

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO-UEMA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-CCA  
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**USO DE ADITIVOS ANTIMICOTOXINAS EM MATRIZES SUÍNAS  
ALIMENTADAS COM DIETAS NATURALMENTE CONTAMINADAS POR  
MICOTOXINAS**

Ana Paula Lima Pereira

São Luís-MA  
2010

Ana Paula Lima Pereira

**USO DE ADITIVOS ANTIMICOTOXINAS EM MATRIZES SUÍNAS  
ALIMENTADAS COM DIETAS NATURALMENTE CONTAMINADAS POR  
MICOTOXINAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Universidade Estadual do Maranhão- UEMA como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

**Área:** Sanidade Animal

**Orientadora:** Prof. Dr. Valene da Silva Amarante Júnior

São Luís-MA

2010

Pereira, Ana Paula Lima

Uso de aditivos antimicotoxinas em matrizes suínas alimentadas com dietas naturalmente contaminadas por micotoxinas / Ana Paula Lima Pereira. - São Luis, 2010.

81f.

Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2010.

Orientador: Prof. Valene da Silva Amarante Júnior

1.Suínos 2.Zearalenona 3.Fumonisinias 4.Adtivo antimicotoxinas

I.Titulo

CDU: 636.4:591.53

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ pela  
banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Prof. Dr. Carlos Augusto Mallmann

1º Membro

---

Prof. Dr. Daniel Praseres Chaves

2º Membro

---

Prof. Dr. Valene da Silva Amarante Júnior

Orientador

*À minha filha Ana Carolina, pela sua  
existência a qual me dá forças para  
prosseguir cada jornada.*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus;*

*Aos meus pais, Anacleto e Adalgisa, por terem me concebido a vida, me ensinando com amor os valores que ela tem e serem um exemplo a seguir;*

*Aos meus queridos irmãos, Adriana, Christiany, Maria, Ângela, Jair, Rosângela, Rudinalva, Analgisa, Carlos Alberto e Walquírio. Mesmo distantes mostraram-se solidários. Agradeço especial ao meu irmão Carlos Henrique pelo carinho, dedicação, força e principalmente pelo grande exemplo que és para mim;*

*Meu sobrinho Jezrael Vagner pelo carinho e companheirismo;*

*Ao meu orientador Prof. Dr. Valene pela amizade e por acreditar em mim;*

*Ao Médico Veterinário Lauro Queiroz pela ajuda e apóio imensurável;*

*Ao Prof. Mallmann pela atenção, carinho, direcionamento da pesquisa, e por ceder às análises laboratoriais, parte fundamental na construção deste trabalho;*

*Ao Prof. Daniel pela confiança, pelos momentos de dúvidas esclarecidos e pela ajuda nas análises laboratoriais;*

*À Prof<sup>a</sup>. Alessandra pelo apoio e auxílio;*

*Ao Prof. Jurandir pelo apóio laboratorial em Jaboticabal;*

*Aos professores: Rudson e Ribamar Junior pela ajuda na análise estatística;*

*Aos professores: Rita, Ana Clara, Neide, Ricardo, Alana e em especial Ana Lúcia por sempre estar presente;*

*As amigas Andréia e Elba pelo apoio e amizade de sempre;*

*Agradeço em especial minha querida amiga Lucélia que sempre esteve comigo nos momentos difíceis;*

*Aos colegas de pós-graduação Joice, Selma, George, Ana Carolina, Sonizeth, Nádia e Danilo; e a Esperança Maria, pelo apoio;*

*Aos funcionários que estão sempre presentes com suas palavras amigáveis e de incentivos, em especial a secretária Carol Romão;*

*A Universidade Estadual do Maranhão e ao Mestrado em Ciências Veterinárias por serem responsáveis pela minha formação profissional;*

*À Agrolusa por ceder o local e os animais para realização da pesquisa e aos tratadores e funcionários desta empresa, em especial ao gerente José Sousa;*

*Aos Laboratórios: Laboratório de Análises Micotoxicológicas/LAMIC/ Santa Maria-RS; Laboratório de Patologia Clínica da UEMA e Centro de Diagnóstico Veterinário/CDV/ São Luís-MA; Laboratório de Apoio a Pesquisa do Departamento de Patologia Clínica e Cirurgia Veterinária/Jabotical/SP;*

*À Fundação de Amparo a Pesquisa do Maranhão - FAPEMA pela concessão da bolsa;*

*Ao Programa PROCAD I Amazônia/Capes;*

*A cidade de São Luis-MA, que me acolheu durante meu crescimento profissional.*

*A todos aqueles que de forma direta ou indireta colaboraram na realização desta pesquisa.*

**Muito obrigada!!**

*“Suba o primeiro degrau com fê. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo.”*

*Martin Luther King Jr.*

PEREIRA, A. P. L. **Uso de aditivos antimicotoxinas em matrizes suínas alimentadas com dietas naturalmente contaminadas por micotoxinas.** [Use of additives antimicotoxinas in feed of sows fed diets naturally contaminated with mycotoxins] 2009. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2010.

## RESUMO

Foi avaliada a eficiência de aditivos antimicotoxinas (AAM) na detoxificação de micotoxinas em ração de matrizes suínas em reprodução. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos: T<sub>1</sub> (constituído de 18 matrizes alimentadas com dietas naturalmente contaminadas com Zearalenona (ZEA), Fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) e Fumonisina B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>) + 2 kg / t de AAM) e T<sub>2</sub> (constituído de 18 matrizes alimentadas com dietas naturalmente contaminadas com ZEA, FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>). Cada animal representou uma unidade experimental. O experimento teve duração de 42 dias (21 dias de pré-lactação e 21 dias na lactação). Foi implantado o monitoramento na fábrica de ração para identificar as micotoxinas e os níveis de contaminação fúngica (ergosterol) da ração e atividade de água (A<sub>w</sub>). As variáveis analisadas foram: o volume vulvar das matrizes e leitoas; desempenho reprodutivo das matrizes (contagem de nascidos vivos, natimortos e mumificados, juntamente com as diferenças de peso ao nascer e ao desmame); atividade sérica de gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP) e aspartatoaminotransferase (AST), concentração sérica de glicose, colesterol, bilirrubinas, fósforo, cálcio, magnésio, sódio, potássio, cálcio iônico e ferro, bem como o proteinograma. Os dados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) e as comparações das médias foram realizadas pelo teste Tukey (p<0,05). Foram encontrados nas seis amostras de ração níveis médios de 0,4 mg / kg de ZEA, 1,6 mg / kg de FB<sub>1</sub>, 0,56 mg / kg de FB<sub>2</sub>, 1,84 mg / kg de ergosterol e média de 0,60 de A<sub>w</sub>. A correlação entre o ergosterol e as micotoxinas foi moderada a fraca. O volume vulvar das matrizes não teve diferença significativa. No entanto, o volume vulvar das leitoas, foi significativo (p<0,006). No desempenho reprodutivo, não foram verificadas diferenças significativas nas quantidades de leitões nascidos vivos, natimortos, mumificados e peso ao nascer. Porém, constataram-se diferenças no peso ao desmame (p<0,0018) e no ganho de peso (P<0,005). Nas análises do soro, não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de GGT, ALP, AST, glicose, colesterol, bilirrubinas fósforo, magnésio, sódio, potássio, ferro e proteinograma; houve diferenças, entre os grupos, somente entre as concentrações de cálcio (p<0,0016). O adsorvente não interagiu com os minerais analisados e a adição de 2 kg / t de AAM mostrou-se positiva no volume vulvar das leitoas, no ganho de peso dos leitões aos 21 dias e no ganho de peso durante os 21 dias.

**Palavras-chave:** Fumonisinias, aditivo antimicotoxinas, suínos, Zearalenona.

PEREIRA, A. P. L. **Use of additives antimicotoxinas in feed of sows fed diets naturally contaminated with mycotoxins.**[Uso de aditivos antimicotoxinas em matrizes suínas alimentadas com dietas naturalmente contaminadas por micotoxinas] 2009. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2010.

## **SUMMARY**

Was evaluated the efficiency of the additives antimicotoxinas (AMM) in detoxification of mycotoxin in sow during the reproductive phase. The experimental design was randomized with two treatments: T<sub>1</sub> (group composed by 18 sows that received a diet naturally contaminated by Zearalenone (ZEA), Fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) e Fumonisin B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>) + 2 kg / t of AAM); T<sub>2</sub> (group composed by 18 sows that received a diet naturally contaminated by ZEA, FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>). Each sow represented an experimental unit. The experiment was carried out during 42 days (21 days before the lactation and 21 days in lactation period). During the experiment the ration factory evaluated the occurrence of mycotoxins and the level of fungal contamination (ergosterol) and water activity (A<sub>w</sub>) in the ration. The parameters evaluated were: the volume of vulvar arrays and gilts; reproductive performance (account of piglets born, piglets born dead and mummified piglets as well the weight at birth and postweaning. Beside that gammaglutamyltransferase, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, glucose, cholesterol, bilirubin, phosphorus, calcium, magnesium, sodium, potassium, ionic calcium and protein concentrations were performed. The data were analyzed using statistical test Analysis of Variance (ANOVA) and media comparison was done by Tukey test (p<0.05). The results showed that six sample presented medial level 0.4mg/kg of ZEA, 1.6mg/FB<sub>1</sub>, 0.56mg/kg of FB<sub>2</sub>, 1,84 mg / kg of ergosterol and an average of 0,60 A<sub>w</sub>. The correlation between ergosterol and mycotoxins was moderate to low. The vulva swollen of the sows did not presented significant difference. However the vulva swollen the gilts have statistical difference (p<0.05). In reproductive performance did not significant difference in respect to quantity of piglets born, piglets born dead, mummified piglets and weight at birth. But, it was observed difference at postweaning (p<0.0018) and weight gain (p<0.005). No statistical difference were observed in the serum analysis, except calcium (p<0.0016) between treatment. The adsorbent did not interact to minerals studied and addition of 2 kg / t of AAM was positive, once there is not vulva swollen of the gilts and it contributed to weight gain on 21<sup>th</sup> days.

**Keys words:** Fumonisins, additives antimicotoxinas, swine, Zearalenone.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	
2.2 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b>	
3.1 Micotoxinas.....	19
3.2 Produção de Micotoxinas.....	22
3.3 Atividade de Água ( $A_w$ ).....	23
3.4 Ergosterol.....	24
3.5 Métodos de coleta e diagnóstico de micotoxinas.....	26
3.6 Zearalenona.....	27
3.6.1 Mecanismo de ação da zearalenona.....	28
3.6.2 Metabolismo protéico da ZEA.....	30
3.6.3 Micotoxicose nos suínos.....	31
3.6.5 Níveis e respostas em suínos.....	32
3.7 Fumonisinias.....	33
3.7.1 Mecanismo de ação das Fumonisinias.....	36
3.7.2 Micotoxicose nos suínos causada pelas fumonisinias.....	37
3.8 Detoxificação de Micotoxinas na Alimentação de Suínos.....	38
3.8.1 Adsorventes.....	40
<b>4 MATERIAIS E MÉTODO</b>	
4.1 Local e período.....	42
4.2 Animais.....	42
4.3 Dietas Experimentais.....	43
4.4 Plano amostral para coleta de ração e identificação das micotoxinas, atividade de água ( $A_w$ ) e contaminação fúngica (ergosterol)..	44
4.5 Coleta e envio da ração ao laboratório.....	45
4.5.1 Análise laboratorial da ração.....	45
4.6 Desempenho reprodutiva das matrizes (nascidos vivos, natimortos e mumificados, peso ao nascer e ao desmame).....	46
4.7 Volume vulvar.....	46

4.8 Análises laboratoriais do soro sanguíneo.....	47
4.9 Colheita e preparação das amostras de sangue.....	47
4.10 Bioquímica sérica.....	47
4.11 Análise Estatística.....	48
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	
5.1 Análises da ração.....	49
5.2 Volumes vulvar.....	52
5.3 Desempenho reprodutivo.....	56
5.4 Bioquímica do sangue.....	59
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>70</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>82</b>

## LISTA DE TABELA

- Tabela 1.** Composição das dietas de matrizes suínas, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, nas fases de pré-lactação e lactação, segundo a AGROCERES, durante os 42 dias de experimento..... 43
- Tabela 2.** Micotoxinas, ergosterol e atividade de água (A<sub>w</sub>), presentes nas dietas das matrizes suínas, nas seis amostras de ração analisadas, durante os 42 dias de experimento..... 49
- Tabela 3.** Médias e desvios-padrão do volume vulvar das matrizes ajustado ao peso médio metabólico (mm<sup>3</sup>/kgPV<sup>0,6</sup>) entre os tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, após 42 dias de experimento..... 51
- Tabela 4.** Médias e desvios-padrão do volume vulvar verificado, das leitoinhas, aos 21 dias (desmame), oriundas das matrizes dos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>..... 54
- Tabela 5.** . Médias e desvio padrão da quantidade de nascidos vivos, natimortos, mumificados dos leitões das matrizes suínas nos grupos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>..... 56
- Tabela 6.** Médias e desvios-padrão do peso dos leitões ao nascer, ao desmame e o ganho de peso dos leitões originados das matrizes suínas nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>..... 57
- Tabela 7.** Médias e desvios-padrão das atividades séricas de gamaglutamiltransferase- GGT, fosfatase alcalina-ALP e aspartato aminotransferase-AST de matrizes suínas no início e aos 42 dias de experimento, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>..... 59
- Tabela 8.** Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de bilirrubina direta (BD), bilirrubina total (BT), bilirrubina indireta (BI), glicose, colesterol de matrizes suínas no primeiro dia e aos 42 dias de experimento, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>..... 61
- Tabela 9.** Médias e desvios-padrão da atividade sérica de cálcio, magnésio, fósforo, sódio, potássio, ferro, cálcio iônico e magnésio de matrizes suínas no primeiro e aos 42 dias de experimento, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>..... 63
- Tabela 10.** Médias e desvios-padrão da concentração sérica das proteínas obtidas em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de matrizes suínas no início e aos 42 dias de experimento, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>..... 65

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Ocorrência das principais micotoxinas de importância na suinocultura, no mundo.....	20
<b>Figura 2.</b>	Estrutura molecular da zearalenona.....	27
<b>Figura 3.</b>	Representação da metabolização da ZEA no fígado.....	29
<b>Figura 4.</b>	Modo de ação dos metabólitos da ZEA no interior do núcleo da célula uterina.....	30
<b>Figura 5.</b>	Estrutura molecular das fumonisinas B <sub>1</sub> .....	34
<b>Figura 6.</b>	Mecanismo proposto de ação tóxica das fumonisinas.....	37
<b>Figura 7.</b>	Esquema do plano amostral “Furo na Rosca”-LAMIC, instalado durante o monitoramento da fábrica de ração, para coleta de ração a ser enviada ao LAMIC, para a pesquisa de micotoxinas, ergosterol e A <sub>w</sub> . Fonte: <a href="http://www.lamic.com.br">www.lamic.com.br</a> .....	44
<b>Figura 8.</b>	Sistema amostral <i>Furo na rosca</i> implantado na fábrica de ração da granja para coleta das amostras. A- Orifício acoplado no condutor da ração num ângulo de 45 <sup>0</sup> graus, em detalhes orifício à esquerda. B- Coleta da matéria-prima amostral.....	45
<b>Figura 9.</b>	Verificação do volume vulvar das matrizes e leitões, respectivamente. A- medição em matriz e B- medição em leitão. 46	46
<b>Figura 10.</b>	Valores da atividade de água encontrados na dieta, evidenciado na linha contínua, o valor necessário para o crescimento fúngico e proliferação de micotoxinas, na linha tracejada.....	51
<b>Figura 11.</b>	Coeficiente de correlação entre os níveis de ergosterol (mg / kg) e zearalenona, encontrados nas seis amostras da ração naturalmente contaminadas.....	51
<b>Figura 12.</b>	Coeficiente de correlação entre os níveis de ergosterol (mg / kg) e as fumonisinas, encontrados nas seis amostras da ração naturalmente contaminadas.....	52
<b>Figura 13.</b>	Sinais clínicos sugestivos de intoxicação por ZEA. (A e B)-	

Matrizes do tratamento T<sub>2</sub> com prolapso retal e prolapso vaginal. (C e D)- Leitões com *splayleg*, oriundos de matrizes do tratamento T<sub>2</sub>. (E)- Leitoinha recém-nascida com hiperemia de vulva, oriunda de matriz do tratamento T<sub>1</sub>. (F)- Leitoinha recém-nascida com hiperemia de vulva, oriunda de matriz do tratamento T<sub>2</sub>. (G)- Leitão com aumento de mamilo, oriundo de matriz do tratamento T<sub>1</sub>. (H)- Leitão com aumento de mamilo, oriundo de matriz do tratamento T<sub>2</sub>..... 55

**Figura 14.** Exemplo do traçado densitométrico do proteinograma sérico de matrizes suínas intoxicadas naturalmente com Zea e FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>, apresentando 24 frações protéicas..... 66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

**AMM** - Aditivo antimicotoxinas

**AF** - Aflotoxinas

**SDS-PAGE** - Dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE)

**MS** - Espectrometria de massas

**mm<sup>3</sup>/kg/PV<sup>0,6</sup>** - Milímetros cúbicos por quilogramas de peso metabólico

**A<sub>w</sub>** - Atividade de água

**FAO** - Organização das nações Unidas para Agricultura e Alimentação

**DON** - Desoxinivalenol

**GP** - Ganho de peso

**µg/kg** - Micrograma por quilograma

**ppm** - Partes por milhão

**ppb** - Partes por bilhão

**FB<sub>1</sub>** - Fumonisina B<sub>1</sub>

**FB<sub>2</sub>** - Fumonisina B<sub>2</sub>

**FB<sub>3</sub>** - Fumonisina B<sub>3</sub>

**α-ZOL** - α-zearalenol

**β-ZOL** - β-zearalenol

**RNA** – Ácido ribonucléico

**DNA** - ácido dextrorribonucléico

**HSDs** - Hidroxisteróide-dehidrogenases

**CONAB** - Companhia Nacional de Abastecimento

**ZEA** - Zearalenona

**EPS** - Edema Pulmonar Suíno

**HPLC** - Cromatografia Líquida de Alta Resolução

**GGT** - Gamaglutamiltransferase

**ALP** - Fosfatase alcalina

**AST** - Aspartato aminotransferase

**kg/t** - Quilogramas por toneladas

**3α-HSD** - 3α hidroxisteróide dehidrogenase

**3β-HSD** - 3β hidroxisteróide dehidrogenase

**Acetil-CoA** - Acetil-coenzima A

**LAMIC**- Laboratório de Análises micotoxicológicas

**UV-DAD** - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Conjunto de Fotodiodos

**MS** - Massa

**ANOVA** - Análises de Variância

# **INTRODUÇÃO**

---

## 1 INTRODUÇÃO

Impulsionada pela indústria alimentícia, a carne suína é a mais industrializada, comercializada e consumida no mundo. Com Cerca de 102.612,8 mil toneladas consumidas em 2005. Calculando-se um consumo *per capita* global de 16,1 kg que representa em torno de 38,4% da carne consumida no planeta (DESOUZART, 2005).

Nas últimas décadas a carne suína tem sido utilizada como importante fonte de proteína animal para a alimentação humana. Dados fornecidos pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos relatam que a China, União Européia e os Estados Unidos serão responsáveis por cerca de 81,3% da produção mundial. A China é o maior produtor mundial com produção de 43,3 milhões de toneladas em 2002, seguida pela União Européia com 17,8 milhões e pelos Estados Unidos com 8,9 milhões. No Brasil, a suinocultura detém hoje o quarto maior plantel do mundo, com um rebanho superior a 37 milhões de cabeças que, em 2007, foi responsável por uma produção de três milhões de toneladas de carne para exportação (CENTEC, 2004).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, com 40 milhões de toneladas produzidas anualmente, das quais 28% são utilizadas na suinocultura para a produção de ração e como fonte de proteína animal. O milho representa em torno de 40% da composição da ração dos suínos (SINDIREÇÕES, 2005). De acordo com dados da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), do total de milho produzido no Brasil, 50% são destinados à produção de rações para suínos (FIALHO, 2003).

O cultivo do milho em clima tropical e subtropical, assim como a sua qualidade nutricional, torna este grão predisposto à multiplicação fúngica e conseqüentemente contaminação por micotoxinas (CASTEGNARO et al., 2002). Micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos e quando ingeridos pelos animais, provocam um quadro de intoxicação denominado micotoxicoses (MOSS, 1991).

As principais micotoxinas que causam impacto sobre a produtividade dos suínos são: Aflatoxinas, Tricotecenos, Ocratoxina A, Fumonisinias e

Zearalenona. Dessas micotoxinas, a ZEA é o metabólito secundário que mais afeta a reprodução, por possuir atividade estrogênica. As demais micotoxinas afetam de forma indireta a reprodução através da redução da ingestão de alimentos, atraso no crescimento ou por causarem lesões em órgãos vitais do animal (ROTTER et al., 1996).

A ZEA desencadeia nos suínos um quadro de hiperestrogenismo que inclui edema de vulva, alargamento uterino, desenvolvimento das glândulas mamárias, prolapso vulvar ou retal, problemas reprodutivos com redução no tamanho da leitegada e leitões com síndrome dos membros abertos (*splayleg*). Durante a gestação, a ZEA reduz a sobrevivência embrionária e o peso fetal (GAUMY et al., 2001).

Os suínos são muito sensíveis também à intoxicação por fumonisinas. Tal constatação tem sido observada em diversos surtos naturais e experimentais (HASCHEK et al., 1992; ROTTER et al., 1996). Nos suínos os principais órgãos-alvo afetados pela intoxicação são pulmão, fígado, coração e pâncreas, e a síndrome específica nessa espécie é o Edema Pulmonar Suíno (EPS) (HASCHEK et al., 1992; OSWEILER et al., 1992). A intoxicação desencadeia hepatopatias e diminuição da produtividade, com redução da ingestão de alimentos, sendo que as alterações hepáticas podem ser mensuradas pelo incremento da atividade de enzimas (SMITH et al., 2000).

A determinação exata das concentrações de micotoxinas em uma grande quantidade de alimentos é de difícil realização, devido a distribuição heterogênea dos grãos contaminados dentro de um lote e a variabilidade de procedimentos de diagnósticos. Deve ser realizado, portanto, o monitoramento da fábrica de ração com o uso de um bom planejamento amostral para uma coleta adequada de ração. Pode ser realizada a quantificação da contaminação fúngica de grãos ou ração através da análise de ergosterol (MALLMANN & DILKIN, 2007).

Para análise da presença de micotoxinas, a metodologia mais específica, precisa e confiável é obtida com o emprego de métodos de separação química. Esses procedimentos poderão ser dirigidos tanto pela Cromatografia em Camada Delgada (TLC) quanto pela Cromatografia Líquida

de Alta Resolução (HPLC), ambas com resultados semelhantes (MALLMANN & DILKIN, 2007).

O sistema mais utilizado para diminuir as intoxicações por micotoxinas é a adição de AAM neutralizando de forma irreversível às micotoxinas, tornando-as metabolitos não tóxicos pelo trato gastrintestinal dos animais e sendo naturalmente eliminadas (FÁVERO, 2008). Os estudos *in vivo* são mais eficientes na avaliação da adsorção de micotoxinas e permitem avaliar a influência do adsorvente na digestibilidade de dietas e na absorção de nutrientes (AVANTAGGIATO et al., 2003). Os principais resultados foram obtidos com animais de laboratório.

Diante do exposto, esta pesquisa foi realizada pela importância que as micotoxicoses representam na produção e reprodução na suinocultura e pelo conhecimento da existência de aproximadamente 400 micotoxinas, já conhecidas, presentes em grãos que compõem a ração animal. Assim como, pela importância do problema que afeta de forma crônica os animais, representando uma das doenças crônicas impercebíveis numa granja, o que implica diretamente na diminuição da produtividade desses animais.

## **OBJETIVOS**

---

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar a eficiência do uso de aditivos antimicotoxinas na ração de matrizes suínas alimentadas com dietas naturalmente contaminadas por micotoxinas.

### **2.2. Objetivos específicos**

- ✓ Identificar na ração as micotoxinas presentes, os níveis da contaminação fúngica (ergosterol) e a atividade de água ( $A_w$ );
- ✓ Avaliar os efeitos tóxicos sobre o volume vulvar das matrizes e leitoas;
- ✓ Determinar o desempenho reprodutivo das matrizes (nascidos vivos, natimortos e mumificados, juntamente com as diferenças de peso ao nascer e ao desmame);
- ✓ Avaliar a atividade sérica de gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP) e aspartato aminotransferase (AST), concentração sérica de glicose, colesterol, bilirrubinas fósforo, cálcio, magnésio, sódio, potássio, cálcio iônico e ferro, bem como o proteinograma.

# **REVISÃO DE LITERATURA**

---

## 3 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Micotoxinas

Micotoxinas são metabólitos secundários, de baixo peso molecular produzidos por alguns fungos filamentosos ambientais que se desenvolvem nos alimentos. Esses metabólitos não são essenciais para o crescimento dos fungos e são produzidos sob condições de estresse no cultivo ou armazenamento dos cereais (AGAG, 2004).

O termo MICOTOXINA deriva da palavra grega *Mikes*, que significa fungo, e da palavra latina *Toxicum*, que significa veneno (HUSSEIN & BRASEL, 2001; TANIWAKI & SILVA, 1996). Em geral tem sido associada à ocorrência de várias doenças em humanos e animais, causando prejuízos econômicos no setor agropecuário (STOLOFF, 1980; COULOMBE, 1991; YOSHISAWA et al., 1990).

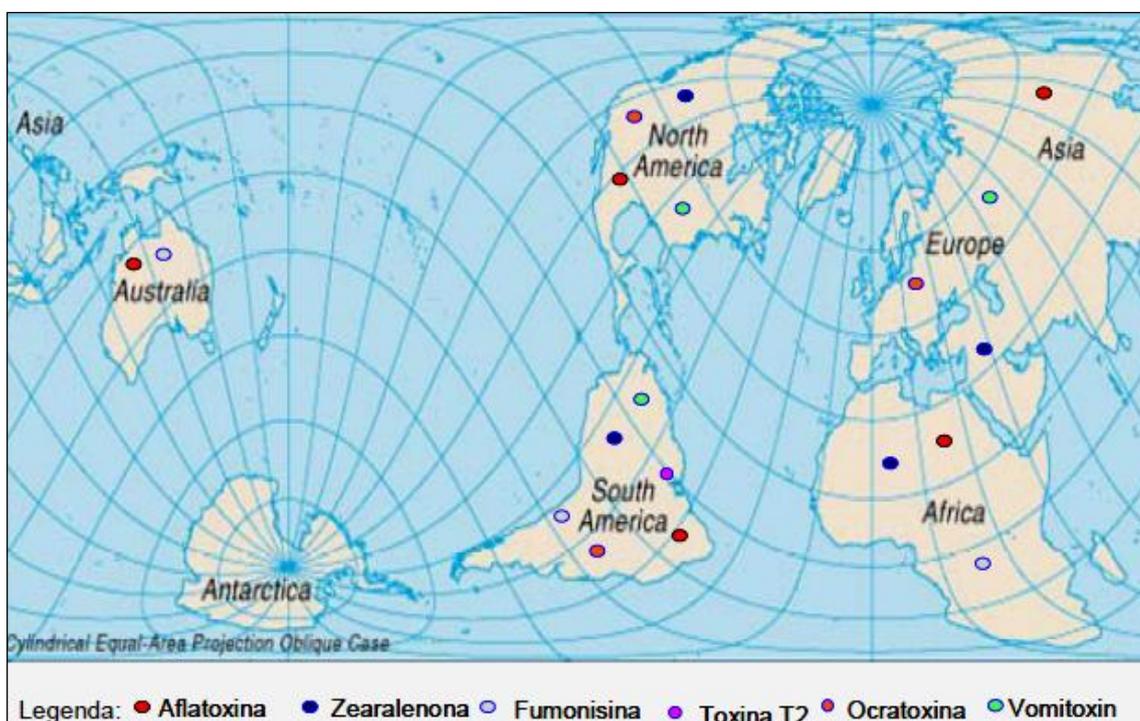
Há muitos séculos, conhece-se a toxicidade de alguns fungos. No entanto, somente em meados de 1850, ao relacionar-se a ingestão de centeio infectado pelo fungo *Claviceps purpurea* com as características clínicas do ergotismo, foi levantada a possibilidade de haver risco à saúde humana e animal pela ingestão de metabólitos tóxicos produzidos por fungos presentes em alimentos. As primeiras evidências de micotoxicoses estão relatadas no Antigo Testamento, durante as dez pragas do Egito, quando ocorreu a peste que dizimou os rebanhos e induziu tumores e úlceras nos animais do povo egípcio (ALLCROFT et al., 1961).

Na Idade Média, destacou-se o “fogo do Santo Antônio”. Nos séculos XI e XVI, na Europa, houve surtos de gangrena na população que consumiu cereais contaminados com escleroto (esporão de centeio) do fungo *Claviceps purpurea*. De 1930 a 1940, a Estaquiobotriotoxicose causou a morte de dezenas de eqüinos na antiga União das Repúblicas Soviéticas. No início do século XX, a Aleucia Tóxica Alimentar levou a óbito, na Europa, mais de 100 mil russos. Nos séculos XIX e XX, ocorreu no Japão uma epidemia chamada

“doença do arroz amarelo”, que causou grande número de mortes (MALLMANN & DILKIN, 2007).

A micotoxicologia ganhou importância científica a partir de 1960, na Inglaterra, com o episódio conhecido como “Doença X dos Perus”, onde mais de 100.000 aves morreram após terem sido alimentadas com farelo de amendoim contaminado por *Aspergillus flavus*, do qual foi obtido um extrato de clorofórmico que, ao ser administrado em marrecos jovens, foi capaz de reproduzir lesões hepáticas semelhantes à doença original. A toxina foi denominada de flavustoxin ou aflatoxina (ALLCROFT et al., 1961; ALLCROFT & CARNAGHAM, 1962). Tem sido descobertas atualmente, cerca de 400 componentes conhecidos como micotoxinas que são produzidas por mais de 100 espécies de fungos com diferentes formas químicas (MALLMANN et al., 2002; DEVEGOWDA, 2002).

Sabe-se que a produção de micotoxinas em alimentos tem sido considerada um problema mundial (Figura 1), 25% dos cereais produzidos no mundo estão contaminados por estes metabólitos. Os fatores climáticos e geográficos relacionados a cada região influenciam diretamente à produção de determinado tipo de micotoxina (LAWLOR & LYNCH, 2005).



**Figura 1.** Ocorrência das principais micotoxinas de importância na suinocultura, no mundo. Fonte: (DIAZ & BOERMANS, 1994).

A ocorrência de micotoxinas no Brasil tem sido verificada em quase todos os estados. Mas, porém devido as diferenças climáticas, algumas regiões apresentam níveis mais elevados de contaminação por micotoxinas no milho. No período de 1986 a 2005, através de análises em laboratório, 57% das 30.506 amostras de milho analisadas no LAMIC / RS, apresentaram contaminação por micotoxinas (LAMIC, 2006).

Na área clínica, as micotoxinas podem apresentar efeitos hepatotóxicos, imunotóxicos, nefrotóxicos e neurotóxicos. Na biologia celular, são divididas em grupos genéricos como mutagênicos, carcinogênicos e alergênicos. Na bioquímica e química orgânica, são classificadas de acordo com a sua origem biosintética e estrutura química. Na área micológica, são classificadas de acordo com os fungos produtores das toxinas (BENNETT & KLICH, 2003).

As micotoxicoses (doenças causadas por micotoxinas) podem ser agudas ou crônicas. Na forma aguda, ocorrem sinais clínicos típicos de cada toxina, com síndromes hepáticas e hemorrágicas, nefrites, necroses de epitélio oral e intestinal, síndromes do sistema nervoso central (SNC) e, nos casos extremos, a morte. Porém, na maioria das vezes, as micotoxicoses ocorrem de forma crônica, em que os sinais clínicos não estão muito bem definidos e podem aparecer, nos animais de produção, como uma simples queda na produtividade (COULOMBE, 1991; VESONDER et al., 1991; HUSSEIN & BRASEL, 2001). Muitos dos efeitos biológicos podem ser desencadeados quando ocorrem combinações entre micotoxinas, as quais podem interagir no organismo, promovendo os mais diversos sinais clínicos, de difícil identificação (WILSON et al., 1983; SMITH & HENDERSON, 1991; PIER et al., 1992). No entanto, foi a partir da descoberta das fumonisinas que começaram a surgir relatos sobre a co-ocorrência entre micotoxinas (CHAMBERLAIN et al., 1993; SHETTY & BATT, 1997; UENO, 2000).

Desse modo, há uma grande preocupação com a ação sinérgica entre as micotoxinas, pois tal ação pode aumentar a toxicidade dessas para os animais. A composição de dietas com grãos oriundos de diferentes regiões geográficas leva o aparecimento de mais de uma micotoxina no alimento. Isso aumenta as possibilidades de combinações entre toxinas de diferentes partes

do mundo na mesma ração. Muitas toxinas diferentes podem estar presentes simultaneamente na ração. O efeito sinérgico das toxinas e as combinações entre elas têm maior impacto que as toxinas encontrada isoladamente na ração. Por isso, níveis aparentemente baixos de toxinas individuais tornam-se importantes quando combinados (WHITLOW & HAGLER, 2002).

### **3.2 Produção de Micotoxinas**

A produção de micotoxinas pode ocorrer no campo, no armazenamento, no transporte, na industrialização ou em qualquer momento da fase de consumo, desde que as condições, principalmente de temperatura, atividade de água ( $A_w$ ) e umidade, sejam favoráveis (MALLOZZI & CORRÊA, 1998).

O crescimento fúngico e a formação de micotoxinas são dependentes de uma série de fatores como umidade, temperatura, presença de oxigênio, o tempo para o crescimento fúngico, constituição do substrato, lesões à integridade dos grãos causados por insetos ou dano mecânico/térmico, quantidade de inóculo fúngico, bem como a interação/competição entre as linhagens fúngicas. As características genéticas também representam um fator cada vez mais decisivo na solução do problema (CIEGLER, 1978; CENTEC, 2004).

Os sistemas de secagem e armazenagem instalados também contribuem para a evolução do problema. Além disso, as temperaturas da massa de grãos no interior dos silos, em muitas situações, ultrapassam os 18°C recomendados, permitindo um crescimento fúngico intenso, especialmente pela deficiente aeração forçada da maioria das unidades armazenadoras que, pelo excesso e pela má distribuição de impurezas, não são efetivas no controle dos pontos de calor dentro do silo. Esta e muitas outras razões proporcionam alta prevalência de micotoxinas como contaminantes rotineiros dos cereais (RAUBER, 2006).

### 3.3 Atividade de Água ( $A_w$ )

A água presente nos alimentos pode apresentar-se na forma de molécula livre ou ligada ao substrato. A atividade de água ( $a_w$ ) é um dos fatores intrínsecos dos alimentos e é uma medida qualitativa que possibilita avaliar a disponibilidade de água livre que é suscetível a diversas reações, ao passo que o teor de umidade é uma medida meramente quantitativa, medindo o percentual em peso, de toda água presente no alimento, tanto livre quanto ligada (SCOTT, 1957).

Nesses termos, a quantidade de água livre que não se encontra comprometida com as moléculas constituintes do produto, está disponível para as reações físicas, químicas e biológicas tornando-se o principal responsável pela deterioração dos alimentos (WELTI e VERGARA, 1997).

A atividade de água é um dos parâmetros mais importantes na conservação de alimentos, tanto no aspecto biológico como nas transformações físicas. Dessa forma, podem ser previstas reações de oxidação lipídica, escurecimento não enzimático, atividade enzimática, desenvolvimento de microrganismos, assim como o comportamento de misturas de alimentos com diferentes valores de atividade de água e sistemas de embalagens (NETO, 1976).

Desde a introdução do conceito de atividade de água, há mais de 40 anos, este tem sido amplamente utilizado na preservação de alimentos, servindo para melhorar os processos e elaborar novos produtos (WELTI, 1997). Também tem sido utilizado em estudos da avaliação fisiológica dos principais microrganismos, correlacionando com o potencial de crescimento e a atividade metabólica destes (GOULD, 1985).

Segundo Troller e Scott (1992), a atividade de água afeta os atributos e as características dos alimentos e é utilizada no controle dos fatores estabilizantes, como as reações enzimáticas e não enzimáticas, a oxidação lipídica e como parâmetro de crescimento microbiológico, demonstrado na. Segundo estes autores, os microrganismos podem ser categorizados com respeito à sua capacidade de crescimento e produção de metabólitos, devido

às condições limitadas de atividade de água

Outra possibilidade da análise de atividade de água é permitir uma avaliação do crescimento de microorganismos. Recentes trabalhos vêm sendo elaborados no controle de *Aspergillus flavus* através da atividade antifúngica (trans-2-hexagonal), considerando a atividade de água como importante fator (GARDINI et al., 2001). Também tem sido investigado o potencial de formação de toxinas como fumonisinas, em diferentes valores de atividade de água, determinados pelo aparelho Thermoconstanter Novasina TH 200 (MARIN et al., 1999), sendo este o mesmo equipamento que foi utilizado na dissertação.

Beauchat (1981) comenta sobre a influência da atividade de água na estabilidade microbiana. Segundo Bell & Labuza (1992), para muitos alimentos o crescimento microbiano é prevenido com atividade de água entre 0,6-0,7.

O comportamento microbiano frente à  $a_w$  quanto à disponibilidade de água livre é extremamente variável, sendo as bactérias mais exigentes, em relação aos fungos e as leveduras. Os substratos com teor de atividade de água inferior a 0,6 estão dificilmente propícios ao crescimento microbiano e, a partir de 0,65, inicia a proliferação de microorganismos específicos, sendo que até 0,75, somente algumas bactérias halófitas, leveduras e fungos xerofílicos podem se desenvolver. Segundo Gock et al. (2003), que estudaram o efeito da  $a_w$ , do pH e da temperatura de germinação e crescimento de alguns fungos xerofílicos, o valor mínimo de  $a_w$  para a germinação é de 0,7.

### **3.4 Ergosterol**

O ergosterol é o mais importante esterol, constituinte natural das células ou membranas miceliais da grande maioria dos fungos. Os maiores níveis são encontrados nas camadas fosfolipídicas da membrana fúngica (SEITZ *et al.*, 1977; PEACOCK & GOOSEY, 1989) onde desempenha importante função estrutural e hormonal na progressão do ciclo celular (GOAD, 1994). A concentração do ergosterol numa massa fúngica é dependente do estágio de

desenvolvimento, e em consequência da umidade, temperatura e tempo de crescimento.

O ergosterol é praticamente insolúvel em água, mas apresenta boa solubilidade em solventes orgânicos. Possui boa estabilidade na manipulação laboratorial, principalmente, quando conservado em meio alcalino (GESSNER & SMITT, 1996) e protegido da luz ultravioleta (SCHWADORF & MULLER, 1989).

A determinação do ergosterol na biomassa fúngica pode ser realizada por espectrofotometria ultravioleta e infravermelha, associadas a métodos cromatográficos como camada delgada, líquida de alta eficiência (SEITZ *et al.*, 1977; REGNER *et al.*, 1994) e gasosa (EVERSCHEID *et al.*, 1988).

Conforme SEITZ *et al.* (1977) e BERGMINGHAM *et al.* (1995) a quantificação do ergosterol tem sido utilizada como indicador da concentração fúngica em sementes e folhas. WEST *et al.* (1987) e MARTIN *et al.* (1990) quantificaram o ergosterol de amostras de solo para estimar a biomassa fúngica.

Métodos microbiológicos como contagem de unidades formadoras de colônias são amplamente empregados para estimar a quantidade de biomassa fúngica presente em sementes e alimentos (PITT, 1984; GOURAMA & BULLERMAN, 1995). Porém, os valores das unidades formadoras não refletem exatamente a biomassa fúngica, mas sim a quantidade de esporos fúngicos produzidos. PITT (1984) constatou que o aumento da contagem de células viáveis provenientes da esporulação pode ser de até 10 vezes maior do que a biomassa fúngica e área de colônias fúngicas inoculadas por um período de 4 dias. Contudo, também possuem a desvantagem de não avaliarem fragmentos de micélios não viáveis como também de ser um método muito laborioso e demorado (SCHNÜRER, 1991).

### 3.5 Métodos de coleta e diagnóstico de micotoxinas

Existem muitas razões para a determinação de micotoxinas em ração destinada ao consumo animal, destacando-se em especial, os danos crônicos, que se traduzem pelas interferências econômicas, ou seja, pelas pequenas perdas em cada animal, fazendo a diferença entre o prejuízo e o lucro de cada empresa.

A determinação exata das concentrações de micotoxinas em uma grande quantidade de alimento é difícil de ser encontrada. Geralmente menos que 0,1% dos grãos do lote apresentam contaminação por micotoxina. Tem-se, com isso, uma grande preocupação com o planejamento de um bom programa de amostragem para a coleta de ração a ser enviada ao laboratório. O procedimento amostral é, sem dúvida, o ponto mais importante para o monitoramento de micotoxinas, (MIRAGLIA et al., 2005) pois uma amostragem incorreta leva à tomada de decisão errada na avaliação de uma ração, o que implica em custos, recusa do produto fora das especificações e até prejuízos econômicos. Além disso, a distribuição heterogênea das micotoxinas nos grãos é outro fator, talvez o principal, na escolha de um sistema de amostragem. A amostragem automática é um programa de amostragem muito prática e eficiente. Por isso, seu emprego está amplamente difundido em diversas empresas. O uso de amostradores automáticos e de outros sistemas muito mais simples, como a coleta de frações trituradas por intermédio de perfurações efetuadas nas tubulações (furo na rosca) de transporte do alimento, especialmente depois de ser moído, facilita significativamente o procedimento de amostragem e a identificação de micotoxinas na ração.

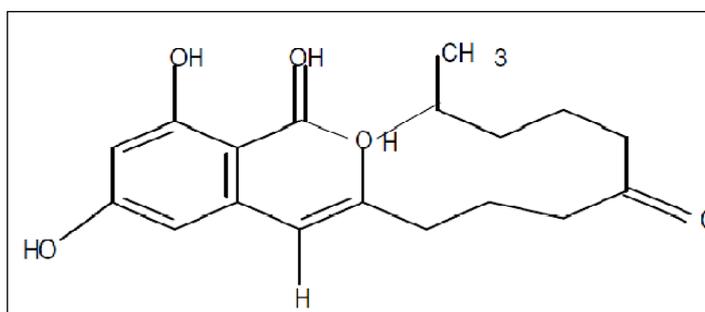
As técnicas mais utilizadas para análises de micotoxinas são por *kits* ELISA, Cromatografia em Camada Delgada e Cromatografia Líquida de Alta Resolução. A utilização de espectrometria de massas (CG / MS, LC / MS e LC –MS / MS) é recente. Contudo, já se tem certeza que essas são as metodologias mais eficientes e que substituirão as demais, num futuro muito próximo (MALLMANN & DILKIN, 2007).

### 3.6 Zearalenona

É um metabólito secundário, produzido por espécies e subespécies de fungos *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense*, *F. sambucinum* e *F. equiseti*). A produção de ZEA por esses fungos é favorecida pela alta umidade (>25%) nos cereais e/ou em ração numa temperatura baixa a moderada (8 a 24°C). Essa micotoxina pode ser encontrada como contaminante natural de diversos grãos, dentre eles, o milho, arroz, aveia, cevada e trigo, sendo de maior importância na suinocultura o milho ou a ração deste (AGAG, 2004).

Os primeiros relatos da síndrome do hiperestrogenismo, causado pela ZEA em suínos, foram realizados nos EUA em 1928. Porém a partir de 1952, a síndrome foi relacionada com a incidência de fungos do gênero *Fusarium* no alimento consumido por animais afetados (MALLMANN & DILKIN, 2007).

A ZEA, também denominada de toxina F - 2, é uma lactona do ácido fenólico resorcíclico (Figura 2), classificada, de acordo com a origem Biosintética, como um monocetido dentro do grupo dos policetidos. Quando administrada aos animais, é biotransformada em diferentes metabólitos, entre eles o  $\alpha$ -zearalenol ( $\alpha$ -ZOL) e o  $\beta$ -zearalenol que juntamente com a ZEA, são os maiores responsáveis pelo aumento da atividade estrogênica e anabólica nos animais. O  $\alpha$ -ZOL é o mais tóxico dos metabólitos e tem sido encontrado em altas proporções no organismo de suínos alimentados com dietas contaminadas com zearalenona (GAUMY et al., 2001; MALEKINEJAD et al., 2006). Isso pode explicar a maior sensibilidade dos suínos aos efeitos estrogênicos e anabólicos da zearalenona, cujos sinais clínicos de intoxicação surgem a partir de 0,1 mg da toxina / kg de alimento consumido.



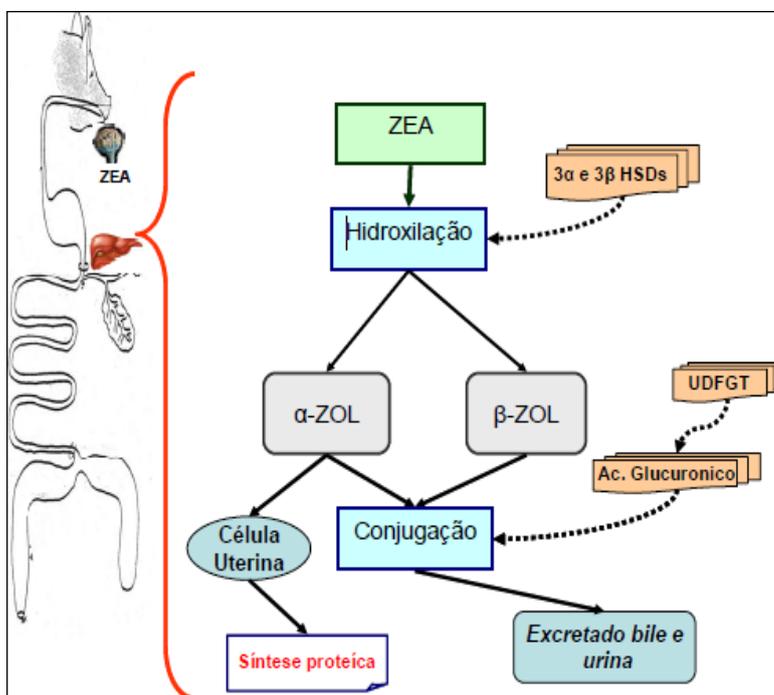
**Figura 2:** Estrutura molecular da zearalenona. Fonte: (DIAZ & BOERMANS ,1994).

### 3.6.1 Mecanismo de ação da zearalenona

A metabolização ou biotransformação da ZEA no organismo é dividida em duas fases: redução e conjugação como pode ser visto na Figura 3 (GAUMY et al., 2001). A redução ou hidroxilação é catalizada pelas enzimas 3- $\alpha$  e 3- $\beta$ - hidroxisteróide-dehidrogenases (HSDs) e resulta na formação de  $\alpha$ -zearalenol ( $\alpha$ -ZOL) e  $\beta$ -zearalenol ( $\beta$ -ZOL). Nos suínos, durante esse processo, é produzida maior quantidade de  $\alpha$ -ZOL do que  $\beta$ -ZOL, comparada as demais espécies (MALEKINEJAD et al., 2006). O mecanismo de ação das 3- $\alpha$  e 3- $\beta$  (HSDs) na biotransformação da ZEA não é totalmente conhecido em animais. Em humanos, essas enzimas atuam na presença de dinucleótido de nicotinamida adenina reduzido (NADH) e exercem uma função importante na regulação dos hormônios esteróides em nível de receptores (THOMAS et al., 2004). Em exposição prolongada no organismo, a ZEA compete com os hormônios esteróides por servir de substrato às enzimas 3- $\alpha$  e 3- $\beta$ -hidroxisteróide-dehidrogenases. Aproximadamente, 80 a 85% da ZEA ingerida é absorvida pelo trato gastrointestinal em suínos (BIEHL et al., 1993). Após absorção, a ZEA liga-se às globulinas do sangue, sendo transportada ao fígado para metabolização e distribuição aos tecidos do trato reprodutivo. A ZEA e seus metabólitos também podem ser encontrados no tecido adiposo de outros órgãos (KUIPER-GOODMAN et al., 1987).

Na fase posterior, a ZEA e seus metabólitos são conjugados com o ácido glucurônico, através da enzima uridina – difosfato / glucuronil transferases (UDFGT). A conjugação aumenta a solubilidade em água dos metabólitos, o que possibilita a excreção desses componentes pela bile e pela urina. Nos suínos, aproximadamente 45% dos metabólitos são excretados na bile e somente 7% nas fezes (BIEHL et al., 1993). Essa menor excreção nas fezes é devido à reabsorção dos metabólitos excretados pela bile. A maior rota de excreção da ZEA em suínos é através da urina (45%). A conjugação com consequente excreção é considerada

fase de detoxificação nos animais. O mecanismo de redução e conjugação da ZEA ocorre também na mucosa intestinal em suínos (BIEHL et al., 1993).



**Figura 3.** Representação da metabolização da ZEA no fígado. Fonte: (DIAZ & BOERMANS, 1994).

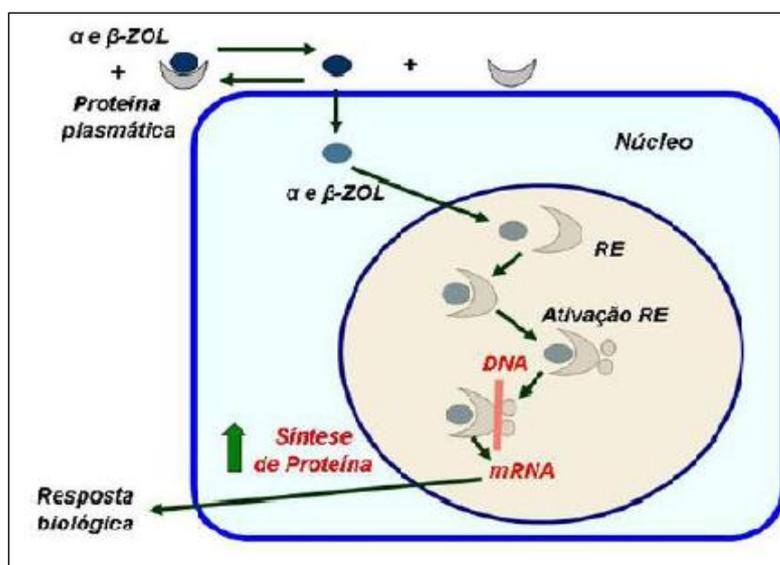
Em suínos, a maior atividade estrogênica da ZEA, está relacionada à afinidade do  $\alpha$ -ZOL ao 17- $\beta$ -estradiol na ligação com receptores estrogênicos (KUIPER-GOODMAN et al., 1987).

Dentre as espécies domésticas, os suínos apresentam maior taxa de conjugação do  $\alpha$ -Zearalenol e aproximadamente 80 a 85% desse metabólito, após ser conjugado e excretado na bile, é reabsorvido normalmente pelos tecidos e neles distribuídos. Esse processo prolonga a ação da ZEA no organismo, o que aumenta a susceptibilidade aos efeitos tóxicos nessa espécie (BIEHL et al., 1993).

### 3.6.2 Metabolismo protéico da ZEA

O efeito da ZEA na síntese protéica tem sido mais estudado na célula uterina devido à sua maior sensibilidade a essa toxina (KAWABATA et al., 1982; SHEEHAN et al., 1984). A ZEA atua na permeabilidade dessa célula, aumentando a síntese de RNA e proteína. Ela apresenta maior efeito estrogênico se comparado ao 17- $\beta$ -estradiol, devido ao modo de ação dos metabólitos no núcleo dessas células (GAUMY et al., 2001). Os metabólitos da ZEA, após fixarem-se nos receptores citoplasmáticos da célula uterina, são transferidos para o interior do núcleo. O tempo de retenção desses metabólitos no núcleo é maior quando comparado ao do 17- $\beta$ -estradiol. Esse tempo é suficiente para permitir que os metabólitos atuem aumentando a síntese de RNA e a atividade da RNA polimerase (Figura 4). Simultaneamente ocorre um aumento na permeabilidade das células uterinas para aminoácidos e glicose. Esse mecanismo aumenta a síntese protéica no útero, desencadeando uma resposta estrogênica precoce nos animais (KUIPER-GOODMAN et al., 1987).

Os efeitos tóxicos da ZEA, já descritos nesta revisão, estão relacionados à atividade estrogênica. Outros efeitos, não relacionados a essa atividade, também podem ser provocados por essa substância, dentre as quais, embora pouco estudado, o efeito citotóxico em tecidos não reprodutivos. Esse efeito danifica a estrutura do DNA, impedindo a replicação celular e a síntese proteica (ABID-ESSEFI et al., 2004).



**Figura 4.** Modo de ação dos metabólitos da ZEA no interior do núcleo da célula uterina. Fonte (DIAZ & BOERMANS, 1994).

As formas de atuação da ZEA na replicação celular e na síntese proteica têm sido avaliadas de forma isolada nos distintos tecidos. Essas avaliações não permitem identificar a existência de algum efeito aditivo da estrogenicidade e citotoxicidade na deposição proteica. No ganho de peso (GP), a proteína é um dos componentes mais importantes quimicamente (DE LANGE et al., 2003). Em função disso, alguns estudos sobre GP poderiam explicar de forma empírica a relação entre os efeitos da zearalenona (YOUNG & KING, 1986). Nesses estudos, a não diferença entre o GP dos animais controle e daqueles alimentados com ZEA demonstra que a magnitude dos efeitos estrogênicos e citotóxico foram semelhantes na deposição proteica (GREEN et al., 1990).

### 3.6.3 Micotoxicose nos suínos

Entre os animais domésticos, os suínos são os mais sensíveis à presença dessa micotoxina, podendo apresentar sinais clínicos de intoxicação a partir de 50 µg / kg (ppb) de ZEA nas dietas (BAUER et al., 1987). Após a ingestão, a ZEA é rapidamente absorvida pelas células do trato gastrintestinal (RAMOS et al., 1996) e sua absorção é estimada em 85% nos monogástricos (MALEKINEJAD et al., 2006). A flexibilidade na conformação espacial da ZEA e dos produtos de sua biotransformação hepática permite a competição com o 17-β-estradiol por receptores estrogênicos das células uterinas, hipotalâmicas, hipofisárias e das glândulas mamárias (KUIPER-GOODMAN et al., 1987). Essa interação incrementa a síntese proteica e manifesta-se principalmente pelo aumento de volume nos tecidos do trato reprodutivo e em quadros caracterizados de vulvovaginite. Também pode ser observada redução na taxa de concepção acompanhada de repetição de cio, nascimento de leitões fracos e natimortos e, muitas vezes, surtos da síndrome dos membros abertos (*splayleg*) (MALEKINEJAD et al., 2006).

A sintomatologia da intoxicação dos suínos por zearalenona varia em função da quantidade de toxina ingerida e da idade dos animais. O aumento da dose e a intoxicação de animais jovens provocam o aparecimento mais rápido

de sintomatologia clínica, sendo a idade entre três e quatro semanas as que apresentam maior susceptibilidade. A intoxicação mimetiza o estro, resultando em aumento dos lábios vulvares e crescimento das mamas. Ocasionalmente essa toxina produz relaxamento dos músculos dos esfíncteres levando ao prolapso vaginal e ou retal (MALLMANN & DILKIN, 2007). As fêmeas podem produzir leitegadas pequenas, com número variável de leitões natimortos e com *splayleg*. Muitas fêmeas apresentam vulva aumentada nas últimas duas semanas de gestação, podendo chegar a duas vezes o tamanho normal. Em vários surtos foram observados que em praticamente todos os partos havia um ou dois leitões mortos e com aparência de imaturidade quando comparados com leitões nascidos a termo (MALLMANN & DILKIN, 2007).

Segundo Smith (2002), as matrizes suínas produzem atualmente até 30 leitões ao ano, sob condições ideais de nutrição e manejo. Entretanto matrizes com micotoxicoses podem ter esta eficiência reduzida a 30% do seu potencial, e a recusa na ingestão dos alimentos é um sintoma causado pela substância em foco que poderá estar associado à intoxicação conjunta com outras micotoxinas.

#### 3.6.4 Níveis e respostas em suínos

A contaminação do milho por ZEA, no Brasil, varia em função da região geográfica devido às diferenças de clima e solo. O número de amostras contaminadas tem sido inferior quando comparadas às aflatoxinas. Na região Sul e Sudeste, no ano de 1986, das amostras analisadas (328) em um estudo, 4,5% estavam contaminados (SABINO et al., 1989). O nível médio, mínimo e máximo de contaminação foi de 2,0, 0,65 e 9,8 mg/kg, respectivamente. Em outro estudo, do total de amostras analisadas, 30% estavam contaminadas em níveis que variaram de 0,05 a 0,719 mg/kg (VARGAS et al., 2001).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) não estabelece níveis aceitáveis de ZEA no milho e nem em rações para suínos (GREEN et al., 1990).

As funções reprodutivas, devido à interação da ZEA com os hormônios reprodutivos são afetadas de forma negativa. O tipo e intensidade dos seus efeitos em suínos dependem do sexo e categoria dos animais (AGAG, 2004). As fêmeas são susceptíveis aos efeitos dessa micotoxina e a categoria mais sensível é a das nulíparas, que apresentam pseudo-estros, prolapso vaginal e retal sob concentrações de 0,5 a 1 mg / kg de ZEA na dieta (BLANEY & WILLIAMS, 1991). O principal sinal clínico observado é vulva avermelhada e intumescida, com ruptura e hemorragia em intoxicações crônicas. Após a retirada dos alimentos contaminados os sinais clínicos desaparecem dentro de três a quatro semanas. No entanto existem poucas evidências de que os efeitos provocados pela ZEA comprometam o desempenho reprodutivo subsequente (AGAG, 2004).

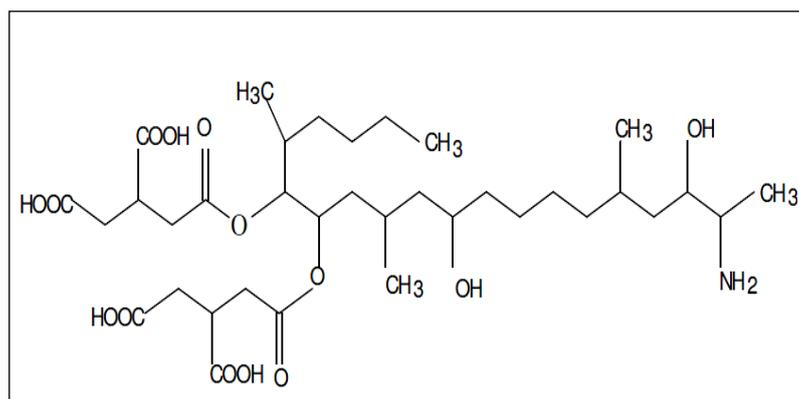
Em porcas alimentadas com dietas contendo ZEA, não se observaram sinais de hiperestrogenismo. Os efeitos, contudo, manifestam-se sob forma de insuficiência reprodutiva (AGAG, 2004). Essa insuficiência inclui infertilidade, mumificação fetal, taxa de natimortos elevada e reduzido tamanho da leitegada. Em porcas alimentadas até os 40 dias de gestação, com dietas contendo 10 mg/kg de ZEA, foi observado aumento do intervalo no desmame, cio e redução do tamanho da leitegada (YOUNG et al., 1990).

### **3.7 Fumonisinias**

As fumonisinias são metabólitos fúngicos secundários, produzidos por *Fusarium verticillioides* (atualmente denominado *F. verticillioides*). São as micotoxinas mais recentemente descobertas e constituem as principais micotoxinas da cultura do milho (RICHARD, 2007). As fumonisinias foram descritas pela primeira vez em 1988 por W. C. A. Gerderblom e, desde então, foram identificados 28 análogos, divididos em quatro grupos principais, identificados como séries A, B, C e P (RHEEDER et al., 2002). As da série B (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> e FB<sub>3</sub>) ocorrem com maior frequência e são as mais importantes do ponto de vista toxicológico. A FB<sub>1</sub> (Figura 5) é a fumonisina mais importante

do grupo desta série, pois está presente em maiores níveis no milho, sendo responsável por 70 a 80% do total de fumonisinas. Seus efeitos biológicos dependem da espécie animal afetada.

Levantamentos sobre a ocorrência natural de fumonisinas, principalmente em milho e derivados, revelam que a presença de FB<sub>1</sub> é elevada, podendo chegar a até 100% das amostras analisadas (THIEL et al., 1992; VISCONTI & DOKO, 1994; SHEPHARD et al., 1996; YOSHIZAWA et al., 1990; PITTET, 1998; KPODO et al., 2000; RODRÍGUEZ-AMAYA & SABINO, 2002; ALMEIDA et al., 2002). Sabe-se que o órgão alvo dessa micotoxina é o fígado, que ao ser afetado leva à icterícia e a lesões laranja-amareladas (VOSS et al., 1993; RHEEDER et al., 2002; DESJARDINS, 2006). Níveis altos de fumonisinas podem causar um extravasamento excessivo de fluido para os tecidos pulmonares, causando edema pulmonar. A presença dessas micotoxinas pode ser facilmente detectada através da relação entre os marcadores esfinganina e esfingosina no fígado, pâncreas e adrenais, usados para indicar a intoxicação por fumonisina e diferenciá-las de outras micotoxinas (GELDERBLOM et al., 1988)



**Figura 5.** Estrutura molecular de FB<sub>1</sub> Fonte: (DIAZ & BOERMANS, 1994).

As fumonisinas têm sido associadas a doenças animais, previamente conhecidas, como a leucoencefalomalácea equina e edema pulmonar suíno (LEESON; DIAZ; SUMMERS, 1995) e sua estrutura química permite que inibam a síntese de lipídios. Historicamente, os suínos foram considerados menos sensíveis a essas micotoxinas que outras espécies. Todavia,

recentemente têm-se identificado as fumonisinas como uma micotoxina importante na suinocultura (NELSON et al., 1992).

O gênero *Fusarium* tem ampla distribuição mundial e é encontrado tanto no solo quanto na superfície de plantas. Assim como acontece com os fungos do gênero *Aspergillus*, a contaminação de grãos e cereais pode ocorrer ainda no campo ou durante o armazenamento. O fungo desenvolve-se bem no milho em condições naturais, que, devido à dificuldade da colheita no estágio correto de maturação da planta e ao alto teor de umidade de armazenamento, encontra condições ideais para a produção das toxinas (LEESON et al., 1995).

As fumonisinas foram detectadas naturalmente em diversos tipos de alimentos e em vários países (Canadá, Egito, Peru, África do Sul, EUA), indicando a exposição do homem às micotoxinas em até 3 mg/kg (SYDENHAM et al., 1992). Nos Estados Unidos, Rottinghaus et al., (1992) encontraram concentrações de FB<sub>1</sub> entre 0,1 a 5,0 mg / kg em 15% das amostras de milho analisadas. Em outro trabalho, amostras de farelo de milho provenientes da mesma região produtora tiveram níveis detectados de até 2,8 mg/kg (HOLCOMB et al. 1993).

Devido sua predominância em regiões de clima tropical e subtropical, tem-se verificado no Brasil grande incidência dessa micotoxina, em níveis de contaminação bastante acentuados. Porém, ainda não existe legislação específica que determine o nível de contaminação considerado seguro para alimentos destinados a consumo humano e animal.

Yamaguchi et al. (1992) analisaram 39 lotes de milho colhidos na safra de 1990 e 1991, provenientes de quatro regiões produtoras no Estado do Paraná. A análise de fumonisinas por (HPLC) foi positiva em 97,4% das amostras para FB<sub>1</sub> e 4,8% para FB<sub>2</sub>. As concentrações das micotoxinas detectadas no milho variaram, conforme a região, de 0,6 a 12,6 mg / kg para FB<sub>1</sub> e 0,0 a 10,4 mg / kg para FB<sub>2</sub>. Hirooka et al. (1996) analisaram quarenta e oito amostras de milho também no Estado do Paraná e nove no Mato Grosso do Sul e Goiás, colhidas entre 1990 e 1991. Esses pesquisadores detectaram fumonisinas em todas as amostras colhidas no Paraná, com níveis que variavam, de acordo com a região, de 3,25 a 4,79 mg / kg de FB<sub>1</sub> e 2,34 a 3,45

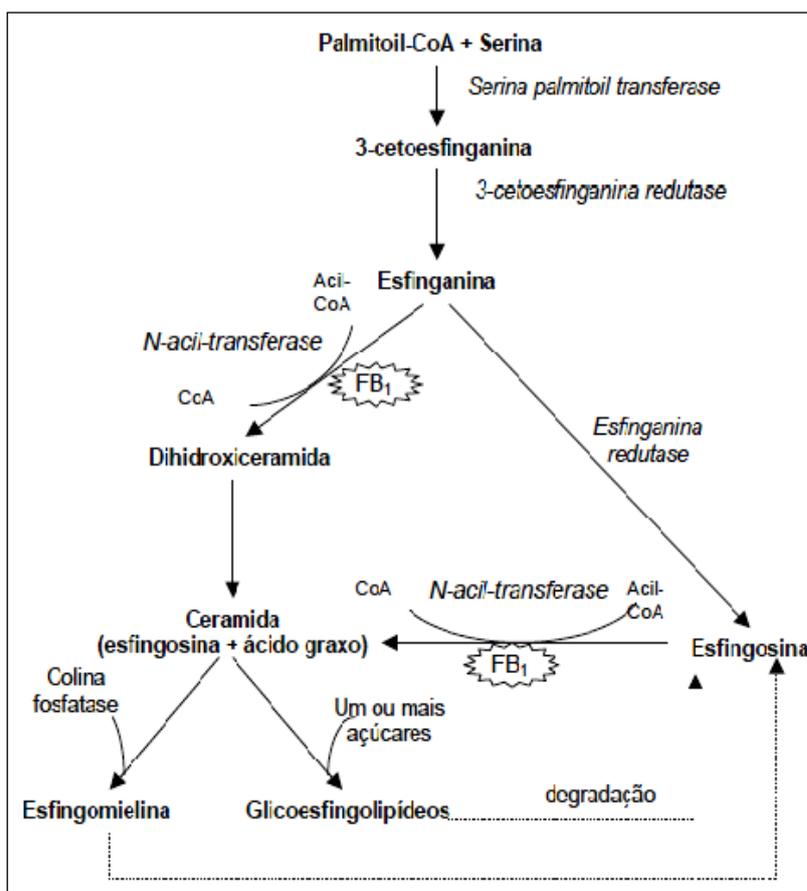
mg / kg para FB<sub>2</sub>. Com exceção de uma amostra proveniente do Estado de Goiás, as outras provenientes da região Central do Brasil também estavam contaminadas com FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub> (5,45 e 5,0 mg / kg, respectivamente). Mallmann et al., (1997) analisaram 169 amostras de alimentos entre os anos de 1996 e 1997 no Estado do Rio Grande do Sul, verificando contaminação por fumonisinas em 47,1% das amostras de milho, com concentração média de 8,4mg/kg. Orsi et al., (2000) mostraram a ocorrência natural de fumonisinas em 195 amostras de híbridos de milho no Estado de São Paulo, sendo 90,2% delas positivas para FB<sub>1</sub> e 97,4% para FB<sub>2</sub>. Os índices médios de contaminação foram de 9,72 mg/kg de FB<sub>1</sub> e 7,67 mg/kg de FB<sub>2</sub>. Diferenças regionais na concentração de fumonisina foram encontradas quando o mesmo milho híbrido foi analisado no Estado do Paraná, indicando interferências climáticas na predominância de linhagens toxigênicas de *Fusarium* (ONO et al., 2001).

### 3.7.1 Mecanismo de ação das Fumonisinias

As fumonisinas afetam os sítios de regulação celular, aparentemente independentes da interrupção do metabolismo de lipídios, provocando alteração da proliferação celular, comunicação célula-célula, adesão celular, velocidade de apoptose, indução do estresse oxidativo e modulação da expressão gênica (ONO & HIROOKA, 2003).

O mecanismo de ação das fumonisinas ainda não é perfeitamente conhecido (Figura 6). Wang et al., (1991) propuseram que a FB<sub>1</sub> poderia intervir na biossíntese de esfingolipídios ou *turnover* de esfingosina, porque existe uma similaridade da molécula de FB<sub>1</sub> com o complexo amino-álcool-esfingosina, que é um dos trinta ou mais aminoálcoois de cadeia longa encontrados nos esfingolipídios de várias espécies. Os esfingolipídios são complexos importantes para a manutenção da integridade da membrana celular e para a regulação de receptores de superfície celular, bombas de íons e outros sistemas vitais para o funcionamento e sobrevivência da célula

(LEESON et al., 1995). A inibição de biossíntese dos esfingolipídios pode ter um profundo efeito sobre a célula, uma vez que esses componentes são importante para a estrutura da membrana, a comunicação celular, a interação intracelular e matrix celular na regulação de fatores de crescimento, como mensageiro de vários fatores, incluindo fator de necrose de tumor, interleucina 1 e fator de crescimento de nervos (MERRILL et al., 1993).



**Figura 6:** Mecanismo proposto de ação tóxica das fumonisinas. Fonte: (DIAZ & BOERMANS 1994).

### 3.7.2 Micotoxicose nos suínos causada pelas fumonisinas

Os suínos são muito sensíveis à intoxicação por fumonisinas. Tal constatação tem sido observada em diversos surtos naturais e experimentais (HASCHEK et al., 1992; COLVIN & HARRISON, 1992; ROTTER et al., 1996). A biodisponibilidade da FB<sub>1</sub>, por via oral, é bastante baixa, ficando próxima de

4%. Atingindo os diferentes órgãos e tecidos, porém as maiores concentrações ocorrem no fígado e nos rins (PRELUSKY et al., 1996). Nos suínos, os principais órgãos-alvo são pulmão, fígado, coração e pâncreas, e a síndrome específica nessa espécie é o Edema Pulmonar Suíno (EPS) (HASCHEK et al., 1992; OSWEILER et al., 1992; SMITH et al., 2000). Tal alteração é decorrente da ingestão de altas doses da micotoxina por curtos períodos. Doses baixas da toxina induzem lesões hepáticas e lesões hiperplásicas na mucosa esofágica em suínos desmamados. As alterações hepáticas podem ser mensuradas pelo incremento da atividade das enzimas. Geralmente, ocorre progressivo aumento da atividade fosfatase alcalina sorbitol desidrogenase, aspartato aminotransferase e gama glutamyl traspesptidase (CASTEEL et al., 1993). A dose tóxica está diretamente relacionada à sensibilidade do suíno à micotoxina ingerida (SANTURIO, 2003).

### **3.8 Detoxificação de Micotoxinas na Alimentação de Suínos**

Para prevenir a contaminação da ração por micotoxinas, é necessário que se melhorem as práticas agrícolas. Para isso, deve-se, por exemplo, usar sementes de qualidade e livres de fungos, impedir o ataque de insetos e evitar enfermidades das plantas. O uso de sementes geneticamente modificadas e mais resistentes à contaminação fúngica também representa uma excelente possibilidade de redução ou ausência de micotoxinas em grãos. Durante o processo de colheita, é importante que se evite, ao máximo, atingir fisicamente o cereal, pois o dano mecânico está invariavelmente associado a uma rápida invasão de fungos. Outro fator importante no processo de colheita é a limpeza dos cereais, pois os resíduos que ficam aderidos ou misturados aos grãos, normalmente são portadores de espécies fúngicas micotoxigênicas. Além disso deve-se implantar boas práticas de armazenamento e condições ambientais que impeçam o ataque dos fungos nos grãos (QUILLIEN, 2002).

É de conhecimento que o comportamento microbiano frente à água é extremamente variável, sendo as bactérias mais exigentes quanto à

disponibilidade de água livre em relação aos fungos e leveduras. Os substratos com atividade de água ( $A_w$ ) inferior a 0,600 estão assegurados quanto à contaminação microbiana. Alimentos com alto teor de lipídeos, que apresentam atividade de água ( $A_w$ ) na faixa de 0,300 a 0,400, são mais estáveis à oxidação química e microbiana. A partir da atividade de água ( $A_w$ ) 0,650, começa a ocorrer a proliferação de microrganismos específicos, porém, até  $A_w$  0,750, somente algumas bactérias halofílicas (de desenvolvimento em terrenos salgados), leveduras osmofílicas e fungos xerofílicos (de desenvolvimento em ambientes secos) podem desenvolver-se (MALLMANN et al., 2006).

Mesmo em modernos sistemas de fabricação de rações, tem-se que encarar a realidade, aceitar o fato de que as rações contêm micotoxinas e que algo precisa ser feito a respeito. Para isso diversas substâncias tem sido testadas para o controle de micotoxinas a mais utilizada para diminuir a ação das micotoxinas é a física, em que se usam AAM não-nutritivos na ração (BELLAYER, 2006).

Sabe-se que o melhor método para controlar a contaminação por micotoxinas dos alimentos é a prevenção. Porém, quando o produto já está contaminado e vai ser usado como alimento, é necessário eliminar ou diminuir essa contaminação (MALLMANN & DILKIN, 2007).

A FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) instituiu uma série de critérios para determinar se o processo de descontaminação pode ser aceito. Tal processo consiste em: destruir, inativar ou eliminar a toxina; não produzir resíduos tóxicos ou carcinogênicos nos produtos finais, ou em alimentos obtidos a partir de animais que se alimentaram de uma dieta detoxificada; manter o valor nutritivo e a aceitabilidade do produto; não alterar as propriedades tecnológicas importantes de forma significativa; destruir todos os esporos e micélios fúngicos para que não possam, em condições favoráveis, proliferar e produzir novas micotoxinas (QUILLIEN, 2002).

### 3.8.1 Aditivos Antimicotoxinas

Os AAM são substâncias inertes que se unem de forma irreversível às micotoxinas, tornando-as inabsorvíveis pelo trato gastrintestinal dos animais, e naturalmente eliminadas (FÁVERO, 2008). São produtos de alto valor no setor farmacêutico, são usados como excipiente de medicamentos, na indústria petroquímica, como catalisadores entre outros. Na indústria de alimentação animal, o emprego de argilas selecionadas e processadas está sendo cada dia mais utilizado para o sequestro das micotoxinas, com o objetivo de reduzir a absorção destas pelo trato gastrointestinal de aves e suínos (MALLMANN et al., 2006).

Segundo Dawson (2002), o uso de AAM sintéticos e naturais em dietas contaminadas são estratégias mais práticas de controle dos efeitos tóxicos de micotoxinas sobre os animais; eles atuam reduzindo a captação da toxina pelo animal ou a sua biodisponibilidade, fazendo com que o animal elimine-a sem metabolização.

Para Smith (2002), adsorventes de micotoxinas à base de argilas são polímeros de alto peso molecular que, uma vez adicionados à ração, são capazes de formar complexos irreversíveis com as moléculas de micotoxinas na luz intestinal, os quais não são digeríveis e, portanto, passam diretamente pelo trato digestivo e são excretados nas fezes. Apresentando adsorção restrita. As aflatoxinas, zearalenona, ocratoxina e tricotecenos (toxina T - 2 e DON) são raramente afetados pelos AAM à base de argila, uma vez que estas micotoxinas não possuem os grupos polares funcionais necessários a uma adsorção química eficaz (SMITH, 2002).

Existe uma categoria denominada adsorvente misto, que são substâncias químicas capazes de adsorver diversos tipos de micotoxinas com o uso simultâneo de derivados de *Saccharomyces cerevisiae* e zeólitas, além de degradar micotoxinas através da adição de enzimas como epoxydases e lactonases em diatomitas (SMITH, 2002; SANTURIO, 2003).

Estudos *in vitro* mostraram que *S. cerevisiae* liga-se a micotoxinas, adsorvendo-as em 77%. Também outros trabalhos informam que o uso de um

polissacarídeo da parede celular dessa levedura (glicomananos esterificada), denominado de mananoligossacarídeo, pode ser eficiente como ligante de moléculas de micotoxinas. Já o uso de enzimas é recomendável para alterações nas estruturas moleculares dos tricotecenos, transformando-os em substâncias de toxicidade nula, visto que é bastante difícil a adsorção dessas micotoxinas devido à sua complexa estrutura química (MALLMANN & DILKIN, 2007).

Segundo Edwards (2002), a utilização de AAM à base de glucano modificado apresentaram melhora visível nos suínos em questão de dias. Os animais demonstraram maior apetite, vitalidade e recuperação do crescimento. Nos animais de recria, ocorreu redução da taxa de mortalidade das matrizes e menor número de descartes.

É consenso entre os pesquisadores que as características ideais de um bom AAM são: capacidade de adsorver grande variedade de micotoxinas, baixa inclusão efetiva na ração, dispersão rápida e uniforme na ração durante a mistura, estabilidade térmica durante a peletização, extrusão e armazenamento, baixa afinidade com vitaminas, minerais ou outros nutrientes, alta estabilidade em grande variação de pH, biodegradabilidade após a excreção e custo/benefício (QUILLIEN, 2002).

A escolha do sistema ideal, para detoxificação de rações, deve levar em consideração não somente a redução das micotoxinas, mas também o tipo de substância empregada para que não resulte em produtos tóxicos, tampouco reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados. Com o crescente problema da contaminação por micotoxinas, a adição na dieta de compostos AAM nutricionalmente inertes tem sido uma importante ferramenta. Os estudos *in vivo* são mais eficientes na avaliação da adsorção de micotoxinas e permitem avaliar a influência do AAM na digestibilidade de dietas e absorção de nutrientes. No entanto, os principais resultados foram obtidos em laboratório (AVANTAGGIATO et al., 2003).

## **MATERIAIS E MÉTODO**

---

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Local e Período**

O experimento foi realizado nas instalações da Empresa Agroindustrial Lusitana-Agrolusa, em São Luis/MA, durante os meses de setembro e outubro de 2009, e dividido em duas fases de 21 dias cada, sendo estas: pré-lactação e lactação.

### **4.2 Animais**

Foram selecionadas 36 matrizes suínas, clinicamente saudáveis, de terceiro a quinto ciclo de produção, da linhagem Camborough/AGROCERES, alojadas em gaiolas / individuais de 0,61 m x 2,0 com peso médio de 275,3 kg. Os critérios de seleção das matrizes foram: peso corporal e aparência, visando buscar a uniformidade dos lotes a serem avaliados. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com dois tratamentos, e cada animal representou uma unidade experimental. As matrizes escolhidas foram submetidas ao teste T ( $P > 0,05$ ) e Teste de normalidade (Cramer – Von Mises). As diferenças apresentadas entre os grupos não foram significativas ( $p > 0,81$ ) em relação ao peso, mostrando a uniformidade entre os tratamentos.

Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais constituídos dos seguintes tratamentos:

- a) Tratamento um ( $T_1$ ): composto por 18 matrizes alimentadas com dieta naturalmente contaminada com ZEA e Fumonisina ( $B_1$  e  $B_2$ ) mais 2,0 kg / t de AAM.
- b) Tratamento dois ( $T_2$ ): composto por 18 matrizes alimentadas com dieta naturalmente contaminada com ZEA e Fumonisina ( $B_1$  e  $B_2$ ).

### 4.3 Dietas

As dietas experimentais foram formuladas pela AGROCERES, de acordo com as exigências nutricionais das matrizes nas fases de pré-lactação e lactação, com e sem o uso do AAM. Elas foram oferecida aos animais duas vezes ao dia (3 kg / diário), ficando essas alojadas nas mesmas condições de ambiente (temperatura e umidade) e tendo acesso *ad libitum* à água fornecida nos bebedouros tipo *nipple*.

A composição das dietas das matrizes nas fases de pré-lactação e lactação, estão na Tabela 1, a baixo.

**Tabela 1.** Composição das dietas de matrizes suínas, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, nas fases de pré-lactação e lactação, segundo a AGROCERES, durante os 42 dias de experimento

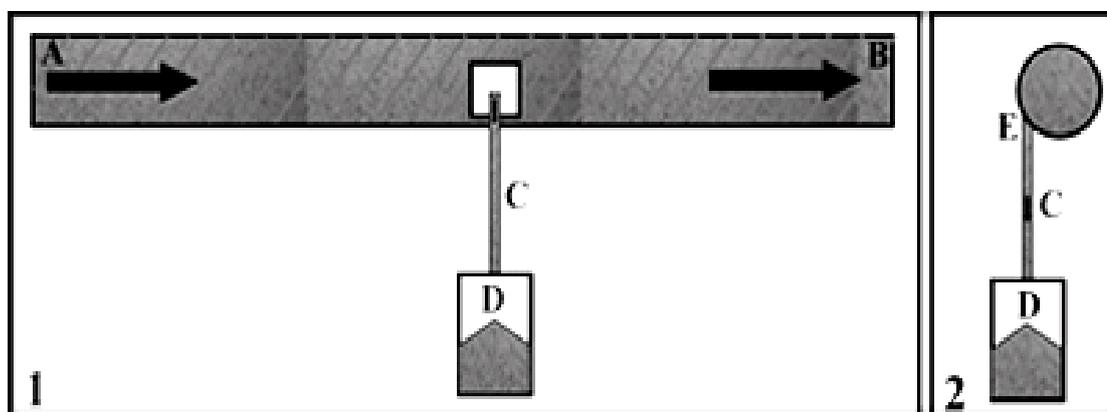
Componentes da ração	Dietas experimentais			
	Pré-lactação		Lactação	
Ingrediente %	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Milho	38,02	38,02	49,59	49,59
Soja	21,8	21,8	27,2	27,2
Casca	15	15	3	3
Açúcar	-	-	3	3
Lactopic	-	-	10	10
Núcleo	3	3	3	3
Max adv	-	-	0,5	0,5
Bicabor	-	-	0,3	0,3
Pig cãs	0,1	0,1	0,1	0,1
Lisina	-	-	0,12	0,12
Óleo	1,77	1,77	3	3
Metionina	0,1	0,1	-	-
Min org	0,1	0,1	-	-
Sorgo	19,9	19,9	-	-
AAM*	0,2	-	0,2	-
Total	100	100	100	100

\* - Eubactérium spp, Bentonita, Diatomita, Algas marinhas desidratadas e moídas, Levedura inativada e subprodutos vegetais. *Sanphar*, Campinas-SP.

#### 4.4 Plano amostral para coleta de ração e identificação das micotoxinas, atividade de água ( $A_w$ ) e contaminação fúngica (ergosterol)

Visando obter amostras representativas, elaborou-se na granja o monitoramento da fábrica de ração e instalou-se um plano de amostragem automática (“Furo na Rosca” - LAMIC) (LAMIC, 2009) para a coleta das amostras e envio ao laboratório.

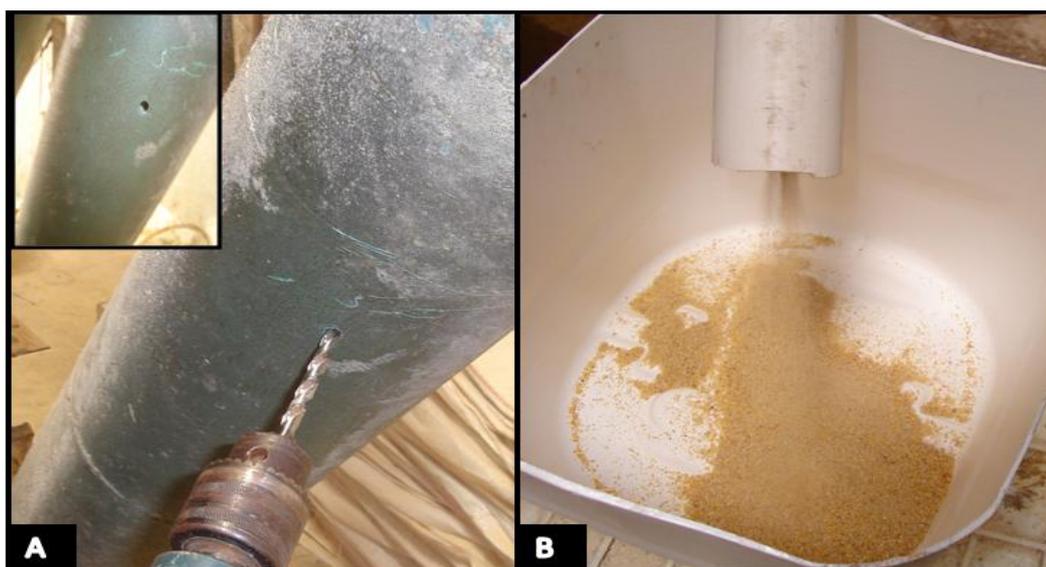
De acordo com a Figura 7, considera-se que o fluxo da matéria-prima (ou ração) se dá de A para B em uma rosca sem-fim. A amostra é transportada por um tubo de PVC com diâmetro de uma polegada ou mais (C), acoplado à rosca num ângulo de 45° (E) e armazenada em um container (D) de dimensões suficientes para recolher a quantidade de incrementos resultantes da fórmula. O furo (E) onde é acoplado o tubo deve ter um diâmetro entre 5 e 15 mm, conforme a quantidade a ser coletada. A coleta da amostra é contínua e ocorre enquanto houver fluxo de matéria-prima ou ração através da rosca. O recipiente D deve ser esvaziado em outro recipiente maior para evitar parada do fluxo no tubo coletor C. Ao final, toda matéria-prima ou ração coletada neste sistema deve ser homogeneizada e dela extraída as amostras para serem enviadas ao laboratório (LAMIC, 2009).



**Figura 7.** Esquema do plano amostral “Furo na Rosca”-LAMIC, instalado durante o monitoramento da fábrica de ração, para coleta de ração a ser enviada ao LAMIC, para a pesquisa de micotoxinas, ergosterol e  $A_w$ . Fonte: [www.lamic.com.br](http://www.lamic.com.br).

#### 4.5 Coleta e envio da ração ao laboratório

Foram realizadas seis coletas semanais de ração (Figura 8). Essas amostras foram enviadas ao LAMIC - UFSM (Laboratório de Análises Micotoxicológicas), para serem pesquisadas micotoxinas de importância na suinocultura (Aflatoxinas, Zearalenona, Fumonisinias e DON), além da atividade de água ( $A_w$ ) das amostras e da quantificação da massa de Ergosterol para determinação do nível de contaminação fúngica.



**Figura 8.** Sistema amostral *Furo na rosca* implantado na fábrica de ração da granja para coleta das amostras. A- Orifício acoplado no condutor da ração num ângulo de 45<sup>o</sup> graus, em detalhes orifício à esquerda. B- Coleta da matéria-prima amostral.

##### 4.5.1 Análise Laboratorial da ração

As análises para detecção de micotoxinas foram feitas por (HPLC), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Conjunto de Fotodiodos (UV - DAD) e espectrometria de massas sequenciadas (MS ou MS / MS), antecedida de processos de extração, purificação, derivatização ou diluição e injeção automatizados, como descritos por RAYMOND et al., (2003). A atividade de água foi analisada por Aqualab e o Ergosterol foi analisado por HPLC acoplada ao detector de UV-DAD utilizando-se metodologia adaptada às

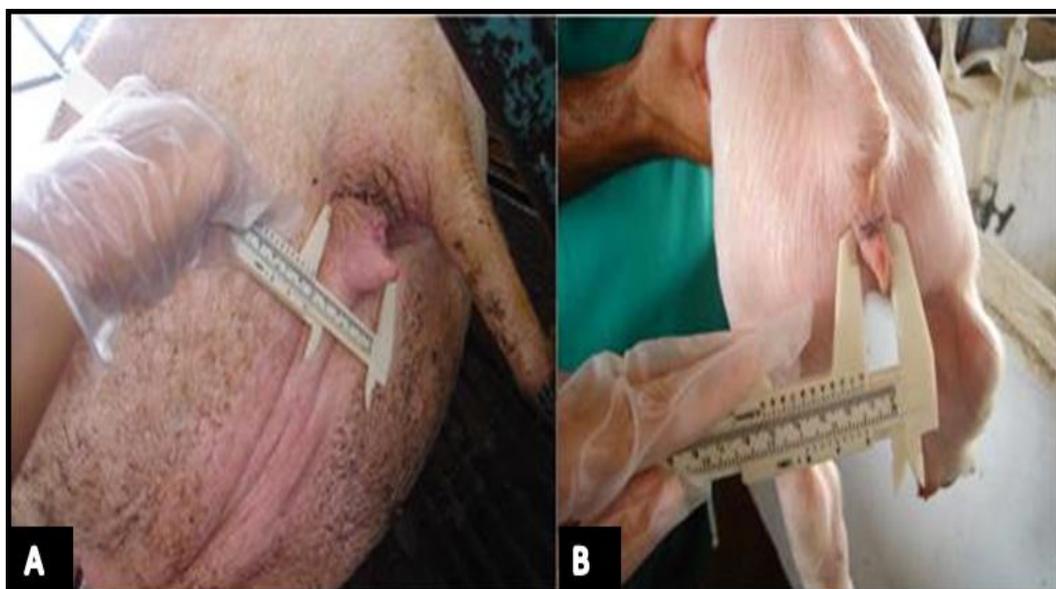
técnicas preconizadas por MILLER et al., (1983), NAEWBANIJ et al., (1984) e SCHNÜRER, (1991).

#### 4.6 Desempenho reprodutiva das matrizes (nascidos vivos, natimortos e mumificados, peso ao nascer e ao desmame)

A contagem dos leitões nascidos vivos, natimortos e mumificados foram realizadas no momento do parto, e as informações anotadas nas fichas de controles. Foi realizada, também, a pesagem dos leitões aos nascer e no desmame, com o auxílio de uma balança digital, e as informações, anotadas nas fichas de controle.

#### 4.7 Volume vulvar

Para avaliação do volume vulvar das matrizes e das leitoas, utilizou-se um paquímetro e realizou-se as medição das distâncias vertical, horizontal e profundidade (Figura 9), no momento do desmame, estimado pela multiplicação das três medidas anteriores, e transferido para as fichas de controle.



**Figura 9.** Verificação do volume vulvar das matrizes e leitoas, respectivamente. A- medição em matriz e B- medição em leitoa.

## 4.8 Análises laboratoriais do soro sanguíneo

### 4.8.1 Colheita e preparação das amostras de sangue

Foram coletadas amostras de 10 mL de sangue mediante venopunção jugular das matrizes suínas em duas etapas. A primeira realizada no início do experimento em 13 matrizes escolhidas aleatoriamente. A segunda em 26 matrizes no final do experimento (momento da desmama): 13 do Tratamento T<sub>1</sub> e 13 do Tratamento T<sub>2</sub>. Após a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 900g e fracionadas em duas alíquotas. Uma para análise bioquímica, realizada no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, e a outra para análises de fracionamento de proteínas, realizada no Laboratório de Apoio a Pesquisa de Patologia Clínica e Cirurgia da Universidade Estadual Paulista (Júlio Mesquita Filho) - UNESP, Campus Jaboticabal.

### 4.8.2 Bioquímica sérica

Foram avaliadas as concentrações séricas de cálcio total (método Labtest)<sup>1</sup>, fósforo (método de Basques-Lustosa), magnésio (método Labtest)<sup>1</sup>, ferro (método de Goodwil), cálcio ionizado, sódio, e potássio (pelo método de íons seletivos), proteína total (método do biureto), albumina (método do azul de bromocresol), bilirrubina total e direta (método Sims - Horn), bem como o teor plasmático de glicose (método da ortotoluidina), colesterol (método enzimático-Trinder) e as atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase - AST (método Reitman - Frankel), gamaglutamiltransferase - GGT (método de Szasz modificado) e fosfatase alcalina - ALP (método Labtest)<sup>1</sup>. Para a realização dos testes, foram utilizados reagentes comerciais<sup>1</sup>; as leituras dos parâmetros bioquímicos foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático, em comprimentos de onda específicos para cada constituinte, e em dosador de

íons seletivos<sup>2</sup>, realizada no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA.

O proteinograma sérico foi obtido pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS - PAGE), conforme técnica descrita por Laemmli (1970). Após o fracionamento, o gel foi corado durante 10 minutos em solução de azul de *coomassie*, constituída de metanol (50%), água (40%), ácido acético glacial (9,75%) e azul de *coomassie* (0,25%). Em seguida o gel foi colocado em solução de ácido acético 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações proteicas se apresentassem nítidas. As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado<sup>3</sup>. Como referência foi utilizada uma solução marcadora<sup>4</sup> com pesos moleculares de 20.000, 24.000,00 29.000, 36.000, 45.000, 55.000, 66.000, 97.000, 116.000 e 205.000 dáltons, bem como as proteínas purificadas albumina, IgG, haptoglobina,  $\alpha_1$ -antitripsina, ceruloplasmina, transferrina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida.

#### 4.9 Análise Estatística

As variáveis quantitativas foram submetidas à análise estatística pelo programa computacional *Statistical Analysis System* (SAS – Versão 9.1). As comparações das médias pelo teste T (amostras pareadas) ao nível de 5% de significância ( $P < 0,05$ ).

<sup>2</sup>Analisador de eletrólitos Roche, São Paulo-SP

<sup>3</sup>Densitometer CS9301-Shimadzu, Tokyo-Japan.

<sup>4</sup>Sigma – Saint Louis, USA

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análises da ração

Os resultados para as micotoxinas pesquisadas, níveis de contaminação fúngica (pela quantificação do ergosterol) e atividade de água, estão representados na Tabela 2. O resultado para as fumonisinas foi considerado o somatório de FB<sub>1</sub> + FB<sub>2</sub>.

**Tabela 2.** Micotoxinas, ergosterol e atividade de água (A<sub>w</sub>), presentes nas dietas das matrizes suínas, nas seis amostras de ração analisadas, durante os 42 dias de experimento

Semanas	Ergosterol (mg/kg) <sup>a</sup>	DON <sup>b</sup>	AFL <sup>c</sup>	Zearalenona (mg/kg) <sup>d</sup>	FB <sub>1</sub> +FB <sub>2</sub> <sup>e</sup>	A <sub>w</sub> <sup>f</sup>
01	3,8	ND	ND	0,65	5,11	0,60
02	2,70	ND	ND	0,63	0,24	0,60
03	2,70	ND	ND	0,30	3,76	0,62
04	0,32	ND	ND	0,20	1,9	0,60
05	1,20	ND	ND	0,43	0,52	0,58
06	0,32	ND	ND	0,16	1,39	0,63
Média	1,84	ND	ND	0,40	2,16	0,60

<sup>a</sup> - mg / kg = ppb; <sup>b</sup> - Desoxyvalenol; <sup>c</sup> - Aflatoxina; <sup>d</sup> - Zearalenona; <sup>e</sup> - Fumonisinas B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub>; <sup>f</sup> - atividade de água; ND- não determinado.

Das quatro micotoxinas pesquisadas, nas seis amostras de ração, foram encontradas a ZEA e Fumonisinas. Os níveis de ZEA encontrados apresentaram variações de 0,16 mg / kg a 0,65 mg / kg, com uma média de 0,40 mg / kg enquanto que os níveis de Fumonisinas variaram de 0,24 mg / kg a 5,11 mg / kg, com uma média superior a 2,16 mg / kg. As maiores concentrações de ZEA e Fumonisinas foram encontradas na primeira semana do experimento.

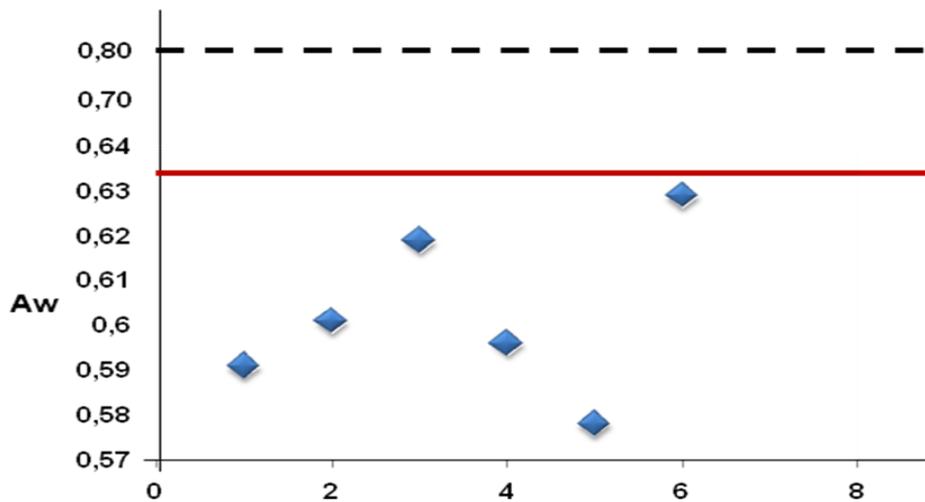
Os resultados encontrados para a ZEA demonstraram que a ração pode desencadear micotoxicoses nesses animais, pois segundo Mallmann & Dilkin (2007) a intoxicação por ZEA se manifesta geralmente com concentrações acima de 0,1 mg / kg de ZEA. Quanto às Fumonisinas, a ração está com

elevada contaminação, pois a quantidade média de 2,11 mg / kg encontrada é suficiente para desencadear intoxicação por este metabólito secundário (ROTTER et al.,1997; MALLMANN & DILKIN, 2007).

É importante considerar que a origem do milho é desconhecida e que o aparecimento de Zearalenona nos alimentos está ligado a condições ambientais favoráveis. Temperaturas de 20 a 25° C favorecem o crescimento do fungo, porém temperaturas relativamente mais frias (8 a 14° C) são requeridas para uma ótima produção de ZEA. O clima onde foi realizado o experimento tem temperaturas variando de 25 a 32° C. Isso permite inferir que a origem do milho utilizado em nosso experimento veio de um local de clima frio. Já as fumonisinas necessitam de climas com temperaturas amenas (15 a 25° C), sugerindo que esse metabólico pode ter sido produzido no local do experimento.

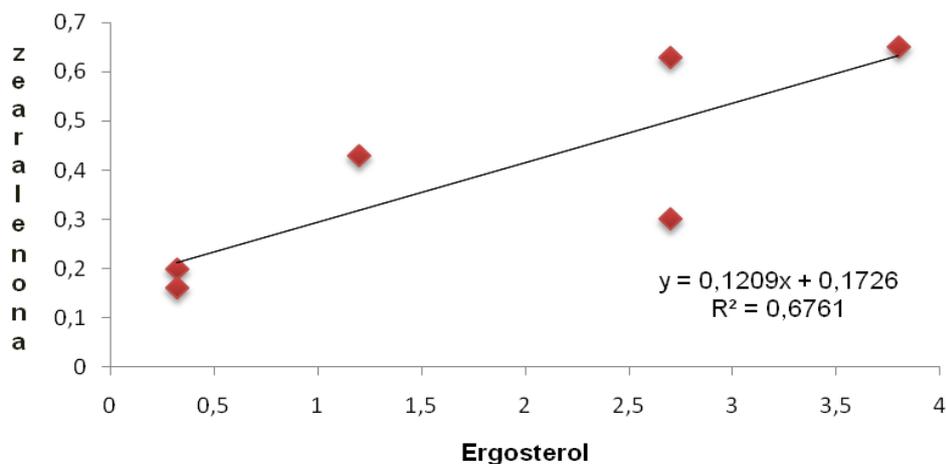
Os níveis de ergosterol obtidos das seis amostras de milho, naturalmente contaminadas, variaram de 0,32 mg / kg a 3,8 mg / kg, apresentando uma média geral superior a 1,84 mg / kg (Tabela 2). Apenas a primeira amostra apresentou índices de contaminação maiores de 3 mg / kg, indicativo de contaminação fúngica e qualidade duvidosa da ração, conforme conclusões de Seitz & Pomeranz (1983) onde eles consideraram milho saudável aqueles que contêm quantidade de ergosterol inferior a 3 mg / kg. A concentração máxima de ergosterol encontrada em amostra de ração no presente trabalho, em todos os casos não atingiu limites máximos detectados por YOUNG (1995) (92,9 mg / kg) e SEITZ *et al.* (1977) (200 mg / kg) em grãos de milho severamente afetados. A concentração média de ergosterol encontrada na ração indica baixo desenvolvimento fúngico.

A atividade de água ( $A_w$ ) obtida nas seis amostras de ração foi em média de 0,6 (Tabela 2). Os dados de atividade de água obtidos pelas amostras das dietas estavam abaixo do valor considerado mínimo ao crescimento fúngico e a produção de micotoxinas, indicando estabilidade para o armazenamento. Estes resultados estiveram abaixo do intervalo de 0,65 a 0,75  $A_w$ , onde inicia a proliferação de leveduras e fungos (BEAUCHAT, 1983) como especifica a Figura 10.

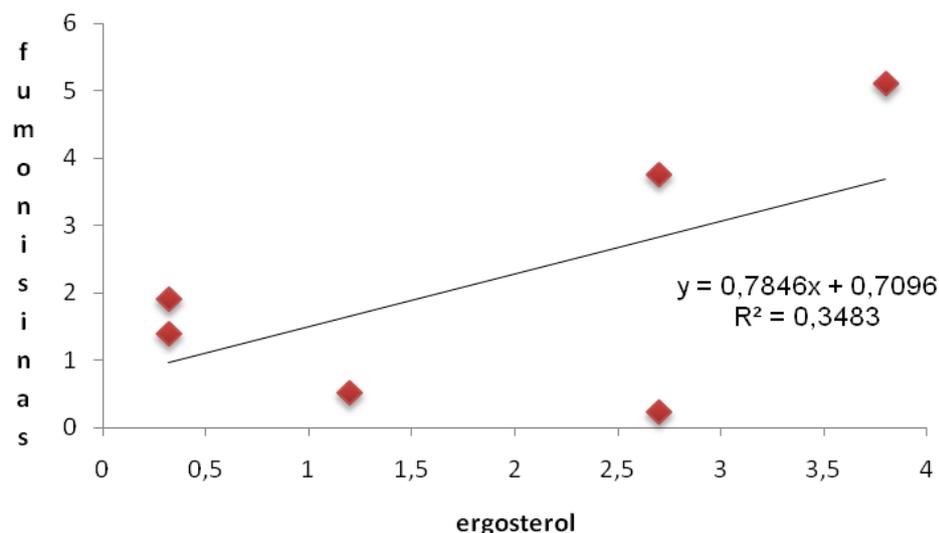


**Figura 10.** Valores da atividade de água encontrados na dieta, evidenciado na linha contínua, o valor necessário para o crescimento fúngico e proliferação de micotoxinas, na linha tracejada.

A correlação entre a concentração de ergosterol e presença de Zearalenona nas amostras de ração foi moderada, ficando em torno de  $r = 0,6761$ , indicando que a quantidade de ZEA presente nas amostras depende parcialmente da concentração de massa fúngica presente (Figura 11). Já a correlação entre a concentração de ergosterol e presença de fumonisinas nas amostras de ração baixa, ficando em torno de  $r = 0,3483$ , indicando que a quantidade de fumonisinas presente nas amostras não depende consideravelmente da concentração de massa fúngica presente (Figura 12).



**Figura 11.** Coeficiente de correlação entre os níveis de ergosterol (mg/kg) e zearalenona, encontrados nas seis amostras da ração naturalmente contaminadas.



**Figura 12.** Coeficiente de correlação entre os níveis de ergosterol (mg/kg) e as fumonisinas, encontrados nas seis amostras da ração naturalmente contaminadas.

## 5.2 Volume vulvar

Observou-se diferenças ( $P < 0,0181$ ) no volume vulvar das matrizes entre os tratamentos  $T_1$  e  $T_2$ , após 42 dias de experimento, como pode ser observado na Tabela 3. Esses resultados diferem dos estudos de Long et al. (1982), nos quais afirmam que diferentemente de animais pré-púberes, sinais externos de hiperestrogenismo geralmente não são observados em fêmeas suínas durante a gestação e a lactação. Assemelham-se, aos trabalhos de Rainey et al. (1990), Andretta et al. (2008), onde afirmam que ocorre o aumento no volume de vulva de leitoas alimentadas com dietas contendo 2 mg / kg de ZEA. Green et al. (1990), utilizando concentrações mais elevadas de 10 mg / kg demonstraram também sinais de hiperestrogenismo.

Foi observado neste trabalho sinais clínicos (prolapso uterino e de reto) sugestivos de intoxicação por ZEA nas matrizes em ambos os tratamentos, porém em maior intensidade nas matrizes do T<sub>2</sub>, como mostra a Figura 13.

**Tabela 3.** Médias e desvios-padrão do volume vulvar das matrizes ajustado entre os tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, após 42 dias de experimento

TRAMAMENTOS	n*	$\bar{x} \pm s$
T <sub>1</sub>	17	136,17±44,86 <sup>A</sup>
T <sub>2</sub>	10	257,39±191,33 <sup>B</sup>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna não diferem pelo teste T (P>0,05); n\*: número de matrizes. Teste de normalidade (Cramer – Von mises: W-0,05; P>0,25); F= 6.40; P>0,0181.

Como nesse experimento o interesse concentrou-se na eficiência de AAM sobre adsorção em micotoxinas, pode-se dizer que a quantidade de 2 kg / t do AAM utilizada, provavelmente influenciou na morfologia vulvar das matrizes.

Nas leiteas provenientes das matrizes dos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, o volume vulvar após os 21 dias de nascidas, apresentou diferenças (P<0,001). Estes resultados podem ser observados na Tabela 4. As diferenças encontradas estão, provavelmente, associadas à ação do AAM adicionado à dieta das matrizes que, conseqüentemente, diminuiu as concentrações de micotoxinas excretadas no leite. Achados semelhantes foram obtidos por McNutt, (1928) e Pullar, (1937). Mallman & Dilkin (2007) observaram que um composto estrogênico produzido por *Fusarium sp* pode ser excretado no leite e causar hiperestrogenismo em leitões lactentes.

**Tabela 4.** Médias e desvios-padrão do volume vulvar verificado, das leitoas, aos 21 dias (desmame), oriundas das matrizes dos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>

TRATAMENTOS	n*	$\bar{x} \pm s$
T <sub>1</sub>	77	0,52±0,33 <sup>A</sup>
T <sub>2</sub>	46	0,78±0,31 <sup>B</sup>

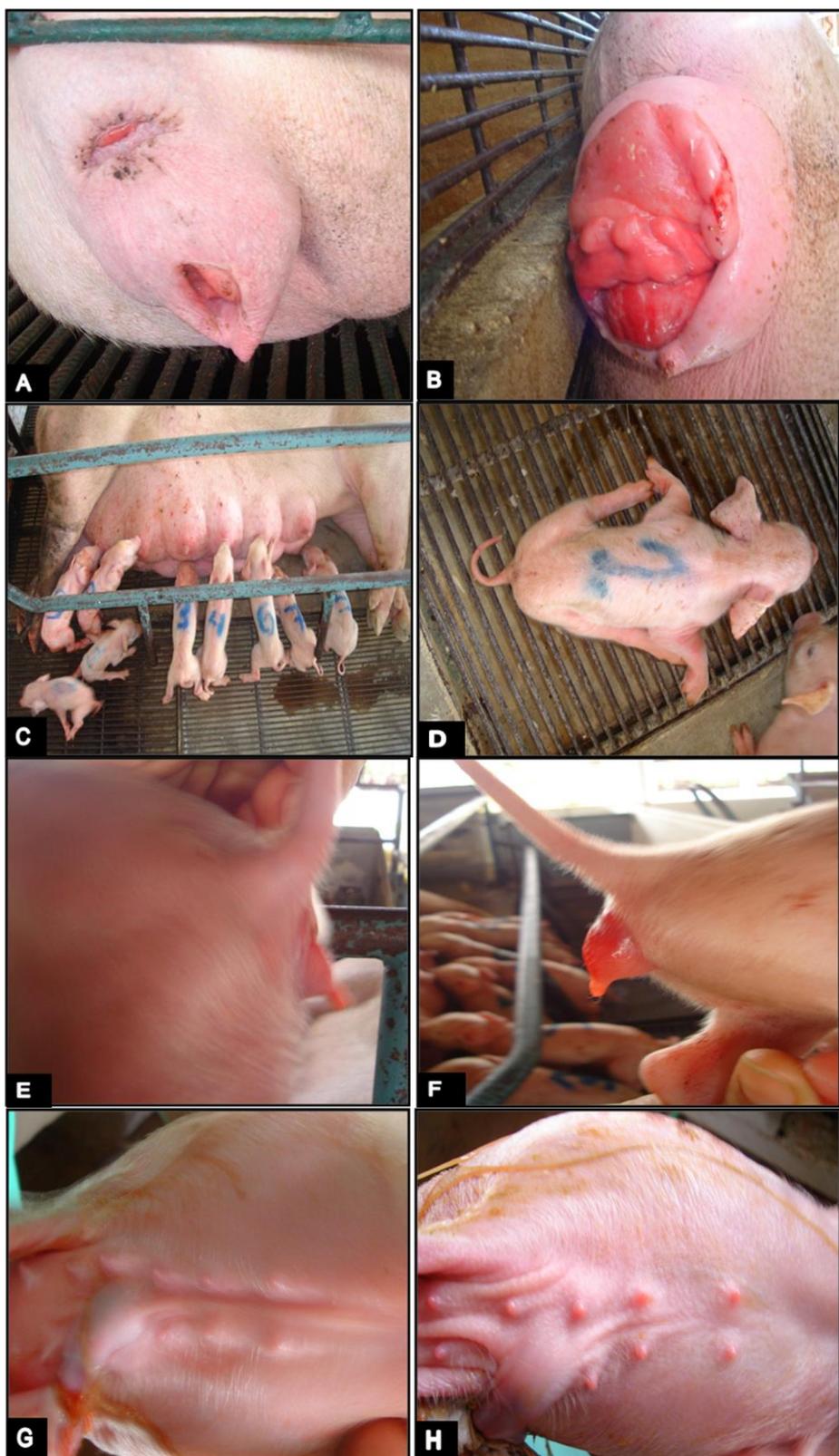
Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem pelo teste T (P>0,05); n\*: número de leitoas. Teste de normalidade (Cramer – Von mises: W=0,05;; P>0,25); F= 17.78; P<0,001.

Assim o volume vulvar foi 150% maior (P<0,001) nas leitoas oriundas das matrizes do tratamento T<sub>2</sub> em relação às leitoas das matrizes do tratamento T<sub>1</sub>, demonstrando a ação positiva do AAM sobre os efeitos de hiperestrogenismo causado pela ZEA nas matrizes.

Foram observados sinais clínicos na leitegada (hiperemia de vulva e aumento de mamilo) sugestivos de hiperestrogenismo, em ambos os tratamentos, porém, em maior intensidade no tratamento T<sub>2</sub>, como mostra a Figura 13. Observações semelhantes foram obtidas por Long et al. (1982), McNutt et al. (1928) e Ldoux et al. (1999).

Estes resultados são sugestivos de manifestações estrogênicas da ZEA que, em geral, são bastante pronunciadas em fêmeas suínas (MALEKINEJAD et al., 2006) e podem estar associada à produção predominante de  $\alpha$ -zearalenol em suínos, e com à maior afinidade desse metabólito pelos receptores estrogênicos, o que justifica a alta sensibilidade da espécie à micotoxina (MALEKINEJAD et al., 2006).

Devido ao aumento do volume vulvar das matrizes e leitoas, observado neste estudo e em outros, a avaliação do volume desse órgão pode ser uma ferramenta importante para avaliação da atividade estrogênica da ZEA na espécie suína.



**Figura 13.** Sinais clínicos sugestivos de intoxicação por ZEA. (A e B)- Matrizes do tratamento T<sub>2</sub> com prolapso retal e prolapso vaginal. (C e D)- Leitões com *splayleg*, oriundos de matrizes do tratamento T<sub>2</sub>. (E)- Leitoinha recém-nascida com hiperemia de vulva, oriunda de matriz do tratamento T<sub>1</sub>. (F)- Leitoinha recém-nascida com hiperemia de vulva, oriunda de matriz do tratamento T<sub>2</sub>. (G)- Leitão com aumento de mamilo, oriundo de matriz do tratamento T<sub>1</sub>. (H)- Leitão com aumento de mamilo, oriundo de matriz do tratamento T<sub>2</sub>.

### 5.3 Desempenho reprodutivo

Os resultados do desempenho reprodutivo para as quantidades de leitões nascidos vivos, natimortos e mumificados estão ilustrados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Médias e desvio padrão da quantidade de nascidos vivos, natimortos, mumificados dos leitões das matrizes suínas nos grupos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS	$\bar{x} \pm s$
Nascidos vivos <sup>1</sup>	T <sub>1</sub>	10.22±2.96 <sup>A</sup>
	T <sub>2</sub>	10.16±3.68 <sup>A</sup>
Natimortos <sup>2</sup>	T <sub>1</sub>	0.72±1.07 <sup>A</sup>
	T <sub>2</sub>	0.77±1.00 <sup>A</sup>
Mumificados <sup>3</sup>	T <sub>1</sub>	0.22±0.54 <sup>A</sup>
	T <sub>2</sub>	0.61±0.84 <sup>A</sup>

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem pelo teste T ( $P > 0,05$ ). Teste de normalidade (Cramer – Von mises: W=0,05; 1- F= 0,00;  $p > 0,96$ ; CV=32.77;  $R^2 = 0,0007$ ; 2 - F= 0.03;  $p > 0.87$ , CV=138.56;  $R^2 = 0.0007$ ; 3- F=2.66;  $p > 0.11$ , CV=171.63;  $R^2 = 0.07$ .

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Pode-se verificar que o uso do AAM não influenciou nesses parâmetros reprodutivos das matrizes. Supõe-se que a quantidade de micotoxinas presentes na dieta não tenha sido suficiente para afetar ou que a quantidade do AAM utilizado tenha sido em quantidade insuficiente.

Poucos experimentos concentraram-se na avaliação dos efeitos da ZEA durante a lactação. Alguns autores como Etienne & Dourmad (1994) e Long & Diekman, (1984) utilizando níveis inferiores a 30 mg / kg de ZEA, observaram que essa quantidade não afeta significativamente a sobrevivência fetal. Outros, como Díaz - Llano & Smith (2009), consideram essa quantidade suficiente para afetar a sobrevivência embrionária.

Este estudo assemelhou-se ao de Edwards (2002) o qual afirma que leitões de matrizes cuja dieta contenha 10 mg / kg de ZEA, dos 14 até 28 dias

de lactação, não afeta a leitegada. Difere de Miller et al. (1973), que ao observarem animais alimentados com ração naturalmente contaminada com fusariotoxinas, constataram que a quantidade de natimortos foi maior em relação ao grupo de animais contaminados com a adição de um AAM.

Apesar dos resultados não significativos como mostra a Tabela 5, foi observado neste estudo leitões com *splayleg* na leitegada das matrizes do tratamento T<sub>2</sub>, como mostra a Figura 13. O que está de acordo com Etienne & Dourmad (1994), que afirmam que a ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium* faz com que fêmeas produzam leitegadas menores, com número variável de leitões com “splayleg”.

Os resultados para o peso dos leitões ao nascer, ao desmame e o ganho de peso estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Médias e desvios-padrão do peso dos leitões ao nascer, ao desmame e o ganho de peso dos leitões originados das matrizes suínas nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS	n*	$\bar{x} \pm s$
Peso ao nascer <sup>1</sup>	T <sub>1</sub>	175	1517,21±336,67 <sup>A</sup>
	T <sub>2</sub>	183	1491,50±339,4 <sup>A</sup>
Peso ao desmame <sup>2</sup>	T <sub>1</sub>	132	5249,81±1281,83 <sup>A</sup>
	T <sub>2</sub>	117	4721,58±1354,75 <sup>B</sup>
Ganho de peso <sup>3</sup>	T <sub>1</sub>	132	3692,64±1231,16 <sup>A</sup>
	T <sub>2</sub>	117	3252,58±1224,59 <sup>B</sup>

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem pelo teste T (P>0,05). Teste de normalidade (Cramer – Von mises: W-0,05; P>0,25); n\*: número de leitões; 1- F= 0,52; p>0,47; CV=22,48; R<sup>2</sup>= 0,001; 2 - F= 9,98; p<0,0018, CV=26,32; R<sup>2</sup>= 00,04; 3- F=7,98; p=0,005, CV=35,23; R<sup>2</sup>= 0,03.

Observou-se que não houve diferenças significativas ( $p > 0,47$ ) entre os tratamentos em relação ao peso ao nascer. Esse resultado não significativo entre os tratamentos é justificado, uma vez que não ocorreu diferenças significativas entre os tratamentos realizados, relacionados às quantidades de leitões nascidos vivos, natimortos e mumificados (Tabela 5).

Foram observadas diferenças significativas nos parâmetros de peso ao desmame ( $p < 0,0018$ ) e ganho de peso ( $p < 0,005$ ).

Entre os tratamentos, os resultados demonstraram ainda que as dietas contaminadas com fusariotoxinas podem ter efeitos significativos sobre o peso ao desmame e o ganho de peso em leitões durante a lactação. Pode-se atribuir também que o uso do AAM nas matrizes, na quantidade de 2 kg / t, atuou de forma positiva nesses parâmetros.

Poucos experimentos concentraram-se na avaliação do uso de AAM misto (com composição multivalente). A maioria se concentra em avaliar AAM específicos para tipos determinados de micotoxinas.

O nível médio de ZEA encontrado (0,4 mg / kg) foi suficiente para desencadear sintomatologia clínica, o que está de acordo com Mallmann & Dilkin, (2007) em que demonstraram que 0,1 mg / kg é suficiente para desencadear intoxicação em suínos. Porém Rotter et al. (1997) relataram que concentrações de 0,4 mg / kg de ZEA não deveria alterar significativamente o desempenho de suínos. James & Smith (1982) determinam que a quantidade mínima necessária para produzir hiperestrogenismo em suínos é de 1 mg / kg.

É preciso considerar que, em contaminações naturais, a presença de ZEA está geralmente associada ao sinergismo com outras fusariotoxinas (SMITH et al., 1997), como as fumonisinas e que, nessas condições, pode haver redução no consumo de ração, ocasionando dessa forma efeitos negativos no desempenho reprodutivo dos animais (DOLL et al., 2005). Groten et al. (1998) e Tajima et al. (2002) estudaram essa interação entre as micotoxinas e os resultados mostraram que a exposição combinada a diferentes classes de micotoxinas geralmente conduzem a um efeito aditivo e que a interação entre ZEA e FB<sub>1</sub> foi interpretada como sinérgica em seu estudo.

## 5.4 Bioquímica do sangue

Os resultados das atividades séricas de gamaglutamiltransferase – GGT, fosfatase alcalina – ALP e aspartato aminotransferase - AST estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Médias e desvios-padrão das atividades séricas de gamaglutamiltransferase- GGT, fosfatase alcalina-ALP e aspartato aminotransferase-AST de matrizes suínas no início e aos 42 dias de experimento, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS	PERÍODOS	
		Início (1º dia)	Término (42º dias)
GGT (U/L)	T <sub>1</sub>	116.54±64.64 <sup>a</sup>	73.14±56.58 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		90.64±69.35 <sup>Aa</sup>
ALP (U/L)	T <sub>1</sub>	76.34±198.64 <sup>a</sup>	28.98±21.82 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		38.17±49.46 <sup>Aa</sup>
AST (U/L)	T <sub>1</sub>	164.81±119.95 <sup>a</sup>	52.65±17.22 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		121.30±80.76 <sup>Aa</sup>

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05).

Observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> quanto à atividade sérica das enzimas GGT, ALP e AST, resultado que permite inferir que a inclusão do AAM na dieta das matrizes suínas não foi um fator determinante de alteração na função hepática, pelo menos em grau suficiente para diminuir a quantidade dessas enzimas no soro sanguíneo. É importante relatar que as atividades séricas dessas enzimas estavam apresentando valores médios acima do limite superior de normalidade para suínos (GGT - U/L; ALP – 21 U/L; AST - 21,6 U/L), segundo Kaneco et al. (1997), desde o início do experimento, independente dos tratamentos. Esses resultados corroboram as afirmações de Haschek et al. (2001) e Mallmann & Dilkin (2007)), ou seja, dietas naturalmente contaminadas por fusariotoxinas,

consumidas por período prolongado, podem resultar em acúmulo de resíduos potencialmente tóxicos no fígado, causando um quadro de hepatotoxicidade crônica nos animais. Não desconsiderando o fato que as funções das enzimas hepáticas são alteradas quando aproximadamente 2 / 3 do parênquima do fígado é afetado.

Outros trabalhos mostram que suínos intoxicados com fumonisinas apresentaram valores séricos elevados nas enzimas aspartato aminotransferase, gama glutamiltransferase, fosfatase alcalina (HASCHECK et al., 2001; HASCHEK et al., 1992) e refletem na hepatotoxicidade do fígado, sendo tempo e dose-dependente (SMITH et al., 1996; GUMPRECHT et al., 1998). Por outro lado, Díaz-Llano & Smith (2009) e Swamy et al. (2002) afirmam não haver alterações significativas na bioquímica sérica de animais alimentados com dietas contendo baixos teores de fusariotoxinas.

Apesar de os tratamentos não terem apresentado diferenças significativas, pode-se observar na Tabela 8 uma diminuição entre as médias no valores séricos das enzimas analisadas, após 42 dias de tratamento e o início do experimento, nas matrizes tratadas com a adição AAM.

As concentrações séricas de bilirrubina direta, bilirrubina total, bilirrubina indireta, glicose e colesterol estão apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8.** Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de bilirrubina direta (BD), bilirrubina total (BT), bilirrubina indireta (BI), glicose, colesterol de matrizes suínas no primeiro dia e aos 42 dias de experimento, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS	PERÍODOS	
		Início (1º dia)	Término (42º dias)
BD (mg/dL)	T <sub>1</sub>	0.08±0.10 <sup>a</sup>	0.04±0.09 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		0.04±0.09 <sup>Aa</sup>
BT (mg/dL)	T <sub>1</sub>	0.17±0.20 <sup>a</sup>	0.04±0.09 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		0.17±0.23 <sup>Aa</sup>
BI (mg/dL)	T <sub>1</sub>	0.09±0.16 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		0.14±0.19 <sup>Aa</sup>
Glicose (mg/dL)	T <sub>1</sub>	72.07±26.04 <sup>a</sup>	68.66±17.99 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		75.78±34.10 <sup>Aa</sup>
Colesterol (mg/dL)	T <sub>1</sub>	116.05±42.89 <sup>a</sup>	100.81±23.37 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		127.55±57.16 <sup>Aa</sup>

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05).

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>. Os metabólitos (BD - 0,30 mg / dL; BT - 0,60 mg / dL; B I- 0,30 mg / dL) de acordo com Kaneco et al. (1997) estão nos limites de normalidade, entretanto, a média de colesterol apresentou-se acima do limite superior de normalidade (54 mg / dL) e a média de glicose abaixo desse limite (150 mg / dL) (KANECO et al., 1997). Tal fato está de acordo com os trabalhos de Hascheck et al. (2001), nos quais afirmam que concentrações de 1 mg / kg de FB<sub>1</sub> causam aumento de colesterol em duas semanas de consumo de ração contaminada.

Em estudo realizado na Turquia, a adição de 0,2% de um AAM em dietas contaminadas com fusariotoxinas mostrou-se significativa na redução das concentrações séricas de colesterol. Por serem precursores na síntese de sais biliares, alguns AAM podem ligar-se aos sais biliares no intestino,

impedindo a entero reciclagem do colesterol e forçando a síntese hepática de um novo colesterol, o que pode afetar indiretamente a função hepática, causando aumento sérico de enzimas GGT na circulação. A Acetil - coA, um produto final da oxidação mitocondrial de ácidos graxos e ácido pirúvico, é o precursor para a síntese do colesterol. A glicose, por sua vez, é o precursor para a síntese de ácido pirúvico, o que pode explicar a diminuição na concentração de glicose no soro quando a dieta suplementada com 0,1% de polímero GM (glicomananos) foi alimentada (MATHEWS & VAN HOLDE, 1996).

As concentrações de cálcio, magnésio, fósforo, sódio, potássio, ferro e cálcio iônico no soro sanguíneo das matrizes suínas, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, estão contidas na Tabela 9.

**Tabela 9.** Médias e desvios-padrão da atividade sérica de cálcio, magnésio, fósforo, sódio, potássio, ferro, cálcio iônico e magnésio de matrizes suínas no primeiro e aos 42 dias de experimento, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS	PERÍODOS	
		Início (1 <sup>o</sup> dia)	Término (42 <sup>o</sup> dias)
Cálcio (mg/dL)	T <sub>1</sub>	10,89±0,68 <sup>a</sup>	11,53±0,57 <sup>Ab</sup>
	T <sub>2</sub>		11,83±0,67 <sup>Ab</sup>
Magnésio (mg/dL)	T <sub>1</sub>	2.34±0.55 <sup>a</sup>	2.48±0.41 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		2.49±0.40 <sup>Aa</sup>
Fósforo (mg/dL)	T <sub>1</sub>	7.26±1.13 <sup>a</sup>	7.25±1.38 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		7.19±0.99 <sup>Aa</sup>
Sódio (mmol/L)	T <sub>1</sub>	139.92±4.87 <sup>a</sup>	137.84±4.9 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		140.38±5.26 <sup>Aa</sup>
Potássio (mmol/L)	T <sub>1</sub>	5.50 ±1.40 <sup>a</sup>	5.42±0.58 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		5.13±0.49 <sup>Aa</sup>
Ferro (µg/L)	T <sub>1</sub>	193.28±45.12 <sup>a</sup>	213.28±102.70 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		173.62±47.28 <sup>Aa</sup>
Cálcio iônico (mmol/L)	T <sub>1</sub>	0.64±0.09 <sup>a</sup>	0.73±0.13 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		0.70±0.13 <sup>Aa</sup>

Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas colunas não diferem entre si e minúsculas na linha pela mesma variável difere entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). cálcio (  $F = 0,68$  e  $p < 0,4182$ )

No que diz respeito aos minerais magnésio, fósforo, sódio, potássio, ferro e cálcio iônico, não houve diferenças entre os grupos e nem nos limites máximos de normalidade (KANEKO et al., 1997), demonstrando que o uso do AAM não interagiu com esses minerais.

Os resultados para o cálcio ( $p < 0,04182$ ) mostraram diferenças significativas entre o início (1<sup>o</sup> dia) e o término (42<sup>o</sup> dia), independente dos

tratamentos. Essas diferenças podem estar associadas a elevada contaminação por fumonisinas encontrada, e possível manifestação subclínica de EPS ocasionado por estas micotoxinas, pois o mecanismo do EPS está relacionado com o bloqueio da disponibilidade de íons  $\text{Ca}^{2+}$  tipo - L, mediado pelo esfingolípido denominado esfingosina, que é alterado pelas fumonisinas (CONSTABLE et al., 2000). Pode-se observar também com essas diferenças nos resultados para o cálcio que o AAM não interagiu com esse mineral.

Alguns autores afirmam que a ingestão de milho com fumonisinas em altas concentrações (112 - 400 mg / kg) provoca a morte de suínos por edema pulmonar (CONSTABLE et al., 2000; COLVIN et al., 1993. FASEKAS et al., 1998; RILEY et al., 1993; SANTURIO et al., 2002; Swamy et al., 2002). Esses autores relataram reduções no cálcio sérico e nas concentrações de fósforo em dietas contaminadas com fusariotoxinas.

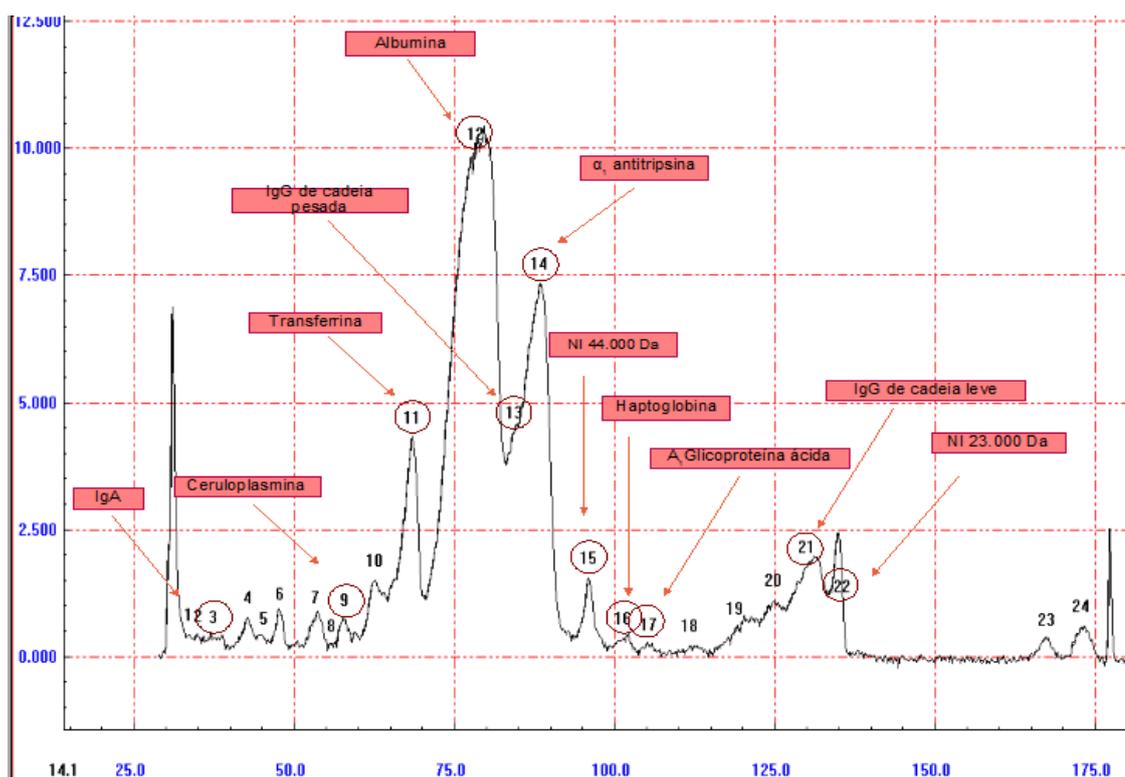
Os teores séricos das proteínas, identificadas por eletroforese estão agrupados na Tabela 10.

**Tabela 10.** Médias e desvios-padrão da concentração sérica das proteínas obtidas em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de matrizes suínas no início e aos 42 dias de experimento, nos tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS	PERÍODOS	
		Início (1º dia)	Término (42º dias)
IgA (g/dL)	T <sub>1</sub>	0.81±0.38 <sup>a</sup>	0.92±0.47 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		0.90±0.48 <sup>Aa</sup>
Ceruloplasmina (g/dL)	T <sub>1</sub>	0.81±0.38 <sup>a</sup>	0.59±0.53 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		0.45±0.12 <sup>Aa</sup>
Transferrina (g/dL)	T <sub>1</sub>	5.21±0.57 <sup>a</sup>	5.18±0.73 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		5.16±1.13 <sup>Aa</sup>
Albumina (g/dL)	T <sub>1</sub>	34.45±2.33 <sup>a</sup>	34.77±2.34 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		32.17±7.92 <sup>Aa</sup>
α1-antitripsina (g/dL)	T <sub>1</sub>	1.87±1.72	2.75±1.85 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		3.06±1.93 <sup>Aa</sup>
IgG de cadeia pesada (g/dL)	T <sub>1</sub>	12.76±4.42 <sup>a</sup>	12.32±3.59 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		12.28±3.16 <sup>Aa</sup>
NI 44.000 Da (g/dL)	T <sub>1</sub>	1.08±0.51 <sup>a</sup>	0.87±0.41 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		1.18±0.36 <sup>Aa</sup>
Haptoglobina (g/dL)	T <sub>1</sub>	0.21±0.05 <sup>a</sup>	0.25±0.06 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		0.23±0.07 <sup>Aa</sup>
α1Glicoproteína ácida (g/dL)	T <sub>1</sub>	0.26±0.16 <sup>a</sup>	0.29±0.10 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		0.23±0.09 <sup>Aa</sup>
IgG de cadeia leve (g/dL)	T <sub>1</sub>	4.67±1.15 <sup>a</sup>	4.39±1.20 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		4.03±1.06 <sup>Aa</sup>
NI 23.000 Da (g/dL)	T <sub>1</sub>	1.51±0.38 <sup>a</sup>	1.50±0.13 <sup>Aa</sup>
	T <sub>2</sub>		1.68±0.54 <sup>Aa</sup>

Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas colunas e minúsculas na linha pela mesma variável não difere entre si pelo teste de Tukey (p>0,05).

No traçado densitométrico obtido pela técnica de eletroforese em gel de poliácridamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), foi possível detectar 23 a 24 proteínas, com pesos moleculares variando de 25 Dalton (Da) a 175 Da (Figura 14). O uso de SDS-PAGE neste trabalho foi considerado vantajoso, tendo em vista que proteinogramas obtidos em gel de agarose e em fitas de acetato de celulose (FAGLIARI et al., 1998; BORGES et al., 2001), rotineiramente utilizados em medicina veterinária, permitem a detecção de apenas cinco a sete grupos de proteínas. Neste experimento, identificou-se grande número de proteínas específicas, principalmente proteínas de fase aguda, como: ceruloplasmina,  $\alpha$ 1-antitripsina, transferrina, haptoglobina e glicoproteína ácida (GRUYS et al., 1994; FAGLIARI et al., 2007), bem como IgG, que permitem avaliar a resposta imune e auxiliam no diagnóstico de diversos quadros clinicopatológicos (ADAMS et al., 1993 apud FAGLIARI et al., 2006; FAGLIARI & SILVA, 2002; FAGLIARI et al., 2003; FERNANDÉZ et al., 2006).



**Figura 14.** Exemplo do traçado densitométrico do proteinograma sérico de matrizes suínas intoxicadas naturalmente com Zea e  $FB_1$  e  $FB_2$ , apresentando 24 frações protéicas.

Dentre as proteínas identificadas nesta pesquisa, destacam-se onze, cujas concentrações foram submetidas à análise estatística, devido à sua importância diagnóstica (Tabela 10). Não houve diferenças significativas entre os tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> nas concentrações séricas de IgA, ceruloplasmina, transferrina, albumina,  $\alpha$ 1 antitripsina, IgG de cadeia pesada, NI 44.000 Da, Haptoglobina,  $\alpha$ <sub>1</sub>Glicoproteína ácida, IgG de cadeia leve e NI 23.000 Da,. Pode-se inferir que as matrizes suínas analisadas não apresentaram reação inflamatória sistêmica. Essa afirmação se baseia no fato de que as proteínas ceruloplasmina, haptoglobina,  $\alpha$ 1-antitripsina e  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida são proteínas de fase aguda (GRUYS et al., 1994; FAGLIARI et al., 2007), cujos teores séricos mantiveram-se constantes (THRALL et al., 2007). Mallmann & Dilken (2007) afirmaram que animais alimentados com dietas naturalmente contaminadas por fusariotoxinas em doses baixas afetam de forma crônica os animais após longo período de intoxicação.

Kubena et al. (1987) observaram o aumento nas concentrações de albumina no soro que pode indicar a hepatotoxicidade e metabolismo de proteínas alteradas pelas fusariotoxinas. Díaz-Llano & Smith (2009), em estudos com ração naturalmente contaminada com fusariotoxinas, constataram que a dieta não afetou as concentrações séricas de proteína total, albumina, glicose, colesterol, ou em atividades de fosfatase alcalina, aminotransfer  $\gamma$ -glutamiltransferase, aspartato-ase, total bilirrubinas, bilirrubina conjugada, bilirrubina livre, cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio em marrãs após a alimentação por um período de 14 dias.

**CONCLUSÕES**

---

## 6 CONCLUSÕES

- ✓ A ração estava naturalmente contaminada pelas micotoxinas Zearalenona e fumonisinas (B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>);
- ✓ A ração estava com baixa contaminação fúngica (ergosterol);
- ✓ A atividade de água (A<sub>w</sub>) não estava inserida nos limites mínimos necessários ao crescimento fúngico;
- ✓ A ZEA presente não foi produzida no local da realização do experimento;
- ✓ As fumonisinas presentes na ração podem ter sido produzidas no local do experimento;
- ✓ Houve uma correlação positiva moderada entre os níveis de ergosterol e ZEA;
- ✓ Houve uma correlação positiva fraca entre os níveis de ergosterol e fumonisinas;
- ✓ A ração não estava contaminada por DON;
- ✓ A ração não estava contaminada por aflatoxinas;
- ✓ A adição 0,2% do AAM na dieta interferiu no volume vulvar das leitoadas oriundas de matrizes naturalmente contaminadas com ZEA, FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>;
- ✓ A adição 0,2% do AAM na dieta mostrou-se positivo no ganho de peso ao desmame e ganho de peso dos leitões oriundos de matrizes naturalmente contaminadas com ZEA e FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>;
- ✓ A adição 0,2% do AAM não alterou as enzimas ALP, AST e GGT em matrizes suínas naturalmente contaminadas com ZEA, FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>;
- ✓ Não houve interação AAM com os minerais: cálcio, magnésio, fósforo, sódio, potássio, ferro e cálcio iônico;
- ✓ A contaminação natural da ração por fumonisinas (média de 2,11 mg / kg ) causou diminuição nas concentrações séricas de cálcio nas matrizes, após 42 dias;
- ✓ A adição de 0,02% do AAM não interferiu nos valores de glicose, colesterol, bilirrubinas, bem como nas concentrações séricas de IgA, ceruloplasmina, transferrina, albumina,  $\alpha_1$ -antitripsina, IgG de cadeia pesada, Haptoglobina,  $\alpha_1$ -Glicoproteína ácida e IgG de cadeia leve.

## **REFERÊNCIAS**

---

ABID-ESSEFI, S.; OUANES, Z.; HASSEN, W.; Cytotoxicity inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultures cells exposed to zearalenone. **Toxicology In Vitro**, v.18, p. 467-474, 2004.

AGAG, B.I. Mycotoxins in foods and feeds aflatoxins. **Assiut University Bulletin for Environmental Researches**, v.7, p. 36, 2004.

ALLCROFT, R.; CARNAGHAN, R. B. A.; SARGENT, K. A toxic factor in Brazilian groundnut meal. **Vet. Rec.**, v.73, p. 128-129, 1961.

ALLCROFT, P.; CARNAGHAN, R. B. A. Groundnut toxicity *Aspergillus Flavus* toxin (aflatoxin) in animal products. Preliminary Communication. **Journal of Veterinary Research.**, v.74, p. 863-864, 1962.

ALMEIDA, A. P.; FONSECA, H.; FANCELLI, A. L.; DIREITO, G. M.; ORTEGA, E. M.; CORRÊA, B. Mycoflora and fumonisin contamination in Brazilian corn from sowing to harvest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.13, p. 3877-3882, 2002.

ANDRETTA, P. A.; LOVATTO, L.; HAUSCHILD, P.; DILKIN, G. G.; GARCIA, E.; LANFERDINI, N.C. Alimentação de leitoas pré-púberes com dietas contendo zearalenona. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.60, n.5, p. 1227-1233, 2008.

AVANTAGGIATO, G.; HAVENAAR, R.; VISCONTI, A. Assessing the zearalenone-binding activity of adsorbent materials during passage through a dynamic in vitro gastrointestinal model. **Food Chemists Technology**, v.41, p. 1283- 1290, 2003.

BAUER, J.; HEINRITZI, K.; GAREIS, M. Changes in the genital tract of female swine after feeding with practice-relevant amounts of zearalenone. **Tierarztl Prax.**, v.15, p. 33-36, 1987.

BEAUCHAT, L. R. Microbial stability as affected by water activity. **Cereal Food World**. n.26, p. 345-349, 1981.

BELL, L. N.; LABUZA, T. P. Composition influence on the pH of reduced-moisture solutions. **Journal Food Science**. 57: 732-734, 1992

BELLAVER, C. Qualidade dos ingredientes e das Rações. **Embrapa Suínos e Aves.**, 2006.

BENNETT, J. W. & KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.3, p. 497-516, 2003.

BIEHL, M. L., et al. Biliary excretion and enterohepatic cycling of zearalenone in immature pigs. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.121, n.1, p.152-159, 1993.

BERMINGHAM, S.; MALBY, L.; COOKE, R.C.A. A critical assessment of the validity of ergosterol as an indicator of fungal biomass. **Mycopathologia Research**, v.99, n.4, p.479-484, 1995.

BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; DORNBUSCH, P.T.; MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; BIONDO, A.W.; CASSOU, F.; ZANOTTO, G.M.; TELLES, J.E.Q. Clinical and cytologic evaluation of respiratory tract from quarter horses following exercise. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p.60-65, 2006.

BLANEY, B. K.; WILLIAMS, K. C. Effective use in livestock feeds of moldy and weather damaged grain containing mycotoxins - case histories and economic assessments pertaining to pig and poultry industries of queensland. **Austria Journal Agriculture Research**, v.42, p. 993-1012, 1991.

BORGES, A. S.; FEITOSA, F. L. F.; BENESI, F. J.; BIRGEL, E. H.; MENDES, L. C. N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. Belo Horizonte: **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.53, n.5, p. 629-634, 2001.

CASTEGNARO, M. La sécurité alimentaire du consommateur. **Lavoisier, Tec. & Doc.**, p. 127-179, ed. Paris 2002.

CENTEC. Instituto Centro de Ensino Tecnológico. Suinocultura. **Cadernos tecnológicos**, p. 96, 2004.

CHAMBERLAIN, W. J.; BACON, C. W.; NORRED, W. P.; VOSS, K. A. levels of fumonisin B<sub>1</sub> in corne naturally contaminated with aflatoxins. **Food Chemists Toxicology**, v.31, p. 995-998, 1993.

CIEGLER, A. Fung that produce micotoxin: condition and acurrence. **Mycophalogia**, v.65 p.5-11, 1978.

COLVIN, B. M.; COOLEY, A. J. & BEAVER, R. W. Fumonisin toxicosis in swine: clinical and pathologic findings. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.5, p. 232-241, 1993.

COLVIN, B. M.; HARRISON, L. R. Fumonisin-induced pulmonary edema and hydrotorax in swine. **Mycopathologia Dordrecht.**, v.117, p. 79-82, 1992.

CONSTABLE, P. D.; SMITH, G. W.; ROTTINGHAUS, G. E.; HASCHEK, W. M. Ingestion of fumonisin B<sub>1</sub>-containing culture material decreases cardiac contractility and mechanical efficiency in swine. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.162, p. 151-60, 2000.

COULOMBE, R. A. Mycotoxins and phytoalexins. **Boca Raton: CRC Press.**, p. 103-143, 1991.

DAWSON, K.A.; EVANS, J.; KUDUPOJE, M. Understanding the adsorption characteristics of yeast cell wall preparations associated with mycotoxin binding. In: Alltech's 17th Annual Symposium. **Proceedings**, p.169, 2002.

DESJARDINS, A. E. Fusarium Mycotoxins. Chemistry, Genetics and Biology. **The American Phytopathological Society**, p. 260, 2006.

DEVEGOWDA, G. Micotoxinas: Uma Ameaça Mundial. **Feeding Times**, v.7, n.3, p.2-3, 2002.

DESOUZART, O. Os 10 mais da Carne Suína no Mundo. **Revista Pork world**, ano 4, n. 26, 2005.

DIAZ, G. J.; BOERMANS, H. J. Fumonisin toxicosis in domestic animals. **Human Toxicology**, v.36, n.6, p.548-555, 1994.

DÍAZ-LLANO, G. & SMITH, T. K. Effects of feeding grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins with and without a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent on reproductive performance and serum chemistry of pregnant gilts. **Journal Animal Science**, 2009.

DIREITO, G. M. Efeitos da fumonisina B<sub>1</sub> no metabolismo no efeito dos esfingolipídeos em diferentes espécies animais. **Tese** (Doutorado)-Universidade de São Paulo, 2003.

DOLL, S.; GERICKE, S.; DANICKE, S. et al. The efficacy of a modified aluminosilicate as a detoxifying agent in Fusarium toxin contaminated maize containing diets for piglets. **Journal Animal Physiology Animal Nutre**, v.89, p. 342-358, 2005.

EDWARDS, A. C. Será que, na prática, a solução natural apresenta uma boa relação custo benefício?, **Feeding Times**., v.7, n.3, p. 14-15, 2002.

ETIENNE, M. & JEMMALI, M. Effects of zearalenone (F2) on estrous activity and reproduction in gilts. **Journal Animal Science**., p. 55, 1982.

ETIENNE, M. & DOURMAD, J. Y. Effects of zearalenone or glucosinolates in the diet on reproduction in sows. **Livestock Production Science**, v.40, p. 99-113, 1994.

EVERSHED, R.P.; SPOONER, N.; PRESCOTT, M.C.; G OAD, L.J. Isolation and characterisation of intact steryl ferulates from seeds. **Journal Chromatogr.**, v.440, p.23-35, 1988.

FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.; LUCAS, F.A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P.R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalis bubalus*) raça

Murrah. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.50, p. 253-262, 1998.

FAGLIARI, J.J.; WEISS, D.J.; McCLENAHAN, D. et al. Serum protein concentrations in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.55, p. 383-387, 2003.

FAGLIARI, J.J.; RIZOLLI, F.W.; SILVA, S.L.; SILVA, D.G. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.58, n.3, p.450-453, 2006.

FAGLIARI, J.J.; PASSIPIERI, M.; OKUDA, H.T.; SILVA, S.L.; SILVA, P.C. Serum protein concentrations, including acute phase proteins, in calves with hepatogenous photosensitization. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.59, n.6, p.1355-1358, 2007.

FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hígidos e de eqüinos acometidos por abdômem agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.54, p. 559-567, 2002.

FASEKAS, B.; BAJMOCY, E.; GLAVITS, R.; FENEVESY, A.; TANYI, J. Fumonisin B<sub>1</sub> contamination of maize and experimental acute fumonisin toxicosis in pigs. **Zentralblatt fur Veterinar medizin.**, v.45, p. 171-181, 1998.

FÁVERO, J.A. Fatores de risco. Acessado em 19 junho de 2008. Online. Disponível em:< <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Suinos/SPSuinos/identificacao.html>>. Acesso em 23.11.09.

FERNANDÉZ, S.Y.; JESUS, E.E.V.; PAULE, B.J.A.; UZÊDA, R.S; ALMEIDA, M.A.O.; GUIMARÃES, J.E. Proteinograma de caprinos da raça Pardo-Alpina infectados naturalmente por parasitos gastrintestinais. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.58, n.2, p. 279-282, 2006.

FIALHO, T. E. **Alimentos alternativos para suínos**. Lavras-MG – 2003.

GAUMY, J. L.; et al. Zéaralénone: Propriétés et toxicité expérimentale. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.152, n.3, p. 219-234, 2001.

GARDINI, F.; LANCIOTTI, R.; GUERZONI, M. E. Effect of trans-2-hexenal on the growth of *Aspergillus flavus* in relation to its concentration, temperature and water activity. **Lett. Appl. Microbiology**. July, v.33, p. 50-55, 2001.

GELDERBLUM, W. C. A.; JASKIEWICZ, K.; MARASAS, W. F. O.; THIEL, P. G.; HORAK, R. M.; VLEGGAR., R.; KRIEK, N. P. J. Fumonisins – novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, n.7, p.1806-1811, 1988.

GESSNER, M.O. & SCHIMITT, A.L. Use of solid-phase extraction to determine ergosterol concentrations in plant tissue colonized by fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, n.2, p.415-419, 1996.

GOAD, L.J. The effects of antifungal compounds on growth and sterol metabolism in plants and protozoa. **Biochem. Soc. Trans.**, v.22, p. 269-635, 1994.

GONÇALEZ, E.; et al. Avaliação da micoflora e ocorrência de micotoxinas em cascas de amendoim em diferentes estágios de maturação davagem. **Ciência agrotecnica.**, Lavras, v.32, n.5, p. 1380-1386, 2008.

GOULD, G. W. Osmoregulation is the cell just a simple osmometer? The microbiological experience. **In: A Discussion Conference: Water Activity: A credible measure of technological performance and physiological viability.** Faraday Division, Royal Society of Chemistry, Girton College, Cambridge, England, July 1-3, 1985.

GREEN, M. L.; DIEKMAN, M. A.; MALAYER, J. R.; SCHEIDT, A. B.; LONG, G. G. Effect of prepubertal consumption of zearalenone on puberty and subsequent reproduction of gilts. **Journal Animal Science**, v.68, p. 171-178, 1990.

GROTEN, J. P.; TAJIMA, O.; FERON, V. J.; SCHOEN, E. D. STATISTICALLY designed experiments to screen mixtures chemical mixtures for possible interactions. **Environ. Health. Perspectives**, v.106, p.1361-1365, 1998.

GRUYS, E.; OBWOLO, M.J.; TOUSSAINT M.J.M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Bulletin.**, v.64, p. 1009-1018, 1994.

GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT M.J.M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Bulletin**, v.64, p. 1009-1018, 1994.

GUMPRECHT, L. A.; BEASLEY, V. R.; WEIGEL, R.M.; PARKER, H. M.; TUMBLESON, M. E.; BACON, C. W.; MEREDITH, F. I.; HASCHEK, W. M. Development of fumonisin-induced hepatotoxicity and pulmonary edema in orally dosed swine: morphological and biochemical alterations. **Toxicologic Pathology**, v.26, p. 777-788, 1998.

HASCHEK, W. M.; GUMPRECHT, L. A.; SMITH, G. Fumonisin toxicosis in swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. **Environmental Health Perspectives**, v.109, p. 251-257, 2001.

HASCHEK, W. M.; MOTELIN, G.; NESS, D.K.; HARLIN, K. S.; HALL, W. F.; VESONDER, R. F.; PETERSON, R. E.; BEASLEY, V. R. Characterization of

fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. **Mycopathologia**, v.117, p. 83–96, 1992.

HIROOKA, E. Y.; YAMAGUCHI, M. M.; AOYAMA, S., et al. The natural occurrence of fumonisin in Brazilian corn kernels. **Food Addit Contam.**, v.13, p.173-183, 1996.

HOLCOMB, M.; SUTHERLAND, J. B.; CHIARELLI, M. D. HPLC and FAB mass spectrometry analysis of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> produced by *Fusarium moniliforme* on food substrates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.357-360, 1993.

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

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. **Academic Press.**, 5 ed., p. 932, 1997.

KAWABATA, Y.; TASHIRO, F.; UENO, Y. Synthesis of a specific protein induced by zearalenone and its derivatives in rat uterus. **The Journal of Biochemistry.**, v.91, n.3, p. 801-808, 1982.

KUIPER-GOODMAN, T.; SCOTT, P. M.; WATANABE, H. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.7, p. 253-306, 1987.

KPODO, K.; THRANE, U.; HALD, B. *Fusaria* and fumonisins in maize from Ghana and their co-occurrence with aflatoxins. **Intitute Journal Food Microbiology**, v.61, p. 147–157, 2000.

LABORATORIO DE ANÁLISES MICOTOXICOLÓGICAS (LAMIC). Limites Máximos de Micotoxinas Recomendados pelo LAMIC para Animais de Produção. Disponível em:<<http://www.lamic.ufsm.br/legislacao.html>>. Acesso em 27 de outubro de 2009.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 277, p. 680-685, 1970.

LEDOUX, D.R.; BROWN, T.P.; WEIBKING, T.S.; ROTTINGHAUS, G.E. Fumonisin toxicity in broiler chicks. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.4, n.3, p. 330-333, 1992.

LEESON, A.; KITTEL, J. A.; HINCHEE, R. E.; MILLER, R. N.; HAAS, P. E.; HOEPEL, R. E. Test plan and technical protocol for bioslurping; In Applied Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons. **J.A. Kittel, H.J. Reisinger.**, v.3, n.6, p. 335-347, 1995.

LONG, G. G.; DIEKMAN, M.; TUIITE, J. F.; SHANNON, G. M.; VESONDER, R. F. Effect of *Fusarium roseum* corn culture containing zearalenone on early pregnancy in swine. **American Journal of Veterinary Research**, v.43, p. 1599-1603, 1982.

LONG, G. G.; DIEKMAN, M. A. Effect of purified zearalenone on early gestation in gilts. **Journal Animal Science**, v.59, p.1662-1670, 1984.

LAWLOR, P. G.; LYNCH, P. B.; CAFFREY, P. J.; O'REILLY, J. J.; O'CONNELL, K. Measurements of the acid binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**, v.58, p. 301-306, 2005.

MALEKINEJAD, H.; MAAS-BAKKER, R.; FINK-GREMMELS, J. Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. **The Veterinary Journal**, v.172, n.1, p. 96-102, 2006.

MALLMANN, C.A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e micotoxicoses em suínos**. Soc. Vicente Pallotti ed., 2007.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; GIACOMINI, L. Z.; RAUBER, R. H. Micotoxicoses em Suínos e Aves. **I Encontro Tecnológico INVE.**, 13 a 15 de outubro, Florianópolis, SC, Brasil, 2005.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; GIACOMINI, L. Z.; RAUBER, R. H. Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. Conferência APINCO 2006 de Ciência e Tecnologia Avícolas. **Anais**, p. 213-224, 2006.

MALLMANN, C.; SANTURIO, J. M.; DILKIN, P.; eT al. Incidência de fumonisina B<sub>1</sub> em milho e rações no Brasil. In: **Congresso Latino Americano de Micotoxicologia**, Maracay, Venezuela, p.73, 1997.

MARIN, S.; MAGAN, N.; SERRA, J.; RAMOS, A. J.; CANELA, R.; SANCHES, V. Fumonisin B<sub>1</sub> production and growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* on maize, wheat and barley grain. **Food Microbiology and Safety**. V.64, n.5, p. 921-924, 1999.

MARTIN, F.; DELARUELLE, C.; HILBERT, J.L. An improved ergosterol assay to estimate fungal biomass in ectomyrhhizas. **Mycology Research**, v.94, n.8, p.1059-1064, 1990.

MCNUTT, S.H.; PURWIN P.; MURRAY C. Vulvovaginitis in swine. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.73, p. 484, 1928.

MERRILL, A.H.; VAN ECHTEN, G.; WANG, E.; et al. Fumonisin B<sub>1</sub> inhibits sphingosine (sphinganine) N - acyltransferase and de novo sphingolipid biosynthesis in cultured neuron in situ. **Jorunal Biology Chemistry**, v.268, p. 2299-2306, 1993.

MILLER, J.D.; YOUNG, J.C.; TRENHOLM, H.L. Fusarium toxins in field corn. I. Time course of fungal growth and production of deoxynivalenol and other mycotoxins. **Can. Journal Bot.**, v.61, p. 3080-3087, 1983.

MIRAGLIA, M; DE SANTIS, B.; MINARDI, V.; DEBEGNACH, F.; BRERA, C. The role of sampling in mycotoxin contamination: An holistic view. **Food Additives and Contaminants**, v.22, n.6, p. 31-36, 2005.

MOSS, M.O. Economic importance of mycotoxins-recent incidence in the United States. **Animal Science**, v.27, p. 3941-3949, 1991.

NAEWBANIJ, M.; SEIB, P. A.; BURROUGHS, R. Determination of ergosterol using thin-layer chromatography and ultraviolet spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v.61, n.5, p.385-388, 1984.

NELSON, P. E. Taxonomy and biology of Fusarium moliniform. **Mycopathologia.**, v.117, p. 26-36, 1992.

NETO, R. A. T.; DENIZO, N.; QUAST, D. G. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. V.7, p. 191-206, 1976.

ONO, E. Y. S.; ONO, M. A.; FUNO, F. Y., et al. Evaluation of fumonisin-aflatoxin-co-occurrence in Brazilian corn hybrids by ELISA. **Food Addit Contam.**, v.18, n.8, p. 719-729, 2001.

ONO, E. Y. S. & HIROOKA, E. Y. Hazards of Fusarium verticillioides, a mycotoxigenic fungus. In: Kushwaha, R.K.S. (ed.) Fungi in Human and Animal Health. Índia: **Scientific Publishers**, p.355-385, 2002.

ORSI, R. B.; CORRÊA, B.; POZZI, C. R., et al. Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. **Journal of Stored Products Research.**, v.36, p. 75-87, 2000.

OSWEILER, G. D., et al. Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisin in corn screenings. **J Vet Diagn Invest.**, v.4, p. 53-59, 1992.

PEACOCK, G.A & GOOSEY, M.W. Separation of fungal sterols by normal-phase high performance liquid chromatography-application to the evaluation of ergosterol biosynthesis inhibitors. **Jornal Chromatogr.**, v.469, p.293-303, 1989.

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

PITT, J.I. The significance of potentially toxigenic fungi in foods. **Food Technology**, Austrália, v.36, n.5, p.218-219, 1984.

PITTET, A.; TORNARE, D.; HUGGET, A.; VIANI, R. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using immunoaffinity column cleanup procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p. 3564-3569, 1996.

PRELUSKY, D. B., et al. Biological fate on fumonisin B<sub>1</sub> in food-producing animals. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.392, p. 265-278, 1996.

PULLAR, E. M. & LEREW, W. M. Vulvovaginitis in swine. **Austria veterinary Journal**, v.13, p. 28-31, 1937.

QUILLIEN, J. F. Les mycotoxines. Paris: **INRA**, n.3, p. 24, 2002.

RAINEY, P. B.; COLE, A. L. J.; FERMOR, T. R.; WOOD, D. A. A model system for examining involvement of bacteria in basidiome initiation of *Agaricus bisporus*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 94, n. 2, p. 191-195, 1990.

RAYMOND, S. N., et al. First citation in article | IOP Article. **Journal Animal science**, v.125, p. 2621, 2003.

RAMASAMY, S.; WANG, E.; HENIG, B.; MERRILL, J. R. Fumonisin B<sub>1</sub> alters sphingolipid metabolism and disrupts the barrier function of endothelial cells in culture. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.133, p. 343-348, 1995.

RAUBER, R. H.; MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; GIACOMINI, L.Z.; Anais da Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. **Anais**, p. 213-224, 2006.

REGNÉR, S.; SCHNÜRER, J.; JONSSON, A. Ergosterol content in relation to grain kernel weight. **Cereal Chem.**, v.71, n.1, p.55-58, 1994.

RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O.; VISMER, H. F. Production of Fumonisin Analogs by *Fusarium Species*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 5, p. 2101-2105, 2002.

RIBEIRO, I. B. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* – Agente causal da podridão de frutos do mamoeiro, **Scientia Agrícola**, v.56, p. 1267-1271, 1999.

RICHARD, J. L. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses – An overview. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, doi: 10.1016/j.jiffoodmicro. 2007.07.019, 2007.

RILEY R.T., et al. Alteration of tissue and serum sphinganine to sphingosine ratio: an early biomarker of exposure to fumonisin containing feeds in pigs. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.118, p. 105-112, 1993.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SABINO, M. Pesquisa em micotoxinas no Brasil: a última década em foco. **Brazilian Journal Microbiologic**, v. 33, n. 1, p.1-11, 2002.

ROTTER, B. A.; THOMPSON, B. K.; PRELUSKY, D. B.; TRENHOLM, H. L.; STEWART, B.; MILLER, J. D.; SAVARD, M. E. Response of growing swine to dietary exposure to pure fumonisin B<sub>1</sub> during an eight-week period: growth and clinical parameters. **Nature Toxins**, v.4, p. 42–50, 1996.

ROTTER, B. A.; PRELUSKY, D. B.; FORTIN, A.; MILLER, J. D.; SAVARD, M. E. Impact of pure fumonisin B<sub>1</sub> on various metabolic parameters and carcass quality of growing-finishing swine—preliminary findings. **Jorunal Animal Science**, v.77, p. 465-470, 1997.

ROTTER, B.A., et al. Response of growing swine to dietary exposure to pure fumonisin B<sub>1</sub> during na eight-week period: growth and clinical parameters. **Natural Toxicology**, New York, Wiley- Liss, v.4, p. 42-50, 1996.

SABINO, M., et al. Natural occurrence of aflatoxins and zearalenone in maize in Brazil. Part II. **Food Additives and Contaminants**, v.6, n.3, p. 327-331, 1989.

SEITZ, L. M.; MOHR, H. E.; BURROUGHS, R. Ergosterol as na indicator of fungal invasion in grains. **Cereal Chemistry**, v.54, n.6, p.1207-1217, 1977.

SCHWADORF, K. & MÜLLER, H.M. Determination of ergosterol in cereals, mixed feed components, and mixed feeds by liquid chromatography. **Journal Assoc Ana. Chemistry**, v.72, n.3, p.457-462, 1989.

SCHNURER, J. Distribution of fungal biomass among fine bran, coarse bran, and flour from wheat stored at four different moisture levels. **Cereal Chem**, v.68, n.4, p.434- 437, 1991.

SCOTT, W. J. Water relation of food spoilage microorganisms. **Adv. Food Res.** 7: 83 - 127, 1957.

SHETTY, P. H.; BATT, R. V.natural ocurrence of fumonisin b1 on its co-ocurrence with aflotoxin B<sub>1</sub> in India Shorgun, maize end poultry feeds. **Journal Agriculture**, Ood Chen., v.45, p. 2170-2173, 1997.

SHEEHAN, D. M. et al. Estrogenic activity of zearalenone and zearalanol in the neonatal rat uterus. **Teratology**, v.29, n.3, p. 383-392, 1984.

SHEPHARD, G.S.; THIEL, P.G.; STOCKENSTRÖM, S.; SYDENHAM, E.W. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v.3, n.79, p. 671-687, 1996.

SINDIRAÇÕES. Demanda de macronutrientes. Acesso em 20 dez. 2009. Online. Disponível em: < <http://www.sindiracoes.org.br>>. Acesso em 20.12.09.

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

STOLOFF, L. Aflatoxin M in perspective. **Jornal Food Protec**, v.43, p. 226-30, 1980.

SMITH, G.W.; CONSTABLE, P. D.; TUMBLESON, M. E.; ROTTINGHAUS, G. E.; HASCHEK, W. M. Sequence of cardiovascular changes leading to pulmonary edema in swine fed culture material containing fumonisin. **American Journal of Veterinary Research**, v.60, p.1292-1300, 1999.

SMITH, G.W.; CONSTABLE, P. D.; TUMBLESON, M. E.; ROTTINGHAUS, G. E.; HASCHEK, W. M. Sequence of cardiovascular changes leading to pulmonary edema in swine fed culture material containing fumonisin. **American Journal of Veterinary Research**, v.60, p. 1292-1300, 1999.

SMITH, T., et al. Suínos Fusariotoxinas Representam um Grande Problema em Suinocultura. **Feeding Times**, v.7, n. 3, p. 24-25, 2002.

SMITH, J. E. & HENDERSON, R. S. **Mycotoxins and animal foods**, Athens : CRC. p. 108, 1991.

SMITH, G. W.; CONSTABLE, P. D.; Haschek, W. M. Cardiovascular response to short-term fumonisin exposure in swine. **Fundamental and Applied Toxicology**, v.33, p. 140-148, 1996.

SMITH, G. W., et al. Purified fumonisin B1 decreases cardiovascular function but does not alter pulmonary capillary permeability in swine. **Toxicol Science**, Orlando, v.56, p. 240-249, 2000.

SYDENHAM, E. W.; MARASAS, W. F. O.; SHEPHARD, G. S.; THIEL, P. G.; HIROOKA, E. Y. Fumonisin concentrations in Brazilian feeds associated with field outbreaks of confirmed and suspected animal mycotoxicoses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, p. 994-997, 1992.

SWAMY, H. V. L. N.; SMITH, T. K.; MACDONALD, E. J.; BOERMANS, H. J.; SQUIRE, E. J. Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on swine performance, brain regional neurochemistry, and serum chemistry and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. **Jornal Animal Science**, v.80, p. 3257-3267, 2002.

TANIWAKI, M. H. & SILVA, N. Fungos deterioradores de alimentos-ocorrência e detecção. **ITAL.**, Campinas, p. 75, 1996.

THIEL, P. G.; MARASAS, W. F. O.; SYDENHAM, E. W., et al. The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn human and animal health. **Mycopathol.**, v.117, p.3-9, 1992.

THOMAS, J. L., et al. Structure/function aspects of human 3[beta]-hydroxysteroid dehydrogenase. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 215, n.1-2, p.73-82, 2004.

THRALL, M.A.; BACKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, p. 582, 2007.

TROLLER, J. A.; Trend in research related to the influence of "water activity" on microorganisms in food. **Appl. Environ. Microbiology**, May; 53: 1142-1146, 1987.

UENO, Y. Risk of multi-exposure to natural toxins, mycotoxins, **Bilthoven**, v. 50, p. 13-22, 2000.

VARGAS, E. A., et al. Co-occurrence of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, zearalenone and fumonisin B<sub>1</sub> in Brazilian corn. **Food and Additives Contaminants**, v.18, n.11, p. 981-986, 2001.

VESONDER, T.; VESONDER, R.; HALIBURTON, J.; STUBBLEFIELD, R.; GILMORE, W.; PETERSON, S. *Aspergillus flavus* and aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, and M<sub>1</sub> in corn associated with equine death. **Arch Environ Contamination Toxicol.**, v.20, n.1, p. 151-153, 1991.

VISCONTI, A. & DOKO, M.B. Survey of fumonisin production by *Fusarium* isolated from cereals in Europe. **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v.77, n.2, p.546-550, 1994.

VOSS, K. A.; RILEY, R. T.; BACON, C. W.; CHAMBERLAIN, W. J.; NORRED, W. P. Subchronic toxic effects of *Fusarium moniliforme* and fumonisin B<sub>1</sub> in rats and mice. **Natural Toxins**, v.4, n.1, p.16-23, 1996.

WANG, E.; NORRED, W. P.; BACON, C. W.; RILEY, R. T.; MERRIL, J. R. A. M. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. **Journal Biology Chemistry.**, v.266, p. 1486-90, 1991.

WELTI, J. ; VERGARA, F. Atividade de água / Conceito y aplicación em alimentos com alto contenido de humedad. In: **AGUILERA, Journal Temas en Tecnología de Alimentos**. Santiago – Chile, v.1, p.11-26, 1997.

WEST, A.W.; GRANT, W.D.; SPARLING, G.P. Use of ergosterol, diamino pimelic acid and glucosamine contents of soils to monitor changes in

microbial populations. **Soil Biology Biochem**, v.19, n.5, p.607-612, 1987.

WILSON, D. M.; STANSELL, J. R. Effect of irrigation regimes on aflatoxin contamination of peanut pods. **Peanut Science**, Raleigh, v.10, n.1, p.54-56, 1983.

YAMAGUCHI, M. M.; HIROOKA, E. Y.; SHIBATA, T. M. M., et al. Fumonisin em milho no Estado do Paraná. In: **Encontro Nacional de Micotoxinas**, São Paulo, p. 27, 1992.

YOSHIZAWA, S.; MATSUHIMA, R.; WATANABE, M.F.; HARADA, K.; ICHIHARA, A.; CARMICHAEL, W.W.; FUJIKI, H. Inhibition of protein phosphatase by microcystin and nodularin associated with hepatotoxicity. **Journal Cancer Residente Clinical Oncologie**, v.116, p. 609-614, 1990.

YOUNG, L. G.; KING, G. J. Low concentrations of zearalenone in diets of mature gilts. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 4, p.1191-1196, 1986.

YOUNG, L. G.; PING, H.; KING, G. J. Effects of feeding zearalenone to sows on rebreeding and pregnancy. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 1, p.15-20, 1990.

ZWIERZCHOWSKI W., et al. The impact of zearalenone on the level of the selected estrogens in blood serum of sexually immature gilts. **Journal of Veterinary Sciences**, v.9, n.4, p. 247-252, 2006.

## **APÊNDICE**

## Ficha 01. Ficha individual das matrizes.

N<sup>o</sup> MATRIZ: \_\_\_\_\_ BRINCO: \_\_\_\_\_ TATUAGEM: \_\_\_\_\_  
 PESO/kg: \_\_\_\_\_ VOLUME VULVAR: \_\_\_\_\_

N <sup>o</sup> parto	data		brinco		N <sup>o</sup>			data			parição			nascido			desmama		peso/matriz	
	insemi.	machos	cober.	cole.	prev.	real	vivos	nat.	mum	total	data	quant.	entr.	saí.						

Observações na cobertura: \_\_\_\_\_

Observações no parto: \_\_\_\_\_

Observações na desmama: \_\_\_\_\_

GESTAÇÃO				MATERNIDADE		
DAT A	VACINA	MEDICAMENTO		DATA	VACINA	MEDICAMENTO

### Observações dos sinais clínicos

Anotações diárias		Anotações diárias	
1 <sup>o</sup>		22 <sup>o</sup>	
2 <sup>o</sup>		23 <sup>o</sup>	
3 <sup>o</sup>		24 <sup>o</sup>	
4 <sup>o</sup>		25 <sup>o</sup>	
5 <sup>o</sup>		26 <sup>o</sup>	
6 <sup>o</sup>		27 <sup>o</sup>	
7 <sup>o</sup>		28 <sup>o</sup>	
8 <sup>o</sup>		29 <sup>o</sup>	
9 <sup>o</sup>		30 <sup>o</sup>	
10 <sup>o</sup>		31 <sup>o</sup>	
11 <sup>o</sup>		32 <sup>o</sup>	
12 <sup>o</sup>		33 <sup>o</sup>	
13 <sup>o</sup>		34 <sup>o</sup>	
14 <sup>o</sup>		35 <sup>o</sup>	
15 <sup>o</sup>		36 <sup>o</sup>	
16 <sup>o</sup>		37 <sup>o</sup>	
17 <sup>o</sup>		38 <sup>o</sup>	
18 <sup>o</sup>		39 <sup>o</sup>	
19 <sup>o</sup>		40 <sup>o</sup>	
20 <sup>o</sup>		41 <sup>o</sup>	
21 <sup>o</sup>		42 <sup>o</sup>	

