 e FB3 (MARASAS, 1995). Apesar das aves apresentarem certa resistência às fumonisinias (VOSS et al., 2007), alguns estudos apontam

que a FB1 age sobre antígenos de superfícies de linfócitos T, interrompendo o equilíbrio da subpopulação de linfócitos e inibindo a síntese de DNA em linfócitos normais, ocasionando assim uma baixa no sistema imunológico do animal (MINAMI et al., 2004; VOSS et al., 2007). Em aves, níveis de FB1 acima de 150 ppm ocasionam diarreia, diminuição do consumo de alimentos e ganho de peso, aumento do peso do fígado e rins e necrose hepática (NORRED & VOSS, 1994). Para as fases iniciais do desenvolvimento de frangos de corte, cerca de 10 ppm de FB1 durante 6 dias pode contribuir para aparecimento de petéquias, aumento do tempo de coagulação sanguínea e diminuição da concentração de albumina sérica, além de efeitos hepatotóxicos (ESPADA et al., 1997). Aves de corte alimentadas com dietas contendo níveis de 0, 100, 200, 300 ou 400 ppm de fumonisina B1 até 21 dias de idade não ganham peso satisfatoriamente a medida que o nível de FB1 na dieta é aumentado (LEDOUX et al., 1992). Enquanto, níveis de 20, 40 e 80 ppm de fumonisinas B1 não têm efeitos sobre o desempenho de frangos de corte, peso da bolsa cloacal, fígado, rins e baço (HENRY et al., 2000). Resultados semelhantes a esses foram verificados por Souza et al. (2011) que não verificou alterações no desempenho de frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo rações contaminadas com diferentes níveis de fumonisinas (0,05, 1,3 e 2,3 ppm).

2.2. Níveis de tolerância e controle de micotoxinas

Podem-se citar alguns fatores que devem ser considerados na determinação dos limites máximos de tolerância de micotoxinas em alimentos e rações para animais: disponibilidade de dados toxicológicos; disponibilidade de dados sobre a ocorrência de micotoxinas nos produtos; disponibilidade de métodos analíticos e legislação nos países com os quais existe relação comercial (SABINO, 2006).

Nas literaturas são apresentados vários níveis de micotoxinas nas rações ou alimentos com ou sem efeitos nas aves (NORRED & VOSS, 1994; HENRY et al., 2000; TESSARI, 2004; SOUZA et al., 2011), porém é difícil determinar uma quantidade exata que garanta um bom estado de saúde das aves. Segundo a legislação brasileira (portaria MA/SNAD/SFA Nº. 07, de 09/11/88 - publicada no Diário Oficial da União de 09 de novembro de 1988 - Seção I, página 21.968, 1988), os níveis de micotoxinas aceitáveis são de 0,02 e 2 ppm para as aflatoxinas e fumonisinas, respectivamente. Esses níveis são muito inferiores aos encontrados nos alimentos destinados à alimentação animal. Dados do Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) obtidos no Brasil, no ano de 2011, aproximadamente, 72% das

amostras de ração e milho analisadas foram positivas para fumonisinas, apresentando, em média, de 9 ppm dessas micotoxinas (LAMIC, 2011).

A dose letal de aflatoxina em frangos de corte varia de 6,5 a 16,5 ppm (LEESON et al., 1995), em patos a letalidade pode ser causada com apenas 0,37 ppm (Food Ingredients Brazil, 2009). De acordo com os estudos de Mallmann et al. 2007 e Giacomini et al. 2006, são necessários de 1 a 3 ppm de aflotoxinas nas rações das aves para que apresentem sinais clínicos de aflotoxicose, tais como, amontoamento das aves nos cantos das instalações, prostração, apatia e palidez de crista, barbela e patas. Segundo o LAMIC 2011, não é aceitável a presença de aflotoxinas na fase inicial de frangos de corte e o nível de fumonisina tolerado não deve ser superior a 0,01 ppm. Nas fases de crescimento e terminação, os níveis de aflatoxinas e fumonisinas permitidos são 0,002 e 0,5 ppm e 0,005 e 0,5 ppm, respectivamente.

A principal forma de controlar as micotoxinas nos alimentos seria pela eliminação do crescimento dos fungos e formação das micotoxinas nos grãos tanto no campo como na armazenagem. Porém, as principais medidas utilizadas para evitar o crescimento de fungos toxigênicos são baseadas em técnicas caras (por exemplo, melhora das práticas agrícolas, agentes antifúngicos e controle das condições de armazenamento) que oneram ainda mais o custo de produção de grãos. Portanto, os efeitos tóxicos das micotoxinas têm sido atenuados por meio de processos de detoxificação das rações para animais, dos quais o uso de adsorventes misturados a rações vem sendo muito empregados na avicultura com resultados bastante satisfatórios (SEKIYAMA et al., 2006).

Adsorvente de micotoxinas é um material nutricionalmente inerte que fixa à sua superfície a micotoxina para eliminá-la nas fezes sem que ocorra sua absorção pelo trato gastrintestinal do animal, diminuindo seu efeito tóxico (ARELLANO & ROSAS, 2008; GIMENO & MARTINS, 2011). Quanto a origem, os adsorventes podem ser: inorgânicos (polímeros a base de sílica) ou orgânicos (polímeros a base de carbono) (LEESON et al., 1995). Como existem inúmeros tipos de micotoxinas que podem afetar os animais e com estruturas químicas e concentrações bastante variadas, também existem diversos tipos de adsorventes de micotoxinas, de alto valor no setor farmacêutico, com diferenças na sua efetividade, ou seja, um único adsorvente não é eficaz para todos os tipos de micotoxinas. Além disso, se forem utilizados incorretamente pode ter efeitos contrários como demonstrado por Miazzi et al., 2000; Rosa et al., 2001, uma vez que alguns adsorventes em níveis elevados podem prejudicar a absorção de alguns nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho zootécnico dos animais.

No mercado existem diversos tipos de adsorventes com diferentes origens e níveis de inclusão, portanto, recomendam-se algumas características para eleição de um bom adsorvente de micotoxinas, tais como, capacidade de adsorver uma ampla gama de micotoxinas (devido à sinergia entre as micotoxinas), baixa taxa de inclusão na ração (evita a redução da densidade de nutrientes da dieta), dispersão rápida e uniforme na ração durante a mistura, estabilidade térmica durante peletização, extrusão e armazenamento, baixa afinidade com vitaminas, minerais ou outros nutrientes, alta estabilidade em grande variação de pH e biodegradabilidade após excreção. Porém, a forma mais indicada para eleição de um adsorvente é através dos resultados de pesquisas científicas que testam diferentes níveis de adsorventes para diferentes tipos de micotoxinas (DIAZ & SMITH, 2005).

Embora sejam esperados resultados positivos quanto a inclusão de adsorventes nas rações para alimentação animal, algumas literaturas reportam que a inclusão de determinados níveis de adsorvente de micotoxinas (0 a 0,50%) não melhoraram o desempenho das aves alimentadas com rações contaminadas com níveis de 0 a 3 ppm de aflatoxinas (SANTURIO et al., 2005). Entretanto, existem literaturas que demonstram a eficácia dos adsorventes de micotoxinas na avicultura de corte (STANLEY et al., 1996; SMITH, 1999; DEVEGOWDA & MURTHY, 2005; SWAMY, 2005).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da adição de adsorventes de micotoxinas, em dietas de frangos de corte contaminadas naturalmente com aflatoxinas e fumonisinas, sobre os parâmetros: biométricos, sorológicos e histopatológicos.

3.2. Objetivos específicos:

- Avaliar os efeitos da inclusão de dois adsorventes de micotoxinas (um para aflatoxinas e fumonisinas e outro para aflatoxinas) nas rações das aves a partir da primeira semana de idade até a idade ao abate.
- Analisar o grau de contaminação com aflatoxinas e fumonisinas, do milho utilizado em granjas comerciais.
- Avaliar índices zootécnicos, tais como: peso semanal e peso final (idade ao abate).
- Avaliar histopatologicamente os órgãos: fígado, rim, baço, bolsa cloacal, tonsilas cecais e timo.
- Avaliar e efetuar pesagens dos órgãos: fígado, baço, bolsa cloacal e timo e correlacioná-los em índice com o peso final da ave.
- Quantificar imunoglobulinas totais para doença de Newcastle e doença Infeciosa Bursal (Gumboro).

4. REFERÊNCIAS

ARELLANO, J. L.; ROSAS, I. G. Uso de organoaluminosilicato para reducir el efecto tóxico de mezcla de Aflatoxinas y Zearalenona en la Producción de Huevo. In. SCUSSEL et. al. **Atualidades em Micotoxinas e Armazenagem Qualitativa de Grãos II** . Florianópolis: ABMAG, p.351- 355, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL-ABPA. Exportação de carne frango do Brasil fecha 2015 com alta de 5%. Disponível em: <http://www.wexbrazil.com.br/noticias/168-exportacao-de-carne-frango-do-brasil-fecha-2015-com-alta-de-5>. Acessado em: 01 mar 2016.

AVISITE. Estatísticas e preços: Produção de Carne de Frango em mil ton. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/economia/index.php?acao=carnefrango>. Acessado em: 20 fev 2016.

AZZAM, A. H.; GABAL, M. A. Interation of aflatoxin in the feed and immunization against selected infectiuos disease. I. Infectious bursal disease. **Avian Pathology**, v.26, p.317-325, 1997.

BATINA, P. N. **Perfil bioquímico de frangos de corte experimentalmente intoxicados com aflatoxinas com e sem adição de montmorilonita sódica na dieta alimentar**. 2012. 43 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

BORGES, C. A. Q. et al. Exigências de energia e composição de carcaça de galos reprodutores pesados em função do consumo energético na fase de reprodução. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 5, p. 1978-1984, 2006.

CARVAJAL, M.; ARROYO, G. Management of aflatoxin contaminated maize in Tamaulipas, México. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, n. 4, p. 1301-1305, 1997.

CORRIER, D. E. Micotoxinoses: Immunossuppression of mechanisms. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.30, p.73-87, 1991.

COULOMBE, R. A. Aflatoxins. In: SHARMA, R. P.; SALUNKHE, D. K. (Eds.). **Mycotoxins and Phytoalexins**. London: CRC Press, 1991. p. 103-144.

DEVEGOWDA, G. et al. Mycotoxins: novel solutions for their counteraction. **Feedstuffs**, Minnetonka v.7, p.12-15. 1998.

DEVEGOWDA, G.; MURTHY, T.N.K. Mycotoxins: their effects in poultry e some practical solutions. In: Duarte E. Diaz (ed.) **The mycotoxin Blue Book**. Loughborough: Nottingham University Press, 2005. cap. 2. p.25-56.

DIAZ, D. E.; SMITH, T. K. Mycotoxin sequestering agents: practical tools for the neutralisation of mycotoxins. In: DIAZ, D. E. **The Mycotoxin Blue Book** . Nottingham: Nottingham University Press, 2005. p. 323-339.

DOERR, J. A. et al. Effects of low-level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science**, Oxford, v. 62, n. 10, p. 1971-1977, 1983.

EBRAHIMI, M.M.; SHAHSAVANDI, S. Evaluation of antibody levels during simultaneous aflatoxicosis and vaccination against infectious laryngotracheitis in pullets. **Biologicals** , v. 36, n. 5, p. 327-329, 2008.

ESPADA, Y. et al. Fumonisin mycotoxicosis in broilers: Plasma proteins and coagulation modifications. **Avian Diseases**, Jacksonville, v. 41, n. 1, p. 73-79, 1997.

ESPADA, Y. et al. Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin B1 in broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, v.53, p.275-279, 1992.

FERNANDES et al. **O Risco das Micotoxinas**. 2006. Disponível em: <https://pt.engormix.com/MA-micotoxinas/artigos/risco-micotoxinas-fungos-t30/p0.htm>. Acessado em: 19 fev 2016.

FERNÁNDEZ, A. et al. Aflatoxin and its metabolite residues in edible tissues from laying hens and broiler chickens fed a contaminated diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 65, n. 4, p. 407-414, 1994.

FOOD INGREDIENTS BRAZIL. **As micotoxinas**. Nº 7, 2009. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/>>. Acessado em: 29 de fev. 2016.

FREIRE, F. C. O. et al. **Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal**. Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária. Documento 110. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, 2007. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Dc_110.pdf > Acesso em: 14/10/2010.

GABAL, M. A. ; AZZAM, A. H. Interaction of aflatoxin in the feed and immunization against selected infectious diseases in poultry. II Effect on one-day-old layer chicks simultaneously vaccinated against Newcastle disease, infectious bronchitis and infectious bursal disease. **Avian Pathology**, v.27, p.290-295, 1998.

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

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.

GIMENO, A.; MARTINS, M. L. **Mycotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos**. 3. ed. Miami: Special Nutrients, 2011.129p. Disponível em:<<http://www.specialnutrients.com/pdf/book/3%20edicion%20MICOTOXINAS%20LR%20Secure.pdf>>. Acessado em: 20 fev.2016.

HENRY, M. H. et al. The toxicity of purified fumonisin B1 in Broiler chicks. **Poultry Science**, v.79, n.5, p. 1378-1384, 2000.

HESSELTINE, C. W. Conditions leading to mycotoxin contamination of food feed in mycotoxins other fungal related food problem. Washington: American Chemical Society, 1976. 122 p.

HOERR, F.J. Liver. In.: RIDDELL, C. **Avian histopathology**. Pensylvania: Library of Congress, 1996. p.143-166.

JOUANY, J. P.; DIAZ, D. E. Effects of mycotoxins in ruminants. In: DIAZ, D. E. **The Mycotoxin Blue Book** . Nottingham: Nottingham University Press, p. 295- 321, 2005.

KARAMAN, M. et al. Evolution of the detoxifying effects of yeast glucomannan on aflatoxicosis in broilers as assessed by gross examiner and histopathology, **British Poultry Science**, v.46, p.394-400, 2005.

KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V. Incidência de fumonisina B1, aflatoxina B1, B2, G1 e G2, ocratoxina A e zeralenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnológica de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 516-521, 2006.

KOBASHIGAWA, E. **Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em sistema de produção de frangos de corte no Estado de São Paulo**. 2010. 115 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

LABORATÓRIO DE ANÁLISES MICOTOXICOLÓGICAS-LAMIC. Recomendações do LAMIC de limites máximos de micotoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$) em alimentos de algumas espécies de animais domésticos (2010). Disponível em: <
http://www.lamic.ufsm.br/web/?q=legislacao_brasil >. Acessado em: 20 fev 2016.

LABORATÓRIO DE ANÁLISES MICOTOXICOLÓGICAS-LAMIC Legislação da União Europeia, 2011. In: MALLMANN C.A., DILKIN, P. RAUBER, R. H. **Micotoxinas e micotoxicoses na aviculture**. Brazil, 183 p. 2011.

LABORATÓRIO DE ANÁLISES MICOTOXICOLÓGICAS- LAMIC. **Contaminação da safra de milho 2011/2012 com aflatoxina**. Santa Maria: [s.n.], 2012a. Disponível em: <
http://www.lamic.ufsm.br/web/?q=res_ultadossafraatual>. Acesso em: 20 fev 2016.

LABORATÓRIO DE ANÁLISES MICOTOXICOLÓGICAS- LAMIC. **Estatística fumonisina**. Santa Maria: [s.n.], 2012b. Disponível em: Acesso em < http://www.lamic.ufsm.br/web/?q=resultados_fumonisin: 20 fev 2016.

LEDOUX, D. R. et al. Fumonisin toxicity in broiler chicks. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Georgia, v. 4, n. 3, p. 330-333. 1992.

LEESON, S. et al. **Poultry metabolic disorders and mycotoxins**. Guelph : University Books, 1995. 352p.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4. ed. Ontario: University Books, 2001. 591p.

MALLMANN, C. A. et al. Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola, 2006, Santos, SP. **Anais...** Santos, 2006.

MALLMANN, C. A. et al. Panorama das micotoxinas. In: VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal, 2014, Estância de São Pedro, SP. **Anais...** Estância de São Pedro, 2014.

MARASAS, W. F. O. Fumonins: their implications for human and animal health. **Natural Toxins**, Malden, v. 3, n. 4, p. 193-198, 1995.

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

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

MOSS, M. O. Recent studies of mycotoxins. **Journal Applied Microbiology**, Symposium, v. 84, p.62S-76S, 1998.

NORRED, W.P.; VOSS, K.A. Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. **Journal of Food Protection**, v.57, p.522-527, 1994.

OLIVEIRA, C.A.F. et al. Hepatic lesions in laying hens chronically exposed to rations containing different levels of aflatoxin B1. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.66, p.39-43, 1999.

RESANOVIĆ, R.M. et al. Mycotoxins in poultry production. **Journal Natural Science**, Matica srpska Novi Sad, v.116, p.7-14, 2009.

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**, Oxford, v. 80, n. 2, p. 139-144, 2001.

SANCHIS, V. et al. Ecophysiology of fumonisin producers in *Fusarium* section *Liseola*. In: HOCKING, A. D.; PITT, J. I.; SAMSON, R. A.; THRANE, U. **Advances in Food Mycology**. Nova Iorque: Springer, 2006. v. 571

SANTIN, E. Mould growth and mycotoxin production. In: DIAZ, D. E. **The Mycotoxin Blue Book**. Nottingham: Nottingham University Press, p. 225- 234, 2005.

SANTIN, E. et al. Low level of aflatoxin in broiler at experimental conditions, use of cell wall yeast as adsorbent of aflatoxin. **Archives of Veterinary Science**, v. 8, n. 2, p. 51- 55, 2003.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas e Micotoxicoses na Avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Volume 2, Número 1. Campinas, 2000.

SANTURIO, J. et al. Avaliação do desempenho de frangos de corte intoxicados com aflatoxinas e submetidos a concentração de 0,25 e 0,50 de “adtox” na dieta. **Relatório final, LAVIC**. Santa Maria, RS. Jun. 2005.

SEKIYAMA, B. L.; FERRARI, G.; MACHINSKI JÚNIOR, M. Processo de descontaminação de rações contendo micotoxinas. **Revista Analytica**, n.26, 2006.

SHARMA, R. P. Immunotoxicity of mycotoxins. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 3, p. 892-897, 1993.

SMITH, T. K. **Effect on feeding grains contaminated with fusarium Mycotoxins with or without Mycosorb on performance and incidence of carcass bruising in broiler chickens.** [S.L.]: Nicholasville, Kentucky, USA, 1999, 3p. (Alltech Technical Publications).

SOUZA, Y. L. S. et al. Milho contaminado com fumonisina e o desempenho em frangos de corte. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola. 2011. Santos, SP. **Anais...Santos**, 2011.

STANLEY, V.G.; CHUKWU, H.; GREAVES, R. Interaction of temperature, aflatoxin and Mycosorb on the performance of broiler chicks. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 12, 1996, Lexington, **Proceedings...** Lexington: Alltech, 1996. 3p.

SWAMY, H.V.L.N. Mycotoxicoses in poultry: overview from the Ásia-Pacific region. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 21, 2005, Lexington, **Proceedings...** Lexington: Alltech, 2005, p.75-89.

ROSMANINHO, J. F. et al. Efeitos das micotoxicoses crônicas na produção avícola. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.2, p.107-114, jul./dez., 2001.

ROSSI et al. Efeito do adsorvente a base de glucomamano esterificado no desempenho e caracterização visceral de frangos de corte. **Revista Brasileira de Agrocência**, Pelotas, v.16, n.1-4, p.91-100, jan-dez, 2010. Disponível em:<
<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/42595/1/Efeito-do-adsorvente.pdf>>
Acessado em: 10 dez 2015.

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

TEIXEIRA, A. S. **Alimentos e alimentação dos animais**. 4. ed. Lavras:UFLA/FAEPE, 1998, 402 p.

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

TOLEDO, R. S. **Níveis nutricionais e forma física da ração pré-inicial para frangos de corte.** 2002. 47p. Tese (*Magister Scientiae* em Zootecnia)- Universidade Federal de Viçosa-UFV.

5. ARTIGO

O artigo intitulado **Avaliação de parâmetros biométricos, histopatológicos e hematológicos em frangos de corte alimentados com dietas contendo adsorventes e micotoxinas** foi escrito de acordo com as normas da revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, na qual foi submetido. As normas encontram-se disponíveis no endereço eletrônico **<http://www.scielo.br/revistas/abmvz/iinstruc.htm>**.

1 **Efeitos do uso de adsorventes em frangos de corte alimentados com dietas naturalmente**
2 **contaminados com aflatoxina e fumonisina**

3
4 V. H.V. Calado^I; F. C. L. Maia^{II}, L.C.A. Rodrigues^{III}; V. A. Silva Junior^{IV}

5 ^I Pós-graduação em Ciência Animal Tropical-UFRPE, Recife-PE-Bolsita da CAPES

6 ^{II,IV} Professor Associado IV da UFRPE, Recife-PE

7 ^{III} Graduanda em Medicina Veterinária UFRPE, Recife-PE

8
9 **RESUMO**

10
11 Para avaliar os efeitos do uso de adsorventes de micotoxinas, em dietas de frangos de corte
12 naturalmente contaminadas com aflatoxinas e fumonisinas sobre os parâmetros biométricos,
13 sorológicos e histopatológicos, foram utilizadas 60 aves, com sete dias de idade, da linhagem
14 comercial Cobb distribuídas em três tratamentos: T1 – Controle (sem inclusão de adsorventes
15 de micotoxinas na dieta); T2 – inclusão de 0,5 kg/t do adsorvente A (composto por
16 aluminossilicato de sódio e cálcio modificado industrialmente) e T3- inclusão de 1,5 kg/t do
17 adsorvente B (composto por aluminossilicato de sódio e cálcio). As aves foram criadas até 60
18 dias de idade, quando foi realizada sorologia para NDV(vírus da doença de Newcastle) e
19 IBDV(vírus da doença infecciosa bursal) e efetuada eutanásia, para posteriores análises
20 histopatológicas e biométricas. Observou-se maior peso final para as aves que receberam o
21 adsorvente A ($4,26 \pm 0,37$ kg, $P < 0,05$), mostrando a correlação positiva do uso de adsorvente
22 sobre o ganho de peso. Alternativamente o peso médio da tonsila cecal apresentou diferença
23 significativa entre os tratamentos T1 e T2 ($P < 0,05$). A titulação de imunoglobulinas para
24 IBDV revelou concentração maior no T2 ($P = 0,041$) levando a melhores resultados
25 sorológicos para IBD (doença infecciosa bursal-gumboro) no grupo tratado com o adsorvente
26 A. A intoxicação das aves com aflatoxinas e fumonisinas provocou lesões microscópicas
27 como diminuição linfocitária, congestão, alterações nas estruturas celulares e fibrose nos
28 órgãos linfóides (bolsa cloacal, baço, timo e tonsilas cecais), fígado e rins. Contudo as adições
29 dos adsorventes minimizaram o desenvolvimento de lesões, principalmente no fígado, bursa e
30 timo.

31
32 **PALAVRAS-CHAVE:** imunopatologia avícola, lesões hepáticas, sistema imune, aflatoxinas,
33 fumonisinas.

34 **Effects of the use of adsorbents in broiler chickens fed diets naturally contaminated with**
35 **aflatoxin and fumonisin**

36

37 **ABSTRACT**

38

39 To evaluate the effects of adding mycotoxin adsorbents in broiler diets naturally contaminated
40 with aflatoxin and fumonisin, on the parameters: histopathology, biometric and serological
41 were used 120 birds, seven-day-old Cobb commercial line in three treatments: T1 - control
42 (not including mycotoxin adsorbents in diet); T2 - adding 0.5 kg / t The adsorbent and T3
43 inclusion of 1.5 kg / ton of adsorbent B. These broilers were raised up to 60 days old when
44 was made serology tests for NDV and IBDV, and after were sacrificed for histopathologic and
45 biometric analysis. There were significant differences between treatments ($P < 0.05$) in body
46 weight. The body weight was significantly different between T1 and T2 ($P = 0.01400$), with a
47 higher weight of the broilers receiving the adsorbent (4.26 ± 0.37). There were significant
48 differences between treatments ($P < 0.05$) in body weight, with a higher final weight for birds
49 receiving the adsorbent (4.26 ± 0.37). Only the average weight of the cecal tonsil was
50 significant difference between T1 and T2 ($P < 0.05$). The amounts of immunoglobulins to
51 IBDV showed higher concentrations of T2 ($P = 0.041$). This contamination of the poultry
52 with aflatoxins and fumonisins caused histopathological lesions in immune organs, liver and
53 kidneys. However the used adsorbents A and B reversed in parts lesions, mainly in the liver,
54 bursa and thymus, leading to better serological tests for IBD (infectious bursal disease-
55 Gumboro) in the group treated with the adsorbent A.

56

57 **KEYWORDS:** immune poultry pathology, hepatic lesions, lymphocytes, immune system,
58 fungal toxins

59

60

61

62

63

64

65

66

67

68 INTRODUÇÃO

69

70 Um dos problemas que afetam a qualidade dos ingredientes das rações na produção
71 avícola é a presença de micotoxinas (toxinas produzidas por fungos) nos ingredientes,
72 notadamente milho e farelo de soja, que perfazem 70% do volume total da ração para aves.
73 Estima-se que 25% da produção mundial de grãos contém algum tipo de micotoxina
74 (Santurio, 2000).

75 Micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos e biologicamente diversos,
76 produzidos por vários fungos, particularmente por espécies de *Aspergillus* e *Fusarium* e
77 *Penicilium* (Jouany e Diaz, 2005). A grande preocupação com as micotoxinas, na avicultura
78 bem como na maioria dos sistemas de criação de animais de produção, refere-se às
79 enfermidades denominadas de micotoxicoses (Rosmaninho *et al.*, 2001), que em aves causam
80 graves problemas tanto pelo crescimento reduzido da ave como pela imunossupressão que as
81 deixa mais suscetíveis a agentes infecciosos e aumenta as chances de falhas nas respostas
82 vacinais (Okoye e Uzoukwu, 1990; Sharma *et al.* (2000). Além disso, as toxinas em aves são
83 responsáveis por altas taxas de mortalidade e pela redução da conversão alimentar (Santin *et*
84 *al.*, 2003). Na avicultura brasileira, as micotoxinas de maior importância são as aflatoxinas e
85 fumonisinas (Santurio, 2000; Mallmann, 2006).

86 Os adsorventes de micotoxinas constituem uma alternativa valiosa, mas paliativa, para
87 minimizar os efeitos provocados pelas toxinas, pois agem na detoxificação (Gimeno e
88 Martins, 2011). Existem vários tipos de adsorventes de micotoxinas que agem sobre
89 determinados tipos de micotoxinas e com recomendações de inclusão bastante variadas. Isso
90 levanta dois questionamentos sobre quais são os melhores adsorventes e a quantidade que
91 deve ser incluída nas rações das aves. Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho
92 avaliar os efeitos da adição de adsorventes de micotoxinas, em dietas de frangos de corte
93 contaminadas naturalmente com aflatoxinas e fumonisinas, sobre os parâmetros: ganho de
94 peso, biométricos, sorológicos e histopatológicos, visando identificar se as recomendações
95 dos fabricantes de adsorventes atendem as necessidades de campo.

96

97 MATERIAL E MÉTODOS

98

99 O experimento foi realizado em uma granja comercial de frangos de corte localizada
100 no sítio taquara, zona rural da cidade de Caruaru, região agreste de Pernambuco, no período
101 de julho a agosto de 2015, com valores médios de temperatura máxima e mínima e umidade

102 relativa, registrados dentro do galpão, de $23,2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,5$ e $32,6^{\circ}\text{C} \pm 1,8$ e $70,6\% \pm 2,8\%$,
103 respectivamente.

104 Foram utilizadas 60 aves, machos e fêmeas, de um dia de vida, da linhagem comercial
105 Cobb vacinados contra as doenças de Marek e Gumboro (cepa recombinante), bronquite
106 infecciosa e Newcastle. Sete dias após o alojamento das aves foi realizada a pesagem das
107 mesmas para formação dos grupos experimentais, cuja média de peso inicial foi de $68,64\text{g} \pm$
108 $2,98$. As 60 aves foram distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado,
109 com três tratamentos com 20 repetições cada, sendo cada ave considerada uma repetição. Os
110 tratamentos consistiam em: T1 – Controle (sem inclusão de adsorventes de micotoxinas na
111 dieta); T2 – inclusão de 0,5 kg/t do adsorvente A (composto por aluminossilicato de sódio e
112 cálcio modificado industrialmente) e T3- inclusão de 1,5 kg/t do adsorvente B (composto por
113 aluminossilicato de sódio e cálcio). Os níveis de inclusão de adsorventes de micotoxinas
114 comerciais na dieta seguiram as recomendações do fabricante. O adsorvente A atua sobre as
115 aflatoxinas e fumonisinas e o adsorvente B age sobre as aflatoxinas. Essas aves foram criadas
116 até 60 dias de idade, efetuando-se pesagens individuais para o total de aves de cada grupo a
117 cada semana (14, 21, 28, 35, 42, 49 e 60 dias), para acompanhamento de evolução de peso em
118 cada tratamento.

119 Durante o experimento, os três grupos receberam rações isonutritivas à base de milho,
120 farelo de soja e fontes vitamínica e mineral, atendendo às exigências nutricionais requeridas
121 para a linhagem e ambiente local e de acordo com fases de criação (pré-inicial, inicial,
122 crescimento e terminação) conforme Tabela 1.

123 Os consumos de água e ração foram *ad libitum*, e o programa de luz foi de 24 horas de
124 luz natural e artificial até os 14 dias de idade das aves, depois deste período foi fornecida luz
125 natural até o abate. Amostras do milho utilizado nas rações, em cada fase de criação (inicial,
126 crescimento e terminação), foram coletadas e enviadas ao laboratório particular LADA
127 (Laboratório de Diagnóstico Animal-Recife PE) para identificação e quantificação de
128 micotoxinas (aflatoxinas e fumonisinas), onde foram utilizados os testes qualitativos e
129 quantitativos de ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assays*) com *kit-Agraquant*.

130 Aos 60 dias, para determinação de imunoglobulinas foram coletados sangue através da
131 veia braquial com seringa descartável um volume mínimo de 2 mL por ave. O sangue, após
132 coagulação natural, foi dessorado e este recolhido e acondicionado em tubos *Eppendorf*,
133 congelados a temperatura de 0 grau e encaminhados ao laboratório onde foram analisados
134 quanto às imunoglobulinas específicas para doença de Newcastle (NDV) e doença infecciosa

135 Tabela 1. Composição nutricional das rações experimentais por fase de criação.

Macroingredientes (kg)	Rações			
	Pré-inicial	Inicial	Crescimento	Final
Milho	254,1	270	287,2	305,5
Farelo de soja	150,2	112	61,8	33,5
Soja integral	80,7	103	136	146
Núcleo inicial	15	15	-	-
Núcleo crescimento	-	-	15	-
Núcleo final	-	-	-	15
Composição nutricional em matéria natural				
EM kcal/kg	3039,509	3130,241	3250,133	3312,263
PB %	23,6	21,998	20,096	18,501
Gordura bruta %	5,751	5,683	7,035	7,5
FB %	4,057	3,883	3,688	3,504
Cinzas %	5,665	5,449	5,249	5,232
Cálcio total %	0,836	0,827	0,857	0,881
Fósforo total %	0,549	0,532	0,478	0,41
Sódio %	0,186	0,185	0,18	0,167

136

137 bursal (IBD) com utilização do kit da *Idexx Laboratorie*, realizadas no laboratório particular
 138 LADA (Laboratório de Diagnostico Animal-Recife PE).

139 As aves foram submetidas a jejum alimentar de 8 horas e em seguida efetuada
 140 eutanásia pelo método de desarticulação atlanto-occipital(seguindo-se a resolução 1000 do
 141 CFMV). Efetuou-se a necropsia com a abertura da cavidade para observação *in situ*, coleta e
 142 pesagem de órgãos do sistema imune (bolsa cloacal, tonsilas cecais, baço e timo) assim como
 143 o fígado e os rins das 20 aves de cada grupo. O peso relativo dos órgãos em relação ao peso
 144 da ave foi obtido pela fórmula: [(peso do órgão/peso vivo da ave) x 100] (Oliveira *et al.*
 145 2004).

146 Para o diagnóstico histopatológico, fragmentos de cada tecido (timo, baço, fígado, rim,
 147 tonsilas cecais e bolsa cloacal) foram fixados em formol tamponado a 10%, desidratadas,
 148 diafanizadas, incluídas em parafina e cortadas em micrótomos rotativos com espessura de 4µm
 149 para confecção de lâminas para leitura dos fragmentos. Em seguida, essas foram coradas com
 150 hematoxilina-eosina (H/E) e lidas em microscópio óptico, Olympus BX-51 com sistema de
 151 captura de imagens através do programa J. Na leitura das lâminas foram avaliados parâmetros

152 relacionados à degradação geral do órgão assim como células que estão relacionadas com a
153 imunidade e obtidas fotomicrografia por programa de captura de imagem. Estes parâmetros
154 foram classificados entre 0 a 3 de acordo com a intensidade da lesão. Os trabalhos e análises
155 histopatológicos foram realizados no Laboratório de Patologia Animal do Departamento de
156 Medicina Veterinária (DMV), Campus da UFRPE, Recife/PE.

157 Os dados obtidos de desempenho zootécnico (ganho de peso semanal e peso ao abate)
158 e peso de órgãos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com nível de
159 significância de 5% de probabilidade, e quando os resultados foram significativos, procedeu-
160 se o teste de Tukey para comparação das médias. Essas análises estatísticas foram realizadas
161 com o programa estatístico R (2011). As demais análises foram analisados com estatísticas de
162 coluna usando GraphPad Prism versão 5.0 (software GraphPad, San Diego, CA, EUA) e os
163 valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos pelo teste de Tukey.

164

165 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

166

167 Como apresentado na Tabela 2, o milho utilizado na formulação das rações
168 experimentais estava naturalmente contaminado com aflatoxinas e fumonisinas. Observou-se
169 maior contaminação por fumonisinas, uma vez que esta se encontra em maior concentração
170 nos grãos de milho (Mallmann *et al.*, 2014). As aflatoxinas que causam efeitos deletérios nas
171 aves apresentaram alta concentração (0,034 a 0,214 ppm). Para as duas micotoxinas
172 identificadas no milho a concentração foi muito superior aos limites estipulados pelo LAMIC
173 (2010), principalmente no milho utilizado nas rações de crescimento e terminação (Tabela 2).

174 Estudos avaliando efeitos de contaminações por aflatoxinas e fumonisinas vêm sendo
175 feitos (Oliveira *et al.*, 2004; Rossi *et al.*, 2013), porém com concentrações padronizadas para
176 estas, bem inferiores aos encontrados neste trabalho. As concentrações comumente sugeridas
177 são entre 1 e 3 ppm para aflatoxinas e 25 a 100 ppm para fumonisinas (Oliveira *et al.*, 2004;
178 Rossi *et al.*, 2013).

179 Os parâmetros biométricos, como o peso médio e peso relativo dos órgãos encontram-
180 se na Tab. 3. Nela verifica-se que houve diferenças significativas entre os tratamentos
181 ($P < 0,05$) para o peso vivo aos 14, 21 e 56 dias. Comparando-se as médias dos pesos das aves
182 aos 14 e 21 dias de idade nos tratamentos 2 ($509,260\text{g} \pm 39,720$ e $1.235\text{g} \pm 394,819$) e 3
183 ($526,800\text{g} \pm 62,806$ e $1.135\text{g} \pm 240,426$) verificou-se que não houve efeito do tipo de
184 adsorvente utilizado, porém comparando-as com o T1 ($475,260\text{g} \pm 58,484$ e $964,800\text{g}$
185 $\pm 146,248$), onde as aves foram alimentadas com dietas contaminadas com aflatoxinas e

186 Tabela 2. Quantidades de aflatoxinas e fumonisinas (expressas em ppm) presentes no milho
 187 utilizado nas rações experimentais e os padrões do Lamic, 2010, de acordo com as fases de
 188 criação (inicial, crescimento e terminação).

Fases de criação	Experimento	LAMIC
Inicial		
Aflatoxina	0,034	0
Fumonisinias	18,250	0,100
Crescimento		
Aflatoxina	0,214	0,002
Fumonisinias	44,160	0,500
Terminação		
Aflatoxina	0,204	0,005
Fumonisinias	23,130	0,500

189

190

191 Tabela 3. Valores médios e desvios padrões para os parâmetros peso vivo semanal (14, 21 e
 192 56 dias) e peso médio e peso relativo dos órgãos em cada tratamento.

Parâmetros	Tratamentos			%C.V.
	T1	T2	T3	
Peso vivo aos 60 dias (kg)	3,90 ± 0,35b	4,26 ± 0,37a	4,17 ± 0,42ab	9,37
Peso vivo aos 21 dias (g)	964,87 ± 146,25c	1234,91 ± 852,77a	1135,07 ± 240,42ab	35,13
Peso vivo aos 14 dias (g)	475,27 ± 58,48c	509,26 ± 141,42ab	526,80 ± 62,80a	17,33
Bolsa cloacal (g)	5,55 ± 1,96	4,35 ± 1,70	4,95 ± 1,70	35,82
Baço (g)	4,05 ± 1,19	4,35 ± 1,60	3,90 ± 1,21	32,16
Fígado (g)	93,70 ± 16,52	85,80 ± 16,79	97,85 ± 10,22	15,69
Rim (g)	23,60 ± 4,03	22,90 ± 4,05	23,30 ± 3,03	15,76
Timo (g)	7,85 ± 2,66	8,70 ± 3,00	9,20 ± 2,50	31,55
Tonsila cecal (g)	5,20 ± 1,24a	4,05 ± 1,21b	4,70 ± 0,98ab	24,37
Bolsa cloacal/Peso ave (%)	0,15 ± 0,01a	0,10 ± 0,00b	0,12 ± 0,00ab	63,21
Baço/Peso ave (%)	0,11 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,10 ± 0,00	45,06
Fígado/Peso ave (%)	2,44 ± 0,00a	2,04 ± 0,00b	2,37 ± 0,00ab	15,27
Rim/Peso ave (%)	0,61 ± 0,00	0,55 ± 0,00	0,57 ± 0,00	31,37
Timo/Peso ave (%)	0,20 ± 0,00	0,20 ± 0,00	0,22 ± 0,00	22,22
Tonsila/Peso ave (%)	0,14 ± 0,00a	0,10 ± 0,00b	0,11 ± 0,00ab	24,71

193 % C.V.=coeficiente de variação para cada parâmetro avaliado.

194 Números seguidos de letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

195

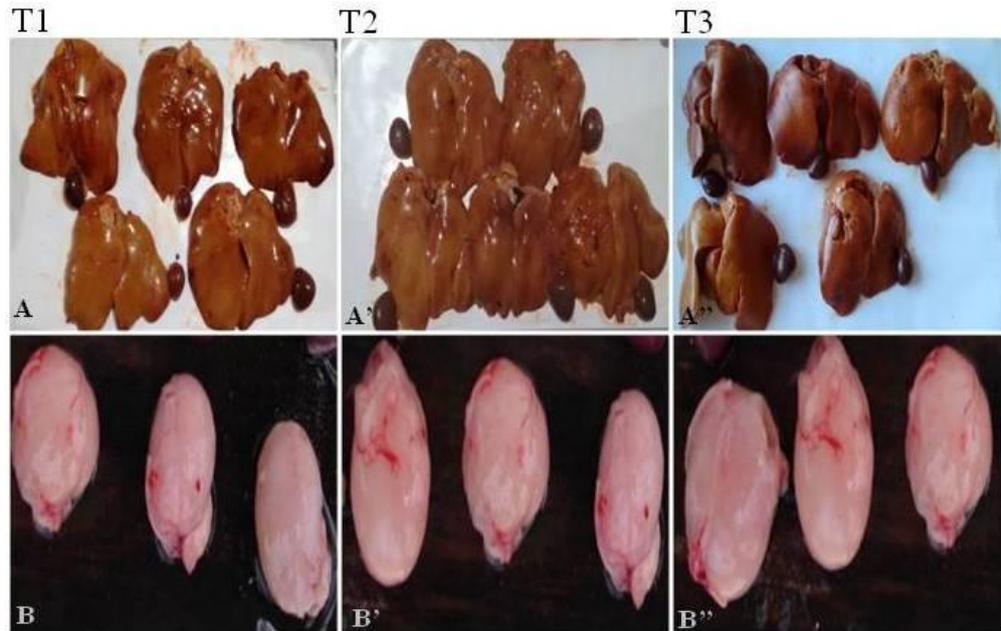
196 fumonisinas sem a adição de adsorventes, quando encontrou se piora no peso médio inferior
197 aos tratados e as diferenças observadas foram estaticamente significativas ($P = 0,001485$ entre
198 T2 e T1; $P = 0,00001$ entre T3 e T1).

199 AOs 60 dias, o peso vivo foi significativamente diferente entre os tratamentos T1 e T2
200 ($P = 0,01400$), observando-se uma melhora no peso final das aves que receberam o adsorvente
201 A ($4,26\text{kg} \pm 0,37$). Entre os órgãos analisados, apenas o peso da tonsila cecal encontrou-se
202 diferença significativa entre os tratamentos T1 e T2 ($P < 0,05$; $P = 0,03008$), sendo que em T1
203 ($5,20\text{g} \pm 1,239$) o peso médio foi discretamente superior ao peso médio do T2 ($4,05\text{g} \pm$
204 $1,208$), sem que, no entanto revele-se diferença estatística significativa.

205 Houve diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) para o peso relativo dos
206 órgãos bolsa cloacal, fígado e tonsilas cecais. Os pesos médios e pesos relativos para o fígado
207 foram de $93,70\text{g} \pm 16,52\text{g}$, $85,80\text{g} \pm 16,791$, $97,85\text{g} \pm 10,225$ e $2,44\% \pm 0,00$, $2,04\% \pm 0,00$,
208 $2,37\% \pm 0,00$ para os tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente. As aves contaminadas com
209 micotoxinas e sem adição de adsorvente na ração (T1) apresentaram peso relativo de fígado
210 maior ($2,44\% \pm 0,00$; $P = 0,0336$) em relação ao das aves tratadas (T2) com o adsorvente A que
211 age sobre as aflatoxinas e fumonisinas ($2,04\% \pm 0,00$). Estes índices refletem o que Siloto
212 (2010) descreve para lesões hepáticas em galinhas poedeiras onde o peso relativo do fígado é
213 menor em aves que não receberam micotoxinas, enquanto as que receberam aflatoxinas e
214 fumonisinas isoladas ou combinadas o fígado apresentou valores relativos acima de 2%.
215 Rossi *et al.* (2013) encontrou valores relativos do fígado (3,13%) maiores em aves
216 alimentadas com ração contaminada por micotoxinas e sem aditivos adsorventes.

217 Ao exame macroscópico do fígado foi verificada coloração vermelho amarelada em
218 todos os tratamentos, com maior intensidade no grupo controle, como mostra a Figs. 1A, A',
219 A''. É importante lembrar que a cor castanho-escuro é a esperada para um fígado proveniente
220 de um animal hígido (sadio). Segundo Micco *et al.* (1987), podem não ser detectadas
221 alterações macroscópicas que indiquem intoxicação, mesmo sendo encontrado aflatoxinas nos
222 tecidos. Possivelmente, devido a seleção natural das aves para uma maior resistência à
223 aflatoxinas como reportado por Wyat *et al.* (1987).

224 A bolsa cloacal, órgão que funciona como um local de maturação e de diferenciação
225 para as células do sistema formador de anticorpos (Tizard, 1998), não se observou quaisquer
226 alterações macroscópicas Figs. 1B, B', B''. A abertura da bolsa cloacal, os folíolos
227 apresentaram-se hígidos e de consistência macia, em todos os tratamentos. As tonsilas cecais
228 tinham características normais em todos os tratamentos. Na superfície serosa não foram
229 evidenciadas alterações macroscópicas. Esse foi o único órgão cujo peso médio revelou



230

231 Figura 1. Imagens de fígados e baços (A,A',B'') e bursas (B,B',B'') de frangos de corte.
 232 Grupo controle (A,B), Grupo Tratado com adsorvente A (A',B'), Grupo Tratado com
 233 adsorvente B (A'',B''). Notar tonalidade levemente mais amarelada nos fígados do grupo
 234 controle (A).

235

236 diferença estatística significativa ($P < 0,05$). Os pesos médios, em gramas, foram os seguintes:
 237 $5,20 \pm 1,24$; $4,05 \pm 1,21$ e $4,70 \pm 0,98$ gramas para os tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente. A
 238 diferença estatística significativa foi notada entre as médias do T1 e T2 ($P = 0,0301$). Nesses
 239 tratamentos, houve diferenças significativas ($P = 0,0048$) para o peso relativo das tonsilas
 240 cecais, como demonstrado na Tab. 3.

241

O baço é o único órgão linfoide secundário encapsulado encontrado em aves, que gera
 242 resposta imune a antígenos presentes na corrente circulatória (Ciriaco *et al.*, 2003), não sofreu
 243 alterações visíveis. A aparência foi ovoide e tamanho condizente com a idade das aves e, em
 244 todos os tratamentos, verificou-se uma coloração vermelho escura como visto na Figs. 1A,
 245 A', A''. Os pesos relativos mostraram razões que variaram de $0,10\% \pm 0,00$ para o T3 a $0,11\%$
 246 $\pm 0,00$ para os T1 e T2 com resultados similares aos encontrados por Rossi *et al.* (2013)
 247 quando os animais tratados com adsorventes e contaminados com micotoxinas tiveram um
 248 índice de $0,10\%$.

249

O timo, em todos os tratamentos, possuía coloração externa variando de bege à
 250 castanho clara (variação individual). Nos rins não foram observadas alterações. Os respectivos
 251 pesos médios variaram de $22,90g \pm 4,05$ a $23,60g \pm 4,03$, não revelando diferença
 252 significativa, se assemelhando aos resultados de Ledoux *et al.* (1992) em seu trabalho de
 253 intoxicação de frangos com fumoninsina B1.

254 Na Tabela 4, estão os resultados da descrição e comparação histopatológica dos órgãos
255 analisados por tratamento, e na Fig.2 alguns resultados das análises microscópicas. Para o
256 fígado, os graus similares de congestão entre as médias dos grupos avaliados não diferiram
257 estatisticamente entre os tratamentos. O parâmetro lipidose mostrou-se presente e de forma
258 superior no T1 ($2,30 \pm 0,80$) quando comparado com T2 ($1,38 \pm 0,76$) e foi estatisticamente
259 significativo ($P=0,005$), como mostra as Figs. 2B, B',B''. Fibrose foi significativamente
260 diferente no T2 ($1,43 \pm 0,96$, $P=0,000$), quando comparado ao T1($0,35 \pm 0,49$) e ao T3 ($0,15 \pm$
261 $0,38$).

262 A presença de hepatócitos íntegros foi observada em todos os grupos avaliados, sem
263 diferença estatística significativa entre eles ($P>0,05$). Organização dos hepatócitos em forma
264 de ácinos foi notada, em maior quantidade, no T1 ($1,80 \pm 0,69$) seguido do T3 ($1,25 \pm 0,85$)
265 ambos diferiram do T2 ($0,57 \pm 0,68$, $P<0,000$). Presença de células inflamatórias foi
266 observada nos três grupos avaliados, que apresentaram diferenças estatísticas significativas
267 entre elas ($P<0,000$), porém de forma mais intensa T1 ($2,40 \pm 0,75$) onde tais células tinham
268 predominância ao redor de vasos, enquanto nas aves do T2 a presença de tais células foi
269 menor ($1,00 \pm 0,51$) e mais localizadas no parênquima hepático.

270 Na bolsa cloacal foram observados como parâmetros diferenciais entre os grupos
271 avaliados, tais como cistos epiteliais, tecido conjuntivo e muscular liso, proliferando,
272 invadindo e substituindo o espaço dos folículos linfocitários. Verificou-se ainda quantidade e
273 distribuição linfocitária, além de congestão intersticial conforme mostram as Figs. 2F,F',F''.
274 Estes parâmetros avaliados nos três grupos mostraram diferença significativa de cistos
275 epiteliais no T1 ($1,60 \pm 1,19$) assim como uma maior substituição de tecido linfoide por tecido
276 conjuntivo e muscular liso, refletindo, dessa forma, uma atrofia precoce do tecido linfoide
277 corroborando com as afirmações de Pope (1996), que retrata o estágio final da involução da
278 bolsa iniciando-se com um ano de idade, caracterizado por fibrose, presença de músculo liso,
279 vasos sanguíneos, raros folículos e centro germinativo. No presente estudo, verificou-se
280 redução de linfócitos no T1 ($2,80 \pm 0,41$), quando comparado aos demais tratamentos com
281 adsorventes diferiu de forma significativa ($P<0,000$), corroborando com Giacomini (2006)
282 que encontrou diversas áreas linfoides com depleção nas aves contaminadas com micotoxinas.

283 A presença consistente de linfócitos na bolsa cloacal é condição fundamental para
284 imunidade das aves, já que este tecido é constituído por cerca de 90% destas células,
285 funcionando como um local de maturação e de diferenciação para as células do sistema
286

287 Tabela 4. Resultados da descrição e comparação histopatológica dos órgãos analisados por
 288 tratamento.

Órgãos	Características*	Tratamentos		
		T1	T2	T3
Timo	Densidade de linfócitos	0,90 ± 0,24c	1,60 ± 0,74ab	1,88 ± 0,59a
	Congestão	1,55 ± 0,77b	1,55 ± 1,18ab	1,03 ± 0,97c
Fígado	Congestão	1,90 ± 0,78a	1,10 ± 0,74c	1,30 ± 0,51ab
	Lipidose	2,30 ± 0,80a	1,38 ± 0,76b	1,65 ± 0,79ab
	Fibrose	0,35 ± 0,49bc	1,43 ± 0,96a	0,15 ± 0,38c
	Hepatócitos íntegros	1,75 ± 0,44	1,86 ± 0,69	1,70 ± 0,58
	Ácinos hepáticos	1,80 ± 0,69ab	0,57 ± 0,68c	1,25 ± 0,85b
	Células Inflamatórias	2,40 ± 0,75a	1,00 ± 0,51c	1,60 ± 0,55b
Bolsa cloacal	Cistos	1,60 ± 1,19a	0,71 ± 0,78b	0,90 ± 1,14ab
	Tecido conjuntivo	1,00 ± 0,75a	0,48 ± 0,42ab	0,20 ± 1,12b
	População linfócitos	2,80 ± 0,41a	1,43 ± 0,60bc	2,25 ± 0,51b
	Congestão	0,75 ± 0,44b	1,05 ± 0,34a	0,90 ± 0,21ab
Tonsilas cecais	Densidade de linfócitos	1,05 ± 0,31c	1,64 ± 0,62ab	1,95 ± 0,55a
	Glândulas intestinais	0,90 ± 0,00c	1,05 ± 0,70ab	1,40 ± 0,50a
	Altura epitélio	1,05 ± 0,31c	1,14 ± 0,56bc	1,80 ± 0,81a
	Cobertura epitelial	1,00 ± 0,41b	1,19 ± 1,00ab	1,60 ± 0,67a
Baço	Atrofia da polpa branca	2,40 ± 0,42a	2,33 ± 0,50ab	1,25 ± 0,70c
	Congestão	2,45 ± 0,51a	1,95 ± 0,84ab	1,43 ± 0,49b
Rim	Nefrite	0,60 ± 0,94	0,05 ± NA	0,38 ± 0,42
	Nefrose	2,10 ± 0,62a	2,05 ± 0,53ab	1,65 ± 0,59c
	Congestão	2,15 ± 0,52a	1,64 ± 0,94b	2,00 ± 0,82ab
	Vasos degenerados	0,80 ± 0,52	0,10 ± NA	0,15 ± 0,71
	Glomerulonefrite	0,50 ± 0,71	1,43 ± 0,42	0,83 ± 0,38
	Atrofia glomerular	2,25 ± 0,40a	1,74 ± 0,11b	2,15 ± 0,44c

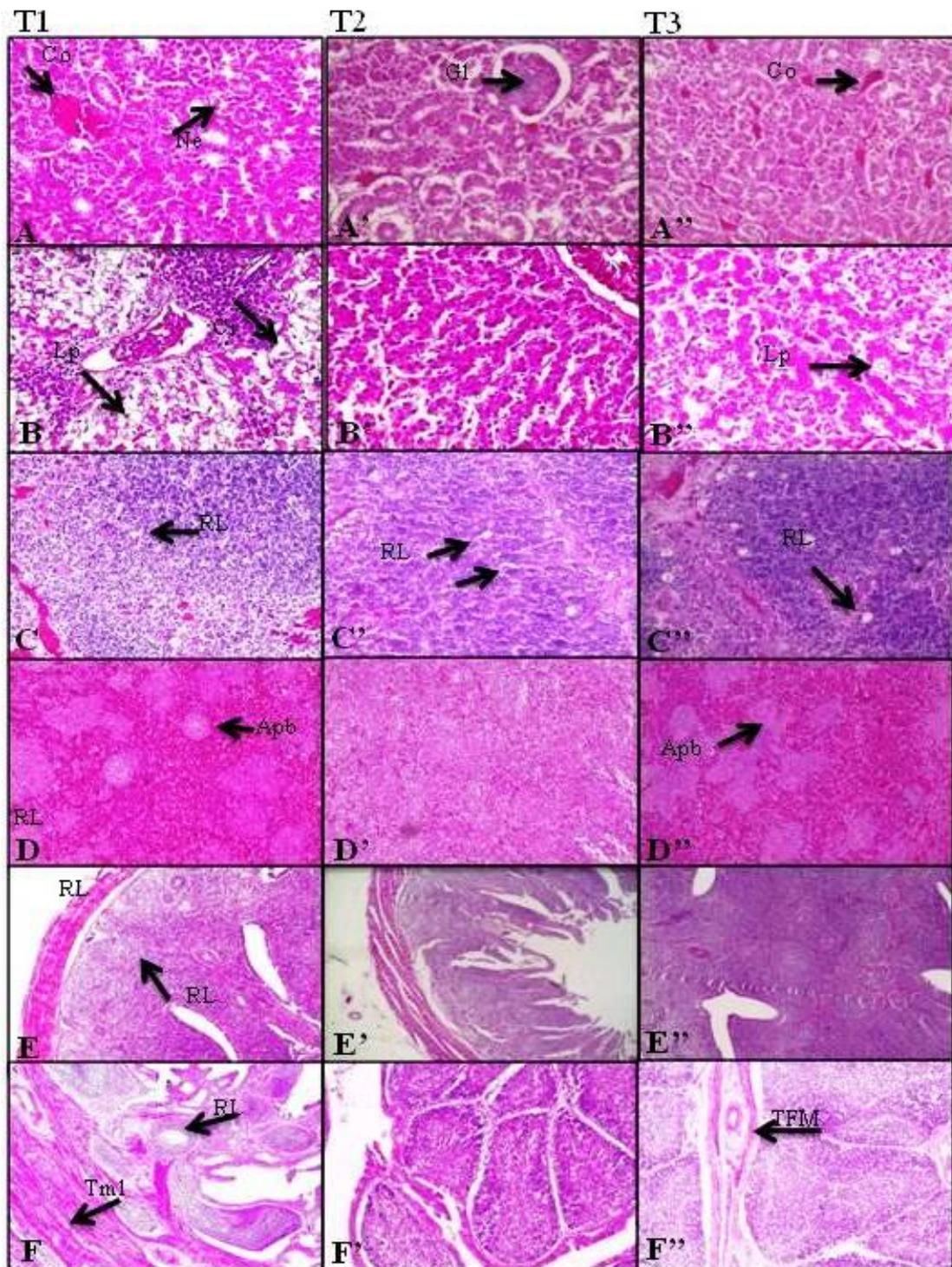
289 *escore de classificação para as características foi de 0 a 3

290 Números seguidos de letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

291

292 formador de anticorpos (Tizard, 1998). Dessa forma, observa-se que a adição de adsorventes
 293 gerou um efeito positivo na imunidade das aves frente às micotoxinas.

294



295

296

297

298

299

300

301

302

303

304

Figura 2. Fotomicrografia de órgãos de frangos de corte aos 56 dias para os três tratamentos (T1, T2, T3), corados com hematoxilina e eosina. Foram observadas lesões renais, com presença de nefrite (Ne), glomerulonefrite (Gl) e congestão (Co). Lipidose (Lp) em diversos graus de intensidade à ausente (B'). Notar presença intensa de células inflamatórias (Ci). Os timos mostram áreas claras com rarefação linfocitária (RL). Nos baços foram observadas áreas com rarefação linfocitária (RL) de forma mais evidente (D) e atrofia da polpa branca (Apb). Notaram-se a invasão de tecido muscular e fibroso (TFM) no interstício celular. Observou-se também tecido muscular liso (Tml) invadindo a área linfocitária.

305 Todas as aves apresentaram congestão no timo com diferenças estatísticas
306 significativas entre os tratamentos T1 e T3 e T2 e T3 ($P=0,002$). O parâmetro congestão se
307 mostrou de forma difusa e mais evidente nos tratamentos 1 ($1,55 \pm 0,77$) e 2 ($1,55 \pm 1,18$). A
308 população linfocitária foi de $0,90 \pm 0,24$ no grupo controle T1 sem adição de adsorventes,
309 enquanto nos grupos tratados com adsorventes a população foi acima de 1,6 ($P<0,000$). As
310 Figs. 2C,C',C'' demonstram a distribuição da população linfocitária.

311 Na observação microscópica do baço os parâmetros congestão e redução/atrofia da
312 polpa branca, ambos tinham diferenças estatísticas significativas ($P<0,05$) entre os
313 tratamentos. Todos os grupos apresentaram atrofia de folículos linfoides (polpa branca),
314 principalmente no T1 ($2,40 \pm 0,42$), e foi menos presente no T3 ($1,25 \pm 0,70$), sendo este
315 último diferente dos demais tratamentos ($P<0,000$) de acordo com o observado nas Fig. 2D,
316 D',D''. Quanto à presença de congestão, os resultados foram similares, no T1 foi mais
317 frequente ($2,45 \pm 0,51$) e menos frequente no T3 ($1,43 \pm 0,49$), apresentando diferenças
318 estatísticas significativas entre eles ($P<0,000$).

319 Na observação das tonsilas cecais, os linfócitos estavam em maior quantidade nas aves
320 dos tratamentos 2 ($1,95 \pm 0,55$) e 3 ($1,64 \pm 0,62$) diferindo estatisticamente do grupo T1
321 ($P<0,05$). Nas Figs. 2E, E',E'' pode ser notada essa variação na distribuição de linfócitos das
322 tonsilas cecais. Além disso, o T3 que recebeu adsorvente para aflatoxinas e fumonisinas
323 observou-se a presença de mais glândulas ($1,40 \pm 0,50$) e maior intensidade da altura ($1,80 \pm$
324 $0,81$) e cobertura ($1,60 \pm 0,67$) de epitélio diferindo significativamente dos T1 e T2 ($P<0,05$).

325 Nos rins foram encontrados: nefrite, nefrose, glomerulonefrite e atrofia glomerular.
326 Porém, foram verificadas diferenças estatísticas significativas apenas para presença de nefrose
327 ($P<0,000$), congestão ($P=0,016$) e atrofia glomerular ($P<0,000$), que estiveram presentes no
328 T1 (Tab. 4). Refletindo, assim, caráter nefrotóxico das micotoxinas, como relata Patterson
329 (1983). Congestão foi achado com frequência, principalmente, no grupo controle,
330 corroborando com Giacomini *et al.* (2006) que utilizando 3 ppm de aflatoxinas encontrou
331 congestão e hemorragias multifocais no órgão. Segundo Borsa *et al.* (2011), as aflatoxinas
332 causam lesão renal quando avaliados parâmetros bioquímicos sanguíneos como foi observado
333 neste estudo (Figs. 2A,A',A'').

334 Os resultados dos testes sorológicos para as doenças de Newcastle (NDV) e Gumboro
335 (IBD) encontram-se na Tab. 5. Embora as aves do presente estudo tenham sido submetidas à
336 intoxicação com micotoxinas (aflatoxinas e fumonisinas), as imunoglobulinas para NDV não
337 mostraram diferenças significativas entre os tratamentos ($P>0,05$). Alternativamente, as
338 imunoglobulinas para IBD tiveram concentrações significativamente maiores no T2

339 (P=0,041), que pode ser observado pela maior presença de linfócitos nos órgãos imunes
 340 (bolsa cloacal, timo e tonsilas cecais), como descrito anteriormente. Além disso, verificou-se
 341 menor variação de títulos entre os animais com coeficiente de variação de 48% e menor
 342 quantidade de animais negativos (n=5) quando comparados aos outros grupos (T1 e T3),
 343 resultando em animais mais responsivos a vacinação. Este fato pode ser atribuído a maior
 344 presença de linfócitos nos órgãos imunes, principalmente a bolsa cloacal como descrito
 345 anteriormente para o grupo T2 na Tab. 4. Em geral, um quadro de micotoxicose pode levar a
 346 diminuição de linfócitos com conseqüente redução da eficiência da produção de títulos da
 347 vacina de Gumboro, como reportado por Sharma *et al.* (2000).

348

349 Tabela 5. Resultados sorológicos (UI/mL) dos testes para NDV e IBD obtidos de frangos de
 350 corte intoxicados por micotoxinas (aflatoxina e fumonisinas) consumindo rações tratadas ou
 351 não com adsorventes.

Testes	Tratamentos		
	T1	T2	T3
NDV			
C.V.%	58	75	60
Mínimo	589	86	656
Máximo	7056	8497	6993
Média	2547	2897	2547
Negativos (%)	10	30	20
Positivos (%)	90	70	80
IBD			
C.V.%	85,60	48	69,30
Mínimo	1	48	76
Máximo	4421	4943	6780
Média	1522b	2679a	2343ab
Negativos	35	5	20
Positivos	65	95	80

352 Números seguidos de letras minúsculas diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

353

354

355

356

357 CONCLUSÕES

358

359 Os adsorventes de micotoxinas A (composto por aluminossilicato de sódio e cálcio
360 modificado industrialmente) e B (composto por aluminossilicato de sódio e cálcio) usados
361 neste estudo reverteram parcialmente as lesões, principalmente no fígado, bursa, e timo. Esta
362 reversão de lesões proporcionou melhor sorologia para IBD (doença infecciosa bursal-
363 gumboro) no grupo tratado com o adsorvente A, que pode ter resultado em aves com melhor
364 desempenho zootécnico, sugerindo que este adsorvente apresentou efeito positivo nas aves em
365 condições de campo.

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

392

393 BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; KUIBIDA, K. V.; TAKAHIRA, R. K. et al. Efeitos da
394 aflatoxicose subaguda experimental em interação com desafio vacinal e doença infecciosa
395 bursal subclínica sobre função renal de frangos de corte. *Ver. Cienc. Agrov.*, v.10, n.2, p.119-
396 126, 2011.

397

398 CIRIACO, E.; PÍNERA, P.; DIAZ-ESNAL, B.; LAURA, R. Age-Related Changes in the
399 Avian Primary Lymphoid Organs (Thymus and Bursa of Fabricius). *Mic. Res. Tech.*, v. 15, n.
400 62, p. 482-487, 2003.

401

402 GIACOMINI, L.; FICK, F. A.; DILKIN, P.; MALLMANN, C. A. et al. Desempenho e
403 plumagem de frangos de corte intoxicados por aflatoxinas. *Cienc. Rural.*, v. 36, n.1, p. 234-
404 239, jan-fev, 2006.

405

406 GIMENO, A.; MARTINS, M. L. *Mycotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos*. 3. ed.
407 Miami: Special Nutrients, 2011.129p. Disponível
408 em:<[http://www.specialnutrients.com/pdf/book/3%20edicion%20MICOTOXINAS%20LR%
409 20Secure.pdf](http://www.specialnutrients.com/pdf/book/3%20edicion%20MICOTOXINAS%20LR%20Secure.pdf)>. Acessado em: 20 fev.2016.

410

411 JOUANY, J. P.; DIAZ, D. E. Effects of mycotoxins in ruminants. In: DIAZ, D. E. *The Mycot.*
412 *Blue Book*. Nottingham: Nottingham University Press, p. 295- 321, 2005.

413

414 LABORATÓRIO DE ANÁLISES MICOTOXICOLÓGIAS-LAMIC. Recomendações do
415 LAMIC de limites máximos de micotoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$) em alimentos de algumas espécies de
416 animais domésticos (2010). Disponível em: <
417 http://www.lamic.ufsm.br/web/?q=legislacao_brasil>. Acessado em: 20 fev 2016.

418

419 LEDOUX, D. R.; BROWN, T. P.; WIBKING, T. S.; ROTTINGHAUS, G. E. Fumonisin
420 toxicity in broiler chicks. *Jour. Vet. Diag. Invest.*, v. 4, n. 3, p. 330-333, 1992.

421

422 MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; GIACOMINI, L. Z.; RAUBER, R. H. Critérios para
423 seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. In: Conferência Apinco de Ciência e
424 Tecnologia Avícola, 2006, Santos, SP. *Anais...* Santos, 2006.

425

426 MALLMANN, C. A. DILKIN, P.; MALLMANN, A. O. Panorama das micotoxinas. In: VI
427 Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal, 2014, Estância de São Pedro, SP. *Anais...*
428 Estância de São Pedro, 2014.

429

430 MICCO, C.; MIRAGLIA, M.; ONORI, R.; MANTOVANI, A.L. et al. Long-term
431 administration of low doses of mycotoxins to poultry. 1. Residues of aflatoxin B1 and its
432 metabolites in broilers and laying hens. *Food Addit. Cont.*, v.5, n.3, p. 303-308, 1988.

433

434 OKOYE, J.O.; UZOUKWU, M. Pathogenesis of infectious bursal disease in embryonally
435 bursectomised chickens. *Avian Pathol.*, n. 19, p.555-569, 1990.

436

437 OLIVEIRA, C.A.F.; BUTKERAITIS, P.; ROMANINHO, J.F.; GUERRA, J.L. et al.
438 Alteracoes hepáticas em codornas japonesas submetidas à intoxicação prolongada por
439 aflatoxinas B1. *Cienc. Rural*, v.34, n.1, p.213-217, 2004.

440

441 POPE, C. R. Lymphoid System. In: RIDDELL, C. *Avian Histopathology*. 2. ed. American
442 Association of Avian Pathology, 1996. Cap. 2, p. 17-44.

443

444 R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing.
445 R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL
446 <http://www.R-project.org/>.

447

448 ROSMANINHO, J. F.; OLIVEIRA, C. A. F.; BITTENCOURT, A. B. F. et al. Efeitos das
449 micotoxicoses crônicas na produção avícola. *Arq. Inst. Biol.*, v.68, n.2, p.107-114, jul./dez.,
450 2001.

451

452 ROSSI, P.; NUNES, J.K.; RUTZ, F.; REIS, J.S. et al. Glucomanano esterificado e selênio
453 orgânico em frangos alimentados com dietas com aflatoxinas. *Arch. Zootec.*, v. 62, n. 237, p.
454 33-43, 2013.

455

456 SANTIN, E.; PAULILLO, A. C.; KRABBE, E. L.; ALESSI, A. C. Low level of aflatoxin in
457 broiler at experimental conditions, use of cell wall yeast as adsorbent of aflatoxin. *Arch. Vet.*
458 *Sci.*, v. 8, n. 2, p. 51- 55, 2003.

459

460 SANTURIO, J. M. Micotoxinas e Micotoxicoses na Avicultura. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, v. 2,
461 n. 1, pp. 01-12, 2000.

462

463 SHARMA, J.M.; KIM, I.J.; RAUTENSCHLEIN, S.; YEH, H.Y. Infectious bursal disease
464 virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Dev. Comp. Immunol.*, n.24, p.223-
465 235, 2000.

466

467 SILOTO, E. V. *Desempenho, qualidade de ovos e metabolismo lipídico de poedeiras*
468 *comerciais alimentadas com dietas contendo aflatoxina, fumonisina e adsorvente*. 2010. 64f.
469 Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
470 Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, São Paulo. Disponível em:
471 <<http://hdl.handle.net/11449/96643>>. Acessado em: 10 fev 2016.

472

473 TIZARD, I. A. Os órgãos do sistema imune. In: TIZARD, I A. *Imunologia veterinária*. 5. ed.
474 São Paulo: Roca, 1998, 545 p. Cap. 8, p. 79-97.

475

476 WYATT, R.D.; MARKS, H.L.; MANNING, R.O. Selection for resistance to aflatoxin in
477 chickens. *Poul. Sci.*, n. 66, p.1901-1904, 1987.

6. CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que o milho adquirido e utilizado no experimento estava com alto índice de contaminação por aflatoxinas e fumonensinas, mesmo tratando-se de um milho “apto ao consumo animal, sendo adquirido de três granjas diferentes da região no mês de agosto de 2015. Esta contaminação repercutiu em lesões histopatológicas nos órgãos linfoides (bolsa cloacal, timo, baço e tonsilas cecais) assim como fígado e rins. Contudo os adsorventes usados A (composto por aluminossilicato de sódio e cálcio modificado industrialmente) e B (composto por aluminossilicato de sódio e cálcio) reverteram parcialmente as lesões, principalmente no fígado, bursa e timo. Esta reversão de lesões proporcionou melhor sorologia para IBD (doença infecciosa bursal-gumboro) no grupo tratado com o adsorvente A. Desta forma seria interessante para os produtores de aves comerciais utilizarem, com mais frequência, exames laboratórios como ferramentas de diagnóstico, detectando possíveis contaminações e escolhendo assim, o produto mais adequado ao problema.