

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MICHELI MIDORI DE CERQUEIRA COSTA AOYANAGI

**Avaliação do uso de adsorventes na alimentação de leitões desmamados
desafiadas por micotoxinas**

Pirassununga

2024

MICHELI MIDORI DE CERQUEIRA COSTA AOYANAGI

**Avaliação do uso de adsorventes na alimentação de leitões desmamados
desafiados por micotoxinas**

(Versão corrigida)

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciências pelo programa de Pós
Graduação em Zootecnia

Área de concentração: Qualidade e Produtividade
Animal

Orientador: Carlos Augusto Fernandes de Oliveira

Pirassununga

2024

Aoyanagi, Micheli Midori de Cerqueira Costa

Avaliação do uso de adsorventes na alimentação de leitões desmamados desafiados por micotoxinas / Micheli Midori de Cerqueira Costa Aoyanagi; orientador Carlos Augusto Fernandes de Oliveira. -- Pirassununga, 2024.

56 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós Graduação em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Fernandes de Oliveira.

1. Aflatoxina B1 2. fumonisina B1 3. zearalenona 4. micotoxicoses 5. suínos 6. intoxicação 7. resíduos. I. Oliveira, Carlos Augusto Fernandes, orient. II. Título



Protocolo nº 326-2021

Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Agricultura e Abastecimento
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Instituto de Zootecnia

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo intitulado “AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA DE ADSORVENTES PARA DIMINUIR OS EFEITOS TÓXICOS COMBINADOS DE AFLATOXINA B₁, FUMONISINA B₁ E ZEARALENONA EM SUÍNOS”, protocolo nº “326-2021, sob a responsabilidade de Carlos Augusto Fernandes de Oliveira, Fábio Enrique Lemos Budiño, Carlos Humberto Corassin, Micheli Midori de Cerqueira Costa Aoyanagi, que envolve a utilização de suínos para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) do INSTITUTO DE ZOOTECNIA, em reunião de 20/08/2021.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica <input type="checkbox"/> Treinamento
Vigência do Projeto	01/09/2021 a 30/10/2022
Espécie/Linhagem	<i>Sus acrofa domesticus/ suíno</i>
No. de Animais	24
Peso/Idade	11kg/ 28 dias
Sexo	24 fêmeas
Origem	Granja Comercial

José Evandro de Moraes
Presidente CEUA-IZ

MICHELI MIDORI DE CERQUEIRA COSTA AOYANAGI

**Avaliação do uso de adsorventes na alimentação de leitões desmamados
desafiados por micotoxinas**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciências pelo programa de Pós
Graduação em Zootecnia

Área de concentração: Qualidade e Produtividade
Animal

Orientador: Carlos Augusto Fernandes de Oliveira

Data da Aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora:

Carlos Augusto Fernandes de Oliveira – Presidente da Banca Examinadora
Prof. Dr. da Universidade de São Paulo – USP / FZEA

Fábio Enrique Lemos Budiño
Prof. Dr. do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa

Mônica Roberta Mazalli
Prof. Dra. da Universidade de São Paulo – USP / FZEA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo amor e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos Orixás, por todas as bênçãos e proteção concedidas ao longo de toda uma vida.

Aos meus pais, Gláucia e Jorge, que são a minha base e que sem eles não teria chegado onde cheguei.

À minha avó Gláucia, por sempre me apoiar, me amar e se fazer presente sempre que possível.

Ao meu Babalorixá Rick de Souza Bichoff por todo apoio espiritual e pessoal.

Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Fernandes de Oliveira, pela orientação e confiança no meu potencial, e por toda a humanidade e compreensão nos momentos de dificuldade.

Ao Dr. Fábio Enrique Lemos Budiño e à Dra. Simone Maria Massami Kitamura Martins por todo suporte prestado.

Ao Dr. José Evandro de Moraes e Dra. Carla Cachoni Pizzolante pela amizade, receptividade e auxílio prestado durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos funcionários do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa que foram grandes colaboradores na condução dos experimentos do projeto.

À Dra. Sarah Hwa In Lee, pois sem seu auxílio e amizade não conseguiria ingressar nesse programa.

Aos meus amigos de Guarulhos e Pirassununga por toda paciência e compreensão nos meus momentos de ausência.

A todos meus professores, pois sem eles nada disso seria possível.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, pela oportunidade da realização do curso de mestrado e da graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.” (Theodore Roosevelt)

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina” (Cora Coralina)

RESUMO

AOYANAGI, M. M. C. C. **Avaliação do uso de adsorventes na alimentação de leitões desmamados desafiados por micotoxinas.** 2024. 56 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

Micotoxinas são compostos oriundos do metabolismo secundário de fungos quando estes encontram condições climáticas adequadas, causando riscos à saúde animal e humana. Cerca de 88% dos alimentos destinados ao consumo animal estão contaminados por estas substâncias, levando a prejuízos econômicos na produção. Animais não ruminantes, especialmente suínos, são fortemente afetados pelas micotoxicoses crônicas, de forma a não apresentarem sintomatologia clara dificultando a correção do problema nas granjas. O uso de adsorventes vem como uma forma de minimizar os efeitos deletérios dessas intoxicações dentro da produção suinícola. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de dois adsorventes comerciais, uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) e um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM), para amenizar os efeitos adversos combinados de aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) em níveis de aproximadamente 0,5, 1,0 e 1,0 mg/kg, em uma coorte de leitões cruzados (N = 24). As leitões foram alocadas aleatoriamente em seis grupos experimentais (controle, micotoxinas (MTX), MTX + CMO 1,5%, MTX + OMC 3,0%, MTX + ADMM 1,5% e MTX + ADMM 3,0%), cada um, composto por quatro indivíduos, e submetidos a um regime alimentar de 42 dias. A administração combinada de AFs, FBs e ZEN reduziu o ganho de peso corporal e aumentou o peso relativo do fígado, enquanto não houve influência negativa observada na bioquímica sérica dos animais. No entanto, a aplicação criteriosa dos adsorventes, CMO e ADMM, não apenas amenizou os efeitos tóxicos observados na histologia dos órgãos, mas também resultou em uma redução significativa nos níveis residuais de AFs, FBs e ZEN no fígado e nos rins. Em particular, a suplementação de CMO foi capaz de reduzir o início da carcinogênese hepática sem quaisquer efeitos colaterais hepatotóxicos. Estes resultados demonstram que o CMO e ADMM reduziram efetivamente os efeitos adversos das AFs, FBs e ZEN em leitões. Estudos futuros devem abordar os efeitos protetores de longo prazo dos adsorventes avaliados, com vistas à otimização das estratégias de manejo de micotoxinas em criações comerciais de suínos.

Palavras-chave: Aflatoxina B₁; fumonisina B₁; intoxicação; micotoxicoses; resíduos; suínos, zearalenona.

ABSTRACT

AOYANAGI, M. M. C. C. **Evaluation of the use of adsorbents in feeding weaned gilts challenged by mycotoxins.** 2024. 56 p. M. Sc. School of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga.

Mycotoxins are compounds originating from the secondary metabolism of fungi when they encounter suitable climatic conditions, causing risks to animal and human health. About 88% of food intended for animal consumption is contaminated by these substances, leading to economic losses in production. Non-ruminant animals, especially pigs, are strongly affected by chronic mycotoxicosis, so that they do not present clear symptoms, making it difficult to correct the problem on farms. The use of adsorbents comes to minimize the deleterious effects of these intoxications within swine production. The objective of this study was to evaluate the efficacy of two commercial adsorbents, an organically modified clinoptilolite (OMC) and a multicomponent mycotoxin detoxifying agent (ADMM), to ameliorate the combined adverse effects of dietary aflatoxins (AFs), fumonisins (FBs), and zearalenone (ZEN) at levels around 0.5, 1.0, and 1.0 mg/kg, on a cohort of cross-bred female pigs (N = 24). Pigs were randomly allocated into six experimental groups (control, mycotoxins (MTX) alone, MTX + OMC 1.5 kg/ton, MTX + OMC 3.0 kg/ton, MTX + ADMM 1.5 kg/ton, and MTX + ADMM 3.0 kg/ton), each consisting of four individuals, and subjected to a dietary regimen spanning 42 days. The administration of combined AFs, FBs, and ZEN reduced the body-weight gain and increased the relative weight of the liver, while there was no negative influence observed on the serum biochemistry of animals. The supplementation of OMC and ADMM ameliorated the toxic effects, as observed in organ histology, and provided a notable reduction in residual AFs, FBs, and ZEN levels in the liver and kidneys. Moreover, the OMC supplementation was able to reduce the initiation of liver carcinogenesis without any hepatotoxic side effects. These findings demonstrate that the use of OMC and ADMM effectively mitigated the adverse effects of dietary AFs, FBs, and ZEN in piglets. Further studies should explore the long-term protective effects of the studied adsorbent supplementation to optimize mycotoxin management strategies in pig-farming operations.

Keywords: Aflatoxin B₁; Fumonisin B₁; mycotoxicosis; pigs; poisoning; residues; zearalenone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore filogenética de <i>Artiodactyla</i> , de seu surgimento no Cretáceo até os dias atuais.	15
Figura 2 - Possíveis caminhos para a domesticação de <i>Sus scrofa</i>	16
Figura 3 - Suinocultura brasileira em números	17
Figura 4 - Processo de produção de grãos, desde a cultura até o consumidor final	19
Figura 5 - Fórmula estrutural das aflatoxinas B ₁ , G ₁ , M ₁ , B ₂ , G ₂ e M ₂	21
Figura 6 - Processo de biotransformação da AFB ₁	22
Figura 7 - Estrutura química das fumonisinas B ₁ , B ₂ e B ₃	23
Figura 8 - Grãos de milho infectados por <i>Fusarium</i> sp	23
Figura 9 - Estrutura da FB ₁ e das bases esfingoides	24
Figura 10 - Estrutura química da zearalenona, α -zearalenol e β -zearalenol	25
Figura 11 - Biotransformação da zearalenona e seus principais metabólitos	26
Figura 12 - Acomodação dos animais em baias individuais	32
Figura 13 - Mixer horizontal/helicoidal (A) e amostras de sangue em tubos Vacuette® (B)	34
Figura 14 - Órgãos separados para a pesagem (A), álcoois graduados e xilol para diafanização tecidual (B)	35
Figura 15 - Etapas analíticas para extração de resíduos de micotoxinas de amostras de fígado e rins, conforme descrito por Cao et al., (2018)	36
Figura 16 - Achados histopatológicos em fígados	41
Figura 17 - Achados histopatológicos em rins	42
Figura 18 - Achados histopatológicos em pulmões	43
Figura 19 - Achados histopatológicos em ovários	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso dos leitões ao recebimento nas instalações e após 14 dias de adaptação	33
Tabela 2 - Tratamentos dietéticos e respectivas concentrações de micotoxinas em rações experimentais	33
Tabela 3 - Parâmetros analíticos do método analítico para determinação de resíduos de micotoxinas em fígado e rins	37
Tabela 4 - Eficiência de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) no desempenho de leitões após 42 dias de intoxicação	38
Tabela 5 - Eficiência de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre a bioquímica sérica de leitões durante 42 dias de intoxicação	39
Tabela 6 - Eficiência de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre os pesos relativos dos órgãos (g/kg de peso corporal) de leitões após 42 dias de intoxicação	40
Tabela 7 - Eficiência de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre as medidas de tamanho (cm) da vulva de leitões após 42 dias de intoxicação	40
Tabela 8 - Eficiência de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre os resíduos de micotoxinas no fígado de leitões após 42 dias de intoxicação	45
Tabela 9 - Eficiência de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre os resíduos de micotoxinas nos rins de leitões após 42 dias de intoxicação	46

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1. REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1. EVOLUÇÃO E DOMESTICAÇÃO DOS SUÍNOS	15
1.2. SUINOCULTURA	16
1.3. OCORRÊNCIA DE MICOTOXINAS EM RAÇÕES PARA SUINOCULTURA	18
1.4. MICOTOXINAS	19
1.4.1. <i>Aflatoxinas</i>	20
1.4.2. <i>Fumonisinias</i>	22
1.4.3. <i>Zearalenona</i>	25
1.5. COMPOSTOS ADSORVENTES DE MICOTOXINAS	26
1.6. DETECÇÃO DE MICOTOXINAS	28
1.7. BIOMARCADORES	29
2. OBJETIVOS	31
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1. ANIMAIS, DIETAS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	32
3.2. DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE MICOTOXINAS EM FÍGADO E RINS	35
5. RESULTADOS	38
5.1. DESEMPENHO	38
5.2. BIOQUÍMICA DO SORO	38
5.3. PESO RELATIVO DOS ÓRGÃOS	39
5.4. HISTOPATOLOGIA	41
5.5. RESÍDUOS DE MICOTOXINAS EM FÍGADO E RINS	45
6. DISCUSSÃO	47
7. CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	52

INTRODUÇÃO

Micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por algumas espécies de fungos quando estes encontram condições climáticas favoráveis e que causam riscos à saúde animal e humana (PRESTES et al., 2019). Existem mais de trezentas micotoxinas conhecidas produzidas por diversos fungos, sendo os principais gêneros produtores *Fusarium spp* (tricotecenos, fumonisinas e zearalenona), *Aspergillus spp* (aflatoxinas e ocratoxina A) e *Penicillium spp* (ocratoxina A) (SOUTO et al., 2017).

No mundo, cerca de 88% dos alimentos destinados ao consumo animais estão contaminados com pelo menos uma micotoxina, tendo maior ocorrência para as que são produzidas pelo gênero *Fusarium*, sendo a desoxinivalenol, as fumonisinas e a zearalenona as mais encontradas, respectivamente, gerando grandes prejuízos econômicos (HOLANDA; KIM, 2021).

Alguns fungos têm a capacidade de produzir mais de um tipo de micotoxina, e uma mesma micotoxina pode ser produzida por mais de uma espécie de fungo. Os cereais mais comumente acometidos são trigo, centeio, cevada, aveia e milho (VILA-DONAT et al., 2018), portanto a ocorrência simultânea das micotoxinas e suas interações são muito comuns. Essas interações podem ter efeitos antagônicos, potencializadores ou sinérgicos (SVOBODA et al., 2019).

Os efeitos tóxicos causados pelas micotoxinas na saúde são denominados micotoxicoses. Seu grau de intoxicação e sintomatologia dependem de inúmeros fatores, como o tipo de micotoxina, espécie animal, quantidade ingerida, tempo de exposição, estado de saúde e idade do animal, além de outros fatores de estresse (ELLIOTT; CONNOLLY; KOLAWOLE, 2020). Os suínos estão entre os animais mais afetados pelas micotoxicoses (CHAYTOR et al., 2011) e a sintomatologia mais comum é a presença de lesões de pele, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hematotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, imunossupressão, redução de libido, anestro, vulvovaginite, aumento da mortalidade embrionária, edema dos ovários e útero, redução do volume testicular e morte (SOUTO et al., 2017). Entretanto, 90% das intoxicações são de caráter crônico ou sub-crônico, não apresentando sinais clínicos específicos e sendo facilmente confundidas com outras afecções crônicas, falhas de manejo ou até mesmo desnutrição (DILKIN, 2011).

A melhor forma de prevenção de micotoxicoses é evitar o crescimento de fungos na planta, na pré-colheita ou na armazenagem. Procedimentos como a seleção de plantas resistentes aos fungos, seleção de grãos de qualidade evitando a armazenagem de grãos ardidos, redução da umidade dos grãos colhidos e armazenagem de acordo com os padrões estabelecidos

são de extrema importância. O uso de inibidores de crescimento dos fungos também tem se tornado uma prática comum (SANTURIO, 2007).

Todavia, mesmo com as medidas preventivas é possível que haja o crescimento fúngico e consequente contaminação dos grãos, portanto tem-se utilizado diversas substâncias na dieta, como adsorventes minerais ou orgânicos, que são compostos que visam reduzir a absorção de micotoxinas pelo trato gastrointestinal e sua distribuição para o sangue e órgãos-alvo através de ligação às micotoxinas, reduzindo assim os efeitos deletérios na saúde animal e, conseqüentemente, o prejuízo econômico gerado pela mesma (SANTURIO, 2007; VILA-DONAT et al., 2018).

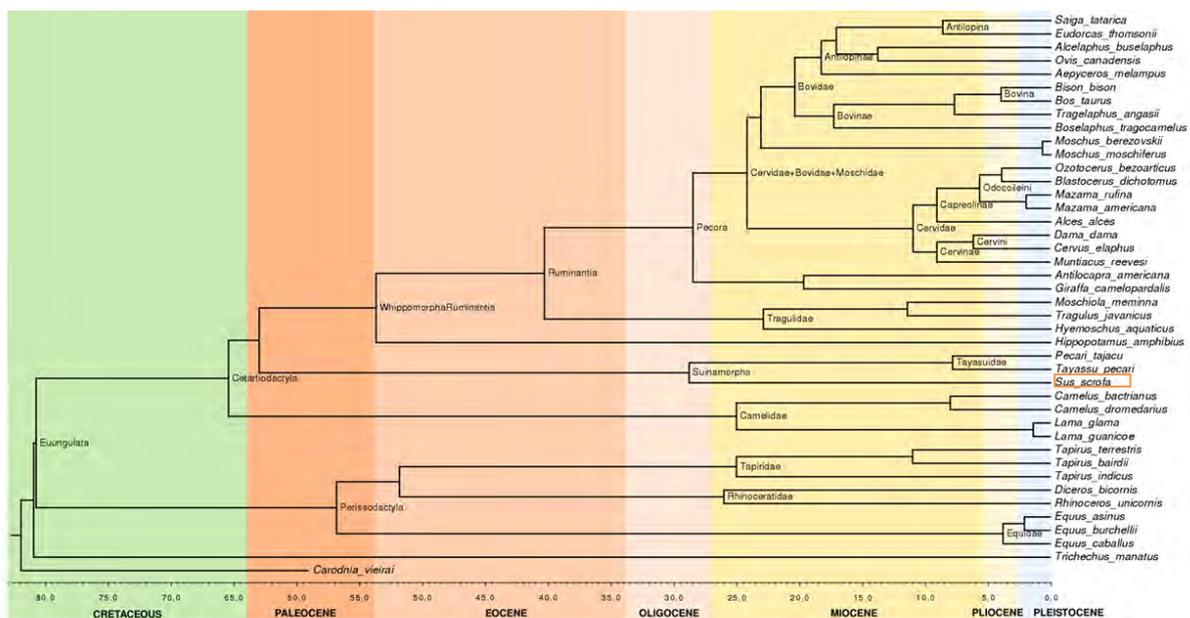
Muitos desses adsorventes encontrados no mercado não foram testados de forma eficaz para conhecimento de seu real potencial *in vivo*, sendo basicamente utilizados resultados de análises *in vitro*. Devido a toda variação fisiológica do ambiente digestivo, testes *in vivo* devem ser realizados para a análise da eficácia dos adsorventes na dieta a fim de comprovar sua capacidade de ligação e eliminação das micotoxinas, reduzindo assim os prejuízos econômicos e sanitários dentro da suinocultura.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Evolução e domesticação dos suínos

O ancestral comum dos suínos atuais (*Artiodactyla*, *Suinamorpha*) teve seu surgimento ainda no Oligoceno (Figura 1), porém as evidências da interação intensiva dos suínos (*Sus scrofa*) com os humanos datam de mais de 10 mil anos, no holoceno, período este marcado pela ascensão da agricultura e pecuária na história da humanidade conhecido como Revolução Agrícola Neolítica, sendo considerada a primeira grande transformação da economia humana, contribuindo então para a formação das civilizações (MAZOYER; ROUDART, 2010).

Figura 1 - Árvore filogenética de *Artiodactyla*, de seu surgimento no Cretáceo até os dias atuais.



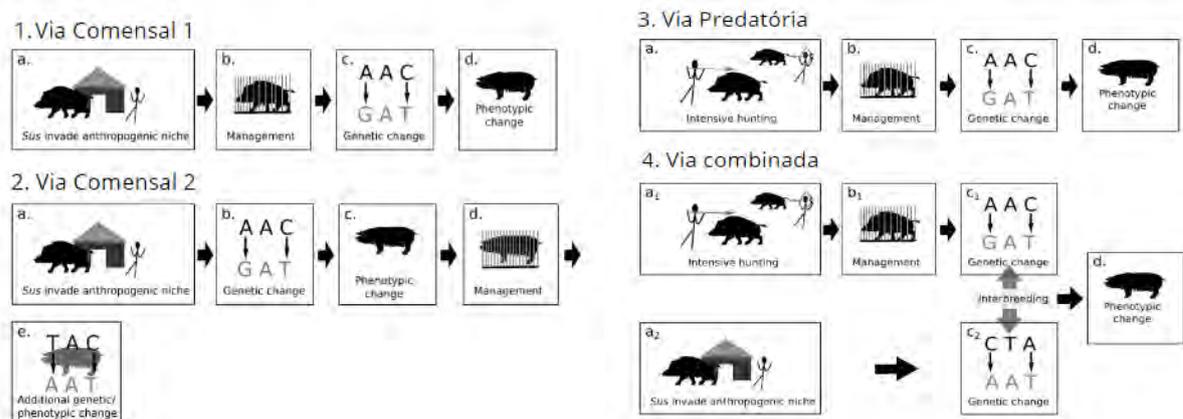
Fonte: ABRANCHES, 2012

Determinar exatamente como e quando se deu a domesticação dos suínos é um trabalho complexo visto que, evidências sugerem que não houve um evento único. Distinguir as relações entre caça intensiva, manejo de caça e de rebanho, comensalismo e domesticação propriamente dita é difícil com as metodologias arqueológicas atuais. Zeder (2012) estipulou como sendo três as formas de domesticação dos animais, tomando como base a intencionalidade humana: 1. Via comensal, o caminho com menor intenção humana, na qual os animais se aproximam e se adaptam aos nichos antropogênicos, sendo logo após explorados e selecionados pelos humanos conforme seus fenótipos; 2. Via predatória, onde há uma adaptação da população animal devido

à pressão de caça e uma seleção inconsciente de fenótipos raros ou novos; 3. Via direcionada, seleção direta de fenótipos de interesse através do cultivo e reprodução dos animais em cativeiro. Esta terceira via necessita que haja já instalado o conceito de domesticação dos porcos, tornando-se, portanto, irrelevante para este primeiro momento da pré-história, sendo então mais adequado considerar uma mistura das duas primeiras vias para chegarmos à domesticação de fato (PRICE; HONGO, 2020).

Na Figura 2 é possível observar a ação das vias supracitadas, em (1) os animais selvagens invadem o nicho antropogênico, dando a possibilidade dos humanos administrarem suas populações e conseqüentemente exercendo uma pressão de seleção, alterando o genótipo e o fenótipo. Em (2) demonstra-se uma outra rota da via comensal, onde, após a invasão pelos animais selvagens, há primeiro a alteração do genótipo e fenótipo para um posterior gerenciamento desses animais. Em (3) a caça intensiva seguida do manejo exerce a pressão de seleção dos animais selvagens e em (4) a caça intensiva e o comensalismo ocorrem de maneira simultânea, havendo junção das populações geneticamente diferentes e hibridização entre elas, levando ao desenvolvimento de espécies domésticas.

Figura 2 - Possíveis caminhos para a domesticação de *Sus scrofa*.



Fonte: PRICE; HONGO, 2020 (adaptado)

1.2. Suinocultura

A prolificidade da espécie e seu hábito alimentar onívoro, além de sua inteligência e capacidade de adaptação foram fatores cruciais para a domesticação dos suínos (PRICE;HONGO, 2020)

Atualmente, a produção de carne suína é a segunda maior do mundo, atingindo a marca de 122,5 milhões de toneladas em 2021, ficando atrás somente da produção de frango com 137,8 milhões de toneladas. Esses números são liderados pela China, que colabora com cerca de 54 milhões de toneladas na produção suinícola (FAO, 2021).

Já o Brasil, em 2021, produziu mais de 4 milhões de toneladas de carne suína, sendo que desse total cerca de 76% foi destinada ao abastecimento do mercado interno e os 24% restantes foram destinados à exportação para 86 países conforme ilustrado na figura 3, sendo a China o maior comprador, seguida de Hong Kong e Chile (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA, 2022).

Figura 3 - Suinocultura brasileira em números.



Fonte:ABPA, 2022.

O valor bruto da produção suinícola ultrapassou os R\$ 31 milhões em 2021, apresentando uma queda de aproximadamente 4% em relação ao ano anterior, demonstrando também uma queda na margem de lucro para os produtores (ABPA, 2022).

Mas voltando um pouco na linha do tempo, no ano de 2018 alguns países da Europa e Ásia, dentre eles a China, principal destino de exportação de carne suína do mercado brasileiro, vivenciaram um surto de peste suína africana – PSA. A doença, que é altamente contagiosa, dizimou rapidamente o plantel suíno chinês, fazendo com que sua demanda de importação aumentasse consideravelmente nos anos de 2019 e 2020, impulsionando as exportações brasileiras para a China, principal destino da produção suinícola do Brasil. A perspectiva é de que nos próximos anos a China recupere seu rebanho e conseqüentemente, as exportações brasileiras para esse destino diminua, como já vem acontecendo (PINTO; NARDI JUNIOR, 2022).

Outro fator importante que influenciou a queda na produção suinícola brasileira foi a pandemia de SARS-COV-2, que teve início em dezembro de 2019, com seu fim decretado em maio de 2023, embora o vírus permaneça circulante com menor letalidade. O modelo de produção atual, tendo cada uma de suas etapas um período específico de duração, acabou sendo prejudicado com o fechamento de diversos estabelecimentos, gerando não só perdas para produtores e desperdício alimentar, mas também a necessidade da redução do ritmo e quantidade de produção de carne suína (SCHNEIDER et al., 2020).

Diante do exposto acima, pode-se afirmar que produzir de forma economicamente eficiente é imprescindível para a manutenção da atividade. Na produção animal cerca de 70% do investimento é em alimentação, e esta, na criação de suínos, é baseada em grãos (DIAS et al., 2011; OLIVER et al., 2020).

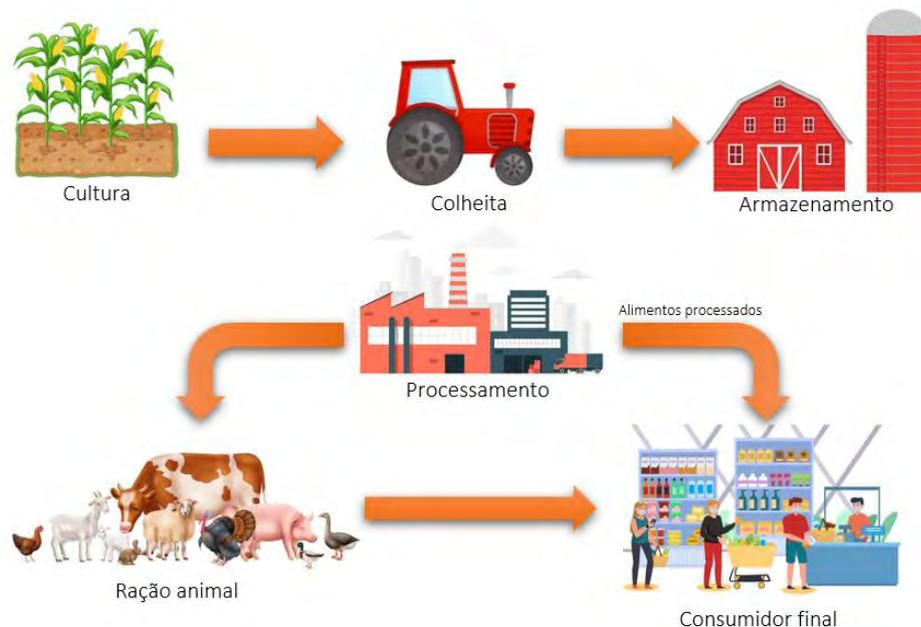
A composição das rações varia conforme a disponibilidade de grãos, mas é composta basicamente de milho e soja no Brasil. Deve-se ter em mente que não somente o preço dos insumos influenciam na produção e conseqüentemente no lucro do produtor, mas também a qualidade desses componentes, devendo-se priorizar ingredientes de boa qualidade, mantê-los bem armazenados e livres de impurezas como contaminantes e micotoxinas (BRAND, 2018; DIAS et al., 2011).

1.3. Ocorrência de micotoxinas em rações para suinocultura

Com o desenvolvimento de conhecimentos científicos e tecnológicos tem sido possível imprimir grandes avanços na suinocultura industrial, como o melhoramento genético e qualidade de galpões, influenciando diretamente na qualidade da carne. Outros fatores também influenciam na qualidade do produto final, como sanidade de rebanho, manejo e nutrição adequados e qualidade da ração ofertada (NONES, 2010).

Em países com o clima tropical e subtropical, como o Brasil, o crescimento fúngico é favorecido devido a fatores ambientais como temperatura e umidade. Esses fungos crescem e se proliferam bem em cereais, como amendoim, milho, trigo, cevada, arroz e sorgo, tendo nesses grãos um substrato rico em nutrientes. O crescimento fúngico pode acontecer em diversas fases da produção dos grãos, desde o desenvolvimento da planta até a armazenagem dos grãos secos (figura 4). Fungos filamentosos despertam um interesse em particular: alguns gêneros possuem a capacidade de produzir substâncias tóxicas denominadas micotoxinas, causando micotoxicoses, que são intoxicações causadas pela ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas (DILKIN, 2011; NONES, 2010).

Figura 4: Processo de produção de grãos, desde a cultura até o consumidor final.



Fonte: Própria autoria

1.4. Micotoxinas

Micotoxinas são compostos orgânicos secundários produzidos por diversas espécies de fungos quando estes encontram-se em condições climáticas favoráveis e que causam riscos à saúde animal e humana. São conhecidas mais de trezentas micotoxinas, tendo maior importância sanitária aquelas produzidas pelos gêneros *Fusarium spp* (tricotecenos, fumonisinas e zearalenona), *Aspergillus spp* (aflatoxinas e ocratoxina A) e *Penicillium spp* (ocratoxina A) (SOUTO et al., 2017; PRESTES et al., 2019).

No mundo cerca de 88% dos alimentos destinados ao consumo animal estão contaminados com pelo menos uma micotoxina, tendo prevalência para as que são produzidas pelo gênero *Fusarium spp*, sendo a desoxinivalenol, as fumonisinas e a zearalenona as mais encontradas, respectivamente, gerando grandes prejuízos econômicos (HOLANDA; KIM, 2021).

Alguns fungos têm a capacidade de produzir mais de um tipo de micotoxina, e uma mesma micotoxina pode ser produzida por mais de uma espécie de fungo e os cereais mais comumente acometidos são trigo, centeio, cevada, aveia e milho (VILA-DONAT et al., 2018), portanto a ocorrência simultânea das micotoxinas e suas interações são muito comuns. Essas interações podem ter efeitos antagônicos, potencializadores ou sinérgicos (SVOBODA et al., 2019). Além das interações, um outro grande problema das micotoxinas é sua alta estabilidade química, fazendo com que estas permaneçam nos alimentos mesmo após os processos industriais, como cocção e pasteurização, mantendo ainda seu potencial tóxico (NONES, 2010).

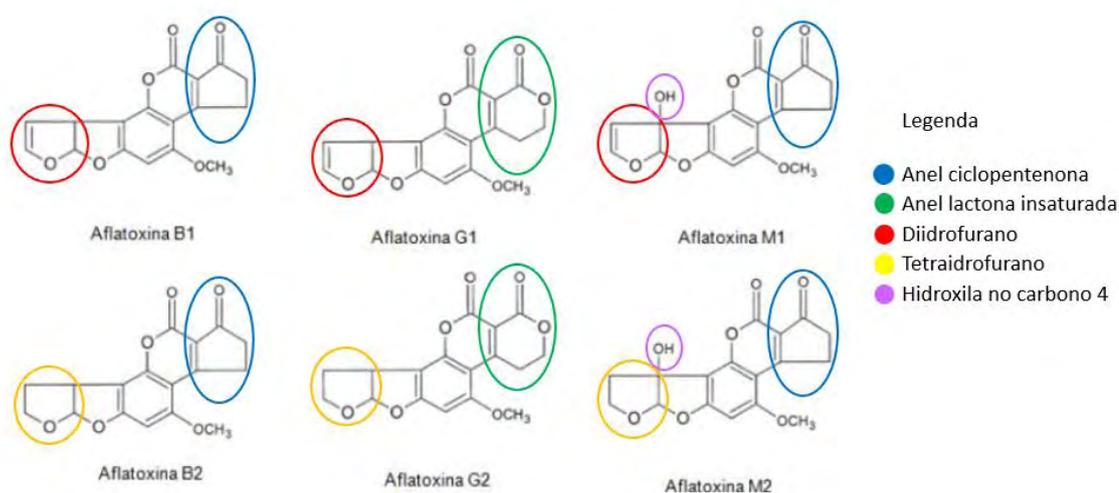
O resultado desses efeitos no organismo é chamado de micotoxicose, que é a intoxicação causada pela ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas. Podem ser de caráter agudo, quando se ingere altas doses das toxinas, ou crônico, com a ingestão de doses baixas. A sintomatologia também é dose-dependente e varia devido a diversos outros fatores como a estrutura química da molécula ingerida, interação entre diversas micotoxinas, tempo de exposição, espécie, estado de saúde do animal, idade, fatores estressantes, entre outros (ELLIOTT; CONNOLLY; KOLAWOLE, 2020). Dentre as espécies domésticas, os suínos destacam-se por sua susceptibilidade às micotoxicoses (CHAYTOR et al., 2011), sendo muito comum apresentarem sintomas mais inespecíficos, visto que 90% dos casos a intoxicação é crônica, podendo ser facilmente confundidos com outras afecções crônicas, falhas de manejo ou desnutrição (DILKIN, 2011). Entre os sintomas mais marcantes estão as lesões de pele, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hematotoxicidade, redução de libido, anestro, imunossupressão, mutagenicidade e morte (SOUTO et al., 2017).

No Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) juntamente com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) são os órgãos responsáveis pela regulamentação e fiscalização dos limites máximos permitidos de micotoxinas, porém esses valores são determinados para produtos voltados para o consumo humano, para alimentação animal o Brasil não dispõe de legislação, sendo então adotado como parâmetro os valores descritos na legislação da União Européia (ANVISA, 2011; BISCOTO, 2022).

1.4.1. Aflatoxinas

As aflatoxinas são moléculas lipofílicas e estão entre as micotoxinas mais tóxicas presentes na natureza, visto que são potencialmente carcinogênicas e representam um grande risco em relação à segurança alimentar em todo o mundo. São produzidas por fungos do gênero *Aspergillus spp*, um fungo saprófito, porém o gênero também é considerado um fitopatógeno que atinge diversos vegetais, entre eles, os cereais. Existem alguns tipos de aflatoxinas, sendo as de maior interesse médico-sanitário aquelas produzidas por *Aspergillus flavus* (aflatoxinas B₁ e B₂) e *Aspergillus parasiticus* (aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂), essas aflatoxinas diferenciam-se, por sua vez, devido à fluorescência que emitem quando estimuladas por luz UV, sendo B de *blue* (azul) e G de *green* (verde). Outros dois produtos metabólicos também apresentam grande interesse AFM₁ e AFM₂, encontradas principalmente no leite (M de *milk*). Dentre essas, a AFB₁ é considerada a que gera maiores prejuízos à saúde (JUSTINO, 2020; SILVA et al., 2022).

Figura 5 - Fórmula estrutural das aflatoxinas B₁, G₁, M₁, B₂, G₂ e M₂



Fonte: SOUTO et al., 2017 (adaptado)

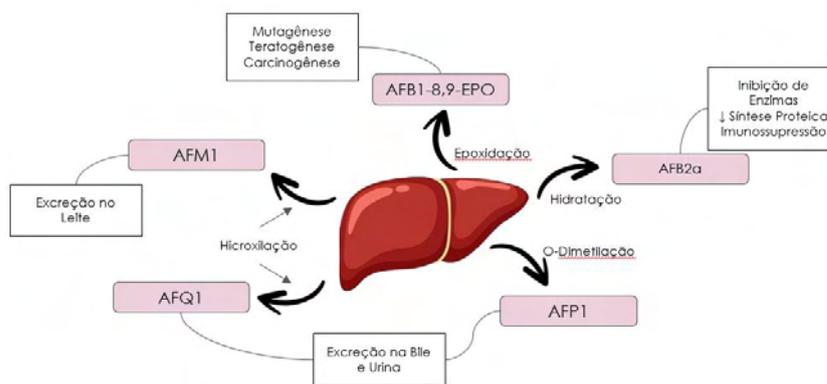
Embora apresentem semelhanças estruturais, as aflatoxinas possuem diferentes graus de atividade biológica, sendo a AFB₁ aquela que apresenta maior toxicidade. As aflatoxinas pertencem ao grupo das furanocumarinas, sendo então formadas por um centro cumarínico ligado a uma estrutura bifuranóide, podendo ser um diidrofurano e/ou um tetraidrofurano, sendo que as dos grupos B e M apresentam uma ciclopentenona em sua molécula, enquanto as do grupo G apresentam uma lactona insaturada, conforme apresentado na figura 5 (ANJOS, 2014; BARROS, 2013).

As aflatoxinas, quando em temperatura ambiente, são sólidas, incolores, inodoras e insípidas, não sendo, portanto, identificáveis através de olfato ou paladar. São extremamente termoestáveis

quando em estado puro, porém tornam-se sensíveis a luz UV quando solubilizadas em solventes polares como acetonitrila, clorofórmio, benzeno, tolueno, metanol e etanol. Podem ser destruídas em soluções fortemente alcalinas, por tratamento com hipoclorito e por esterilização na presença de amônia, tornando-se inviável sua destruição em alimentos e ingredientes (ANJOS, 2014; BARROS, 2013).

Quando absorvidas pelo trato gastrointestinal, as aflatoxinas podem passar pelo processo de biotransformação (figura 6) que ocorre majoritariamente no fígado através de enzimas pertencentes ao sistema do citocromo P450, originando outros compostos de importância para a saúde animal e humana devido ao seu potencial imunossupressor, carcinogênico, mutagênico e teratogênico, sendo as aflatoxinas classificadas como pertencentes ao Grupo 1 pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer - IARC - em 2012 (JUSTINO, 2020). Estudos sobre a biotransformação hepática da AFB₁ indicaram que seu metabólito primário, a AFM₁, é um importante biomarcador que pode ser detectado na urina e no leite devido à sua afinidade mais hidrofílica, porém o produto de maior gravidade é o AFB₁-8,9-epóxido (AFBO), resultante da epoxidação da AFB₁, visto que este composto tem a capacidade de se ligar covalentemente a proteínas e ao DNA, manifestando suas propriedades mutagênicas (FRANCO et al., 2020).

Figura 6: Processo de biotransformação da AFB₁

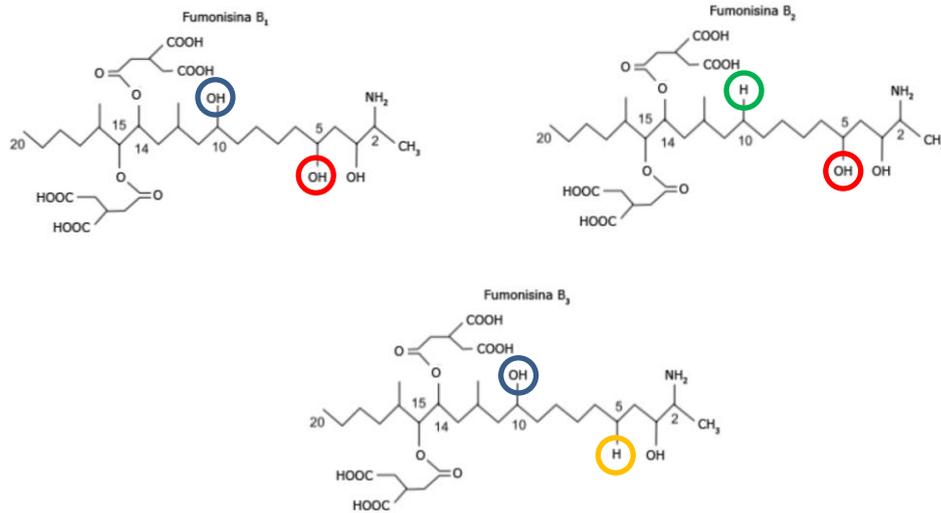


Fonte: Própria autoria

1.4.2. Fumonisinias

As fumonisinias, diferentemente das aflatoxinas e da zearalenona, são moléculas hidrofílicas produzidas por fungos do gênero *Fusarium spp.* O grupo conta com mais de 20 variedades dividido em quatro subgrupos (A, B, C e P). As fumonisinias B₁, B₂ e B₃ (figura 7) são de grande importância na saúde pública, sendo a fumonisinina B₁ (FB₁) a mais encontrada nos alimentos (MINAMI et al., 2004).

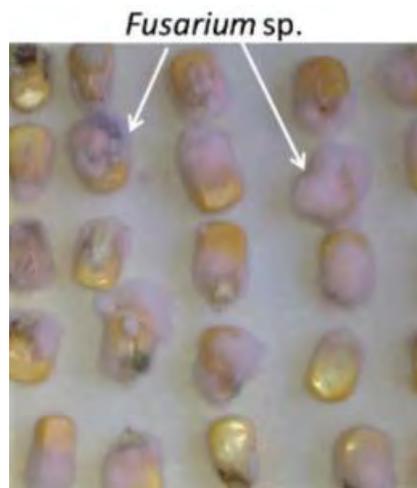
Figura 7 - Estrutura química das fumonisinas B₁, B₂ e B₃



Fonte: MINAMI et al., 2004 (adaptado)

O gênero desses fungos normalmente contamina o milho, podendo ser encontrado também em outras culturas, como sorgo e arroz. Por vezes, a detecção de *Fusarium* spp é difícil, podendo ou não causar danos físicos; entretanto, no milho, é possível observar uma descoloração esbranquiçada ou rósea em seus grãos (figura 8). As fumonisinas causam grandes prejuízos econômicos na criação de suínos, causando a síndrome do edema pulmonar, hidrotórax, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade aliadas à hipercolesterolemia (CHAYTOR et al., 2011; MINAMI et al., 2004).

Figura 8 - Grãos de milho infectados por *Fusarium* sp

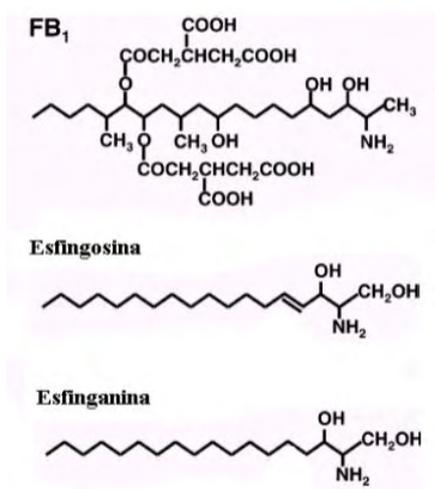


Fonte: SILVA et al., 2015

A FB₁ foi classificada pela IARC como pertencente ao grupo 2B de carcinógenos e sua estrutura química é análoga à esfingosina e esfinganina (figura 9), podendo interferir no

metabolismo dos esfingolípídios, que, juntamente com os fosfolípídeos, compõem os principais lipídeos presentes nas membranas celulares, sendo de extrema importância na manutenção da estrutura lipoproteica da membrana, comunicação celular, modulação dos receptores de fatores de crescimento e citocinas, atuando como segundos mensageiros nas vias de sinalização interferindo no crescimento celular, diferenciação e morte celular.

Figura 9 - Estrutura da FB₁ e das bases esfingoides



Fonte: MINAMI et al., 2004

A FB₁ liga-se ao sítio catalítico da ceramida sintase [esfingosina (esfinganina)-N-acetiltransferase] causando um rápido acúmulo de esfinganina intracelular a níveis tóxicos e a redução de esfingolípídeos nas células. Esta micotoxina pode ainda atuar em sítios de regulação celular, influenciando na proliferação e comunicação celular, apoptose, adesão, indução do estresse oxidativo e modulação da expressão gênica de forma indireta, através de: (i) morte celular e regeneração compensatória (potencial erro não reparado); (ii) potencialidade de aumentar as chances de sobrevivência de células com DNA danificado; (iii) maior possibilidade de sobrevivência de células com DNA defeituoso por insensibilidade aos mecanismos apoptóticos do bloqueio do metabolismo de esfingolípídeos (MINAMI et al., 2004).

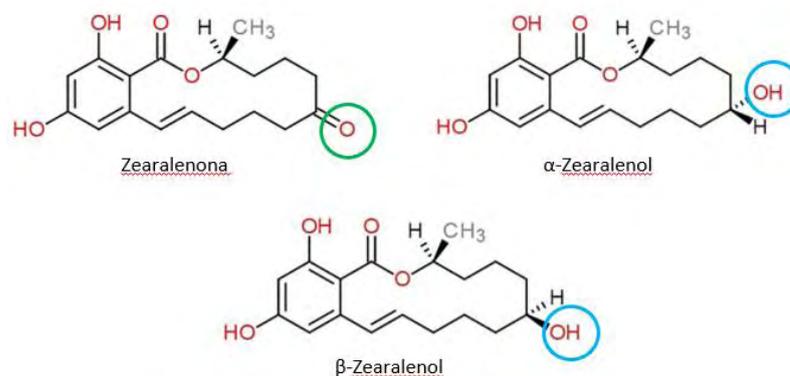
Sua biotransformação é feita por carboxilíesterases via processo de hidrólise, formando a fumonisina B₁-hidrolisada (hFB₁). Estas enzimas estão presentes em todas as células animais e são responsáveis por degradar diversos compostos exógenos, porém até o momento não foi demonstrada sua ação sobre a FB₁ *in vivo*. Uma forma de obter essa hidrólise da FB₁ no milho contaminado é através de um processo chamado nixtamalização, que consiste no cozimento alcalino e maceração do milho, onde o pH elevado e a alta temperatura auxilia no amolecimento do endosperma e facilita a soltura do pericarpo. Essa hidrólise alcalina cliva o ácido

tricarbalílico das cadeias laterais da FB₁, levando à formação da FB₁ hidrolisada. Outra forma seria a utilização de microrganismos que produzam fumonisina-carboxilesterases, degradando assim a FB₁, sugerindo um potencial uso destas enzimas como um aditivo a fim de reduzir a absorção de fumonisinas (CHEN et al., 2021; GRENIER et al., 2012; OLIVER et al., 2020; SCHAARSCHMIDT; FAUHL-HASSEK, 2019).

1.4.3. Zearalenona

A zearalenona (ZEN) é uma molécula lipofílica, estrogênica e não esteróide produzida por fungos do gênero *Fusarium spp.* É uma substância cristalizável, de coloração branca, podendo emitir fluorescência azul sob luz UV de ondas longas (366nm) e é solúvel em acetonitrila, metanol, éter dietílico, benzeno, acetato de etila e álcoois (RAJ et al., 2020; TONINI, 2020).

Figura 10 - Estrutura química da zearalenona, α -zearalenol e β -zearalenol



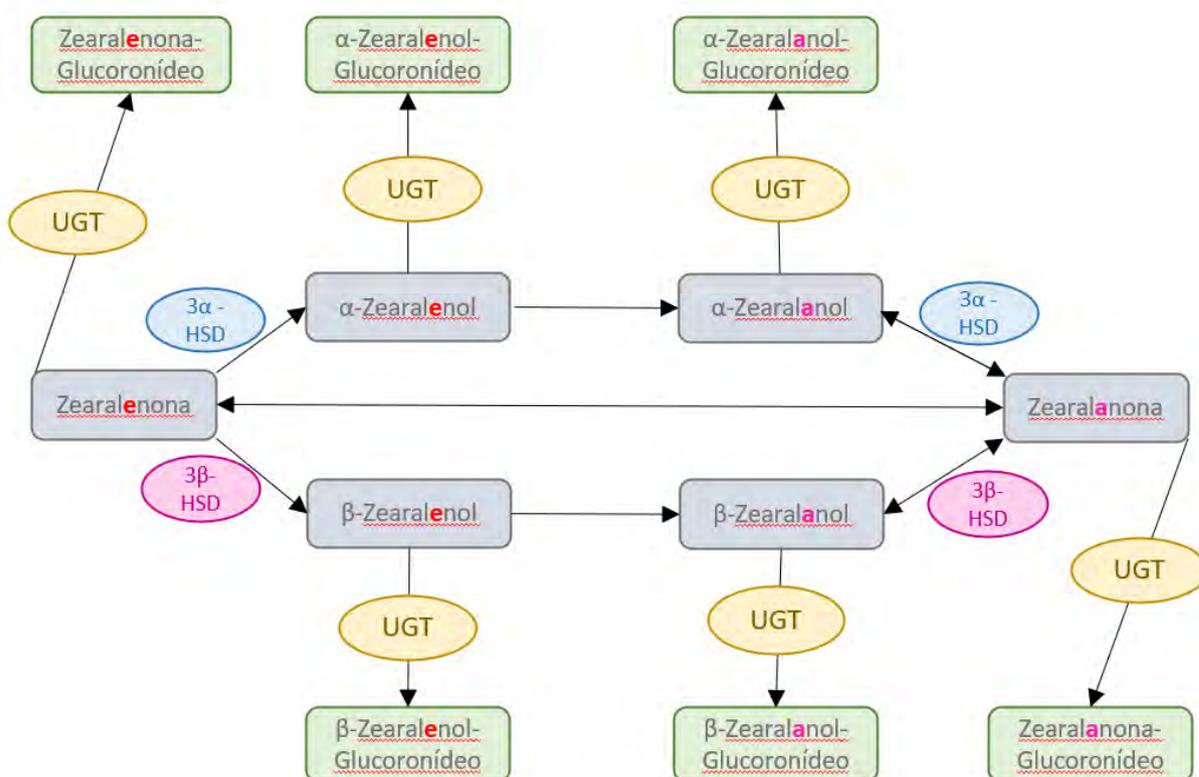
Fonte: BURANATRAGOOL et al., 2015 (adaptado)

Por ter uma característica lipofílica, a zearalenona e/ou seus metabólitos (figura 10) são rapidamente absorvidos no trato gastrointestinal, especificamente no intestino, via difusão passiva passando do quimo diretamente para a corrente sanguínea, onde é distribuída tendo como os principais sítios de atuação àqueles que exibam receptores estrogênicos, como útero, ovários, testículos e tecido adiposo. Esta micotoxina se liga competitivamente aos receptores estrogênicos, podendo levar o indivíduo a apresentar hiperestrogenismo (DE OLIVEIRA; FRANCO; MUAZ, 2021; TONINI, 2020).

Sua biotransformação ocorre no fígado através da hidroxilação pela enzima 3α e 3β -hidroxiesteroide desidrogenase (3α e 3β -HSD), produzindo α -zearalenol (α -ZEL) e β -zearalenol (β -ZEL), metabólitos que serão conjugados com ácido glicurônico através da enzima

uridina-difosfato-glucoronil-transferase (UGT), podendo ser utilizados como biomarcadores para a presença de ZEN. Caso haja uma nova redução desses metabólitos, originarão o α -zearalanol (α -ZAL) e β -zearalanol (β -ZAL) também através da ação das 3α e 3β -HSD, conforme resumido na figura 11. Essas reações são responsáveis por tornar estes compostos em substâncias hidrossolúveis, a fim de facilitar sua excreção. (DE OLIVEIRA; FRANCO; MUAZ, 2021; TONINI, 2020).

Figura 11 - Biotransformação da zearalenona e seus principais metabólitos



Fonte: Própria autoria

1.5. Compostos adsorventes de micotoxinas

Obviamente uma ração de boa qualidade deve ser livre de contaminantes, seja de ordem microbiológica, química ou toxicológica, portanto a melhor forma de prevenção de micotoxicoses é evitar o crescimento fúngico nas plantas, na pré-colheita ou na armazenagem. Para tanto, é necessário que haja uma seleção de plantas que sejam resistentes aos fungos e, posteriormente, selecionar também os grãos sadios, evitando o armazenamento de grãos ardidos. Garantir que todas as recomendações de higiene, processamento e armazenamento sejam seguidas na propriedade, assim como averiguar a idoneidade dos fornecedores dos

ingredientes ou das rações comerciais quando for o caso. Atualmente tem se tornado bastante comum também o uso de inibidores de crescimento fúngico como forma de prevenir contaminações por micotoxinas (BRAND, 2018; SANTURIO, 2007).

Mesmo com as medidas preventivas é possível que haja o crescimento fúngico e consequente contaminação dos grãos, com isso diversos métodos têm sido investigados a fim de eliminar, inativar ou reduzir a biodisponibilidade das micotoxinas. A alta estabilidade ao calor e outras condições físicas dificultam sua inativação sem que haja prejuízos às propriedades nutricionais e organolépticas dos alimentos. A descontaminação pode ser realizada através de métodos físicos, químicos ou biológicos; para tanto esses processos não podem deixar resíduos tóxicos nos alimentos, nem alterar seu valor nutricional ou palatabilidade, além de destruir os esporos e micélios, evitando o reaparecimento das micotoxinas; outro ponto importante é que devem ser viáveis economicamente e serem práticos na sua aplicação em larga escala. (DI GREGORIO, 2016).

Tendo em vista que a aplicação de técnicas para eliminação ou inativação das micotoxinas são dificultosos e tendem a reduzir a qualidade do produto final, tem-se optado pelo uso de estratégias que visem reduzir sua biodisponibilidade. Uma opção bastante empregada tem sido o uso de diversas substâncias não nutritivas na dieta, como adsorventes minerais, orgânicos ou sintéticos, que são compostos que visam reduzir a absorção de micotoxinas pelo trato gastrointestinal e sua distribuição para o sangue e órgãos-alvo através de ligação às micotoxinas, reduzindo assim os efeitos deletérios na saúde animal e, consequentemente, o prejuízo econômico gerado pela mesma (SANTURIO, 2007; VILA-DONAT et al., 2018).

Os tipos mais comuns de adsorventes para micotoxinas incluem argila bentonítica, silicatos e zeólitos. Diversos estudos tem demonstrado a eficácia de argilas minerais na adsorção de micotoxinas, como os aluminossilicatos (HSCAS) contra as aflatoxinas (AFs) e bentonitas contra aflatoxinas, zearalenona e ocratoxina A. A escolha do componente depende da estrutura química e física tanto do adsorvente como da micotoxina e da aplicação pretendida, como na agricultura ou na pecuária. Esses compostos atuam em suspensão aquosa presente no trato gastrointestinal, formando o complexo toxina-adsorvente, que será posteriormente eliminado nas fezes, levando à uma redução significativa na absorção e distribuição das micotoxinas no organismo (DI GREGORIO, 2016; VILA-DONAT et al., 2018).

O Minazel Plus[®] é um produto baseado em clinoptilolita modificada organicamente (CMO) (RAJ et al., 2021), enquanto o MycoRaid[®] é um agente desintoxicante de micotoxinas de

múltiplos componentes (ADMM) baseado em minerais especialmente selecionados, *Bacillus* sp, parede celular de leveduras e extrato herbal de silimarina (*Silybum marianum*) (RAJ et al., 2020).

As clinoptilolitas são minerais do grupo dos zeólitos, sendo os minerais mais abundantes na natureza, estando presentes em todos os continentes, predominantemente em formações rochosas sedimentares vulcânicas (AMBROZOVA et al., 2017; BORTOLATTO, 2019). Já os microrganismos e a parede celular de leveduras são considerados adsorventes orgânicos, também sendo capazes de ligarem-se às micotoxinas visando reduzir sua biodisponibilidade, seja através de sua degradação ou transformando-as em metabólitos menos tóxicos. No que diz respeito aos produtos fitopatogênicos, como o extrato de silimarina, seu uso dá-se devido à possível capacidade antiinflamatória, protetora hepática e antioxidante, mitigando eventuais efeitos tóxicos causados pelas micotoxinas e/ou seus metabólitos (RAJ et al., 2020).

1.6. Detecção de micotoxinas

Considerando a importância da suinocultura na economia do país, tem-se procurado métodos cada vez mais eficientes para detectar a presença de micotoxinas ao longo da cadeia produtiva. Esses métodos precisam ser rápidos, simples, sensíveis, seletivos e economicamente viáveis (BISCOTO, 2022; NONES, 2010).

A identificação das micotoxinas pode ser feita através de métodos imunoquímicos, que dependem de anticorpos específicos para cada micotoxina que será testada, ou por métodos cromatográficos seguidos por outras técnicas de detecção, como a espectrometria de massas, podendo pesquisar diversos analitos de uma única vez (BISCOTO, 2022; DA SILVA, 2022)

O método imunoquímico mais utilizado é o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) por ser considerado um método rápido e de fácil execução, é baseado no potencial de ligação de um anticorpo específico à uma micotoxina específica. O resultado é dado conforme a intensidade da cor da solução presente nos poços que será medida opticamente por um leitor de ELISA e posteriormente comparado à um padrão, possibilitando uma análise quantitativa dos resultados. Com ação semelhante, utiliza-se também os chamados testes rápidos, tiras contendo anticorpos marcados que reagem à presença da micotoxina testada formando um complexo antígeno-anticorpo, que migrará por uma membrana de celulose até um anticorpo secundário. O resultado é semelhante à um teste de gravidez, onde tem-se uma linha controle, que deverá ser sempre visível independentemente da presença ou ausência de micotoxinas na amostra, e uma linha teste, que em caso de resultado negativo ficará visível pois haverá reação entre o anticorpo

marcado e o anticorpo secundário e, em caso positivo, a linha não ficará visível pois os anticorpos marcados estarão com seus sítios de ligação ocupados pelas micotoxinas (BISCOTO, 2022).

Em relação às cromatografias, a cromatografia de camada delgada (*Thin Layer chromatography* – TLC) atualmente é mais utilizada como uma técnica de triagem, visto que não é tão precisa quanto outros métodos. A TLC consiste na formação de bandas em alturas diferentes devido à migração das moléculas, amostras e padrões, sobre uma fase estacionária. Seu resultado é obtido por comparação visual da intensidade das bandas das amostras com os padrões (BISCOTO, 2022).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, ou *High-Performance Liquid Chromatography* – HPLC) deriva da separação de compostos de uma amostra por afinidade distinta das moléculas pela fase móvel e estacionária do sistema. O resultado é dado em forma de um gráfico chamado de cromatograma, onde observa-se diversos picos, sendo que cada um deles corresponde a uma determinada substância presente nas amostras. Os compostos são identificados conforme o tempo de retenção do pico da molécula, que é comparado com o tempo de retenção de padrões de substâncias já conhecidas (BISCOTO, 2022; SOUTO, 2015)

A espectrometria de massas é um método de ionização das espécies químicas presentes em uma amostra, separando seus íons conforme sua relação massa/carga. Muito utilizada como complemento da cromatografia líquida na identificação de micotoxinas, possibilita a análise de múltiplos elementos em baixas concentrações, na linha de partes por bilhão (ppb), apresentando alta sensibilidade e seletividade, sendo então considerado um método altamente confiável devido à confirmação indubitável da identidade da molécula analisada (BISCOTO, 2022; DA SILVA, 2022)

1.7. Biomarcadores

Biomarcadores são indicadores que sinalizam alterações celulares ou moleculares em um meio biológico, como tecidos, células ou fluidos corporais auxiliando na identificação, diagnóstico e tratamento de indivíduos expostos a substâncias nocivas, antes mesmo de apresentarem sintomas. Podem ser classificados em: (i) biomarcadores de exposição, que são compostos xenobióticos, seus metabólitos ou o produto da interação entre o composto e seu alvo; (ii) biomarcadores de efeito, que são alterações bioquímicas ou fisiológicas quantificáveis; (iii) biomarcadores de susceptibilidade, são fatores genéticos ou adquiridos que

influenciam na resposta do organismo à exposição a substâncias químicas (COELHO; AMORIM, 2003; FRANCO et al., 2020)

Nos últimos anos, biomarcadores séricos e urinários têm sido utilizados para avaliar a exposição à micotoxinas através da dieta visto que muitas vezes há uma forte correlação entre a concentração de biomarcadores e a dose de micotoxinas ingeridas (COELHO; AMORIM, 2003; FRANCO et al., 2020). A detecção de bons biomarcadores de exposição à micotoxinas requer conhecimento da toxicocinética, toxicodinâmica e atividade bioquímica da micotoxina em questão (SOUTO, 2015).

Em relação às aflatoxinas, os biomarcadores mais utilizados são os metabólitos da AFB₁: aflatoxicol, complexo aflatoxina-albumina, aflatoxina M₁ (AFM₁), aflatoxina P₁ (AFP₁), aflatoxina Q₁ (AFQ₁), AFB-N7-guanina e a própria AFB₁ livre. A micotoxina e seus metabólitos podem ser encontrados em amostras de sangue, urina e fezes, e no caso da AFM₁, pode também ser encontrada no leite. Quanto às fumonisinas, devido sua ação tóxica sobre a ceramida sintase e conseqüente acúmulo de esfinganina e esfingosina, estes últimos podem ser utilizados como biomarcadores de exposição à FB₁, já que são encontrados no soro, tecidos, urina e fezes. A FB₁ livre também pode ser encontrada na urina e nos pelos. Os principais biomarcadores para a detecção de ZEN é a própria ZEN livre, e seus metabólitos: zearalanona, α e β zearalenol (α -ZEL e β -ZEL) e α e β zearalanol (α -ZAL e β -ZAL), assim como seus conjugados com ácido glicurônico, sendo que para todas estas substâncias, a urina é o melhor local de identificação para as mesmas (DA SILVA, 2022).

2. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia de dois adsorventes de micotoxinas sobre a toxicidade de aflatoxina B₁ (AFB₁), fumonisina B₁ (FB₁) e zearalenona (ZEN) presentes na dieta de leitões desmamados.

Objetivos específicos:

- a. Verificar os efeitos da ingestão combinada de AFB₁, FB₁ e ZEN administradas na dieta com e sem adsorventes sobre o ganho de peso corpóreo de suínos;
- b. Avaliar alterações nos parâmetros bioquímicos séricos dos suínos intoxicados;
- c. Avaliar alterações histopatológicas em fígado, rins, pulmões, útero e ovários decorrentes da exposição dos animais às micotoxinas presentes na ração, bem como o efeito protetivo dos adsorventes;
- d. Determinar a eficácia dos adsorventes em reduzir as concentrações de AFB₁, AFM₁, FB₁, ZEN não metabolizada, α -zearalenol (α -ZEL) e β -zearalenol (β -ZEL) no extrato purificado de fígado e rim dos animais alimentados com a combinação das micotoxinas

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais, dietas e delineamento experimental

O experimento foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética Animal do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa (protocolo nº 326-2021). Foram utilizadas vinte e quatro leitões desmamados, híbridas, com 21 dias de idade adquiridos de uma criação comercial, distribuídos em gaiolas individuais pertencente ao Instituto de Zootecnia de Nova Odessa/APTA/ SAA localizadas no setor de suínos (figura 12), com acesso à ração e água *ad libitum*. A condição de saúde dos animais foi avaliada através de exames clínicos logo após o recebimento nas instalações experimentais juntamente com a primeira pesagem dos leitões, sendo acompanhados semanalmente por um veterinário qualificado. Após 14 dias de período de adaptação os animais foram novamente pesados e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. A média de peso ao chegar nas instalações e ao início do experimento (D0) estão apresentados na Tabela 1. Os animais foram divididos em seis grupos contendo quatro indivíduos cada e submetidos durante 42 dias aos tratamentos descritos na Tabela 2. A cultura dos materiais contendo AFB₁, FB₁ e ZEN foi produzida no Laboratório de Microbiologia e Micotoxicologia de Alimentos da FZEA – USP, localizada em Pirassununga, Brasil. Os adsorventes comerciais utilizados foram Minanzel Plus® (CMO) e MycoRaid® (ADMM), fornecidos pela empresa PATENT CO (Mišićevo, Sérvia), nas concentrações de 1,5% e 3% para ambos compostos, conforme indicado pelo fabricante.

Figura 12 - Acomodação dos animais em baias individuais



Fonte: Própria autoria

Tabela 1: Peso dos leitões ao recebimento nas instalações e após 14 dias de adaptação¹.

Tratamento	Peso ao Recebimento (kg)	Peso após 14 dias de adaptação – D0 (kg)
1 (Controle, dieta basal, DB)	6,94 ± 0,54	10,10 ± 1,50
2 (DB + AFs + FBs + ZEN)	6,56 ± 0,78	10,16 ± 1,22
3 (DB + AFs + FBs + ZEN + 1.5% CMO)	6,98 ± 0,65	10,13 ± 1,15
4 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% CMO)	6,86 ± 0,39	10,07 ± 0,68
5 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 1.5% ADMM)	6,54 ± 0,56	10,05 ± 0,71
6 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% ADMM)	6,34 ± 0,72	10,08 ± 0,72

¹Os dados são as médias ± DP de 4 leitões por tratamento.

Em uma mesma coluna, não foram observadas diferenças significantes entre as médias ($P > 0,05$).

A dieta basal (DB) foi uma dieta composta por milho e soja, produzida na fábrica de rações da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, campus Fernando Costa, da Universidade de São Paulo, FZEA USP formulada para atender as exigências nutricionais de leitões em crescimento recomendados por Grenier et al. (2012).

Tabela 2 - Tratamentos dietéticos e respectivas concentrações de micotoxinas em rações experimentais.

Tratamento ^a	AFB ₁ (µg/kg)	AFB ₂ (µg/kg)	AFG ₁ (µg/kg)	AFG ₂ (µg/kg)	FB ₁ (µg/kg)	FB ₂ (µg/kg)	ZEN (µg/kg)
1. (Controle, somente DB)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
2. (DB + AFB ₁ + FB ₁ + ZEN)	310±40,2	43,1±9,80	132±23,4	11,3±12,7	935±105	210±98,2	996±98,5
3. (DB + AFB ₁ + FB ₁ + ZEN + 1,5 CMO)	284±32,3	34,0±10,2	123±22,1	14,8±9,60	847±98,5	232±101	985±73,4
4. (DB+ AFB ₁ + FB ₁ + ZEN + 3,0 CMO)	275±23,0	32,8±9,65	113±30,2	10,3±9,6	997±99,7	324±97,3	943±64,7
5. (DB+ AFB ₁ + FB ₁ + ZEN + 1,5 ADMM)	314±95,2	33,5±9,76	121±22,5	9,88±9,66	955±102	298±100	939±62,2
6. (DB+ AFB ₁ + FB ₁ + ZEN + 3,0 ADMM)	312±98,5	38,6±10,3	134±42,3	11,4±9,75	998±98,8	196±98,5	995±82,3

^a Média ± DP de cinco amostras analisadas individualmente

LOQ: Limite de quantificação (1,0 µg/kg para cada aflatoxina, 2,5 µg/kg para cada fumonisina e 0,6 µg/kg para zearalenona); DB: dieta basal; AF: aflatoxina; FB: fumonisina; ZEN: zearalenona; CMO: clinoptilolita modificada organicamente; ADMM: agente desintoxicante de micotoxinas.

As culturas de AFs, FB_s e ZEN juntamente com os adsorventes comerciais (Minanzel Plus®, CMO, e MycoRaid®, ADMM) foram adicionados à DB e misturados num mixer horizontal/helicoidal (figura 13A) durante 15 minutos até atingir a concentração alvo de micotoxinas (AFB₁: 0,25 ppm; FB₁: 1,0 ppm; ZEN: 1,0 ppm). As concentrações de AFB₁, FB₁

e ZEN foram confirmadas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem validada internamente, conforme apresentado na Tabela 1. Todas as dietas foram avaliadas para verificar a presença de outras micotoxinas antes de iniciar o experimento através do mesmo método, constatando-se ausência ou níveis não detectáveis de A (limite de detecção, LOD: 0,5 µg/kg) e desoxivalenol (LOD: 6,1 µg/kg). Os animais foram pesados no início do experimento e a cada sete dias. Os leitões foram monitorados diariamente para qualquer sinal de intoxicação de AFs, FBs ou ZEN. O consumo alimentar foi mensurado semanalmente para calcular a conversão alimentar (CA).

Amostras de sangue foram coletadas no início e a cada 14 dias durante o experimento via punção venosa jugular em tubos de ativador de coágulo separador de soro Vacuette® (Greiner Bio-one, Kremsmünster, Áustria), (figura 13B). As amostras foram divididas em duas alíquotas, sendo uma analisada imediatamente para determinações bioquímicas e outra armazenada a -20 °C para análise de biomarcadores de micotoxinas. Aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), proteína total (PT) e albumina (ALB) séricas foram mensuradas utilizando um analisador bioquímico automatizado.

Figura 13 - Mixer horizontal/helicoidal (A) e amostras de sangue em tubos Vacuette® (B)

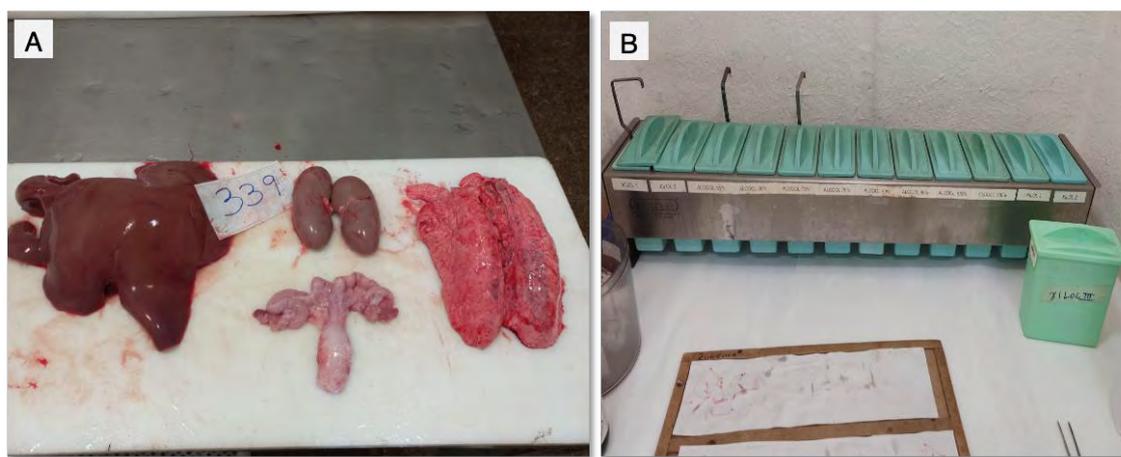


Fonte: Própria autoria

Ao final do ensaio, os animais foram submetidos a atordoamento elétrico e eutanasiados por exsanguinação no abatedouro-escola da USP/FZEA em Pirassununga, seguindo-se rigorosamente as normas de abate humanitário. Fígado, pulmões, rins, útero e ovários foram separados e pesados (figura 14A), e tiveram amostras coletadas e fixadas em formol a 10%

tamponado. As medidas da vulva (altura, largura e comprimento) foram realizadas imediatamente após a eutanásia (RAJ et al., 2020). Amostras de tecidos foram desidratadas utilizando álcoois graduados, diafanizados em xilol, e embebidos em parafina líquida (figura 14B). Cortes de 5 μm foram corados com hematoxilina-eosina para análise histopatológica descritiva e semi-qualitativa em cada órgão avaliado.

Figura 14 - Órgãos separados para a pesagem (A), álcoois graduados e xilol para diafanização tecidual (B)



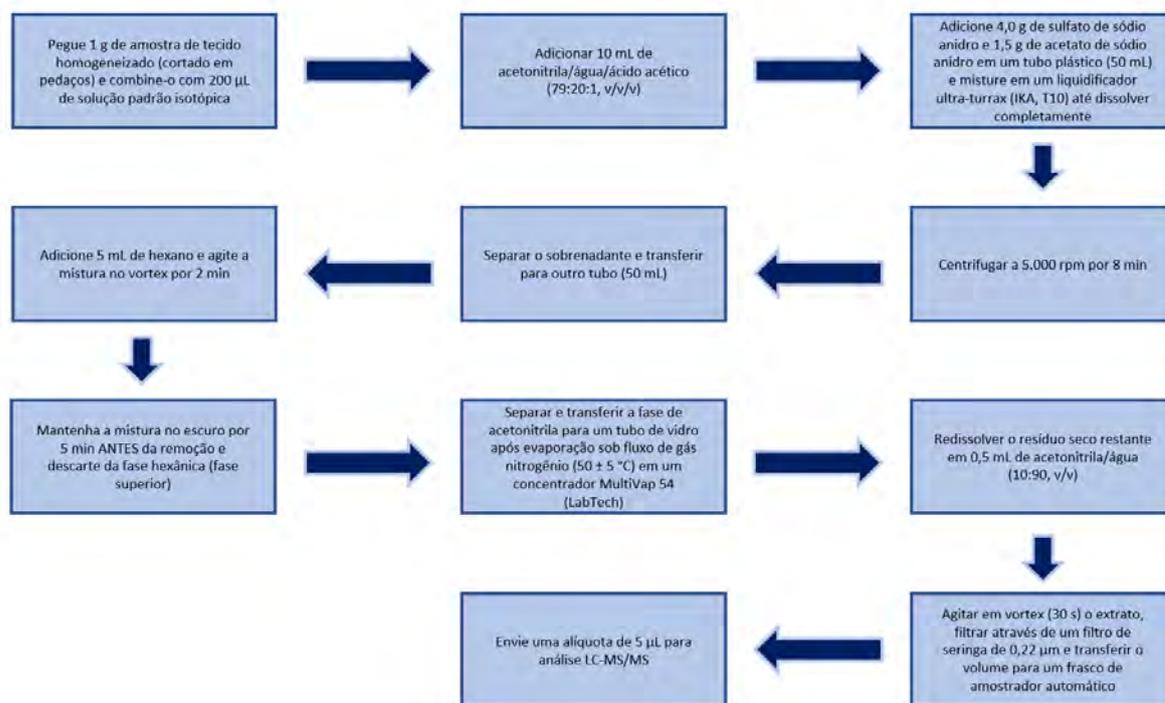
Fonte: Própria autoria

4.2. Determinação de resíduos de micotoxinas em fígado e rins

Amostras em duplicata de 1g de tecidos moídos de fígado e rins foram extraídas em acetonitrila: água: ácido acético (79:20:1), conforme descrito por Cao et al. (2018), e resumido na figura 15. As concentrações de AFB₁, AFB₂, AFM₁, FB₁, FB₂, ZEN, α -zearalenol (α -ZEL) e β -zearalenol (β -ZEL) nos extratos finais foram determinadas utilizando um sistema de cromatografia líquida de ultra performance (UPLC) Acquity I-Class da Waters (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com uma coluna BEH C18 (2,1 \times 50 mm, 1,7 μm) e acoplado a um espectrômetro de massa Xevo TQ-S (Waters, Milford, MA, EUA). O espectrômetro de massa (MS) foi operado no modo de Monitoramento de Reação Múltipla (MRM) utilizando ionização por *electrospray* nos modos de íon positivo e negativo, com os principais parâmetros descritos na tabela 2. Soluções padrão de micotoxinas e curvas de calibração foram preparadas utilizando uma solução de trabalho com micotoxinas misturadas preparadas em água: acetonitrila (50:50), contendo AFB₁, AFB₂, AFM₁, FB₁, FB₂, ZEN, α -ZEL e β -ZEL a 100 ng/mL. Essa solução foi utilizada para preparar cinco padrões de calibração correspondentes à faixa de níveis expressos na Tabela 3. Além disso, padrões internos isotopicamente marcados

(PI) de [$^{13}\text{C}_{17}$]-AFB₁ (St. Louis, MO-EUA), [$^{13}\text{C}_{34}$]-FB₁ e [$^{13}\text{C}_{18}$]-ZEN (Biopure, Tulln-Áustria) também foram preparados em água: acetonitrila (50:50) e adicionados a cada amostra antes da extração, para atingir a concentração de 100 ng/mL de cada PI.

Figura 15 - Etapas analíticas para extração de resíduos de micotoxinas de amostras de fígado e rins, conforme descrito por Cao et al., (2018)



Fonte: Própria autoria

Foram injetados cinco microlitros das amostras e padrões utilizando uma eluição em gradiente em uma fase móvel composta por água (eluyente A) e acetonitrila (eluyente B), ambos contendo 5 mM de acetato de amônio e 0,1% de ácido acético, mantidos a uma vazão de 0,6 mL/min, conforme descrito anteriormente (FRANCO et al., 2019). A corrida cromatográfica total para cada amostra foi de 10 minutos. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram determinados considerando uma relação sinal-ruído de 1:3 e 1:10 (TALEUZZAMAN; JOURNAL, 2018), respectivamente, e estão apresentados na tabela 2. Os resultados analíticos foram baseados em uma calibração padrão com adição de PI, que compensou tanto as perdas de recuperação quanto os efeitos da matriz.

Tabela 3: Parâmetros analíticos do método analítico para determinação de resíduos de micotoxinas em fígado e rins.

Micotoxina	TR (min.)	Massa (g/mol)	Íon Molecular	Transição (m/z)	Faixa de Calibração (µ/kg)	LOD (µ/kg)	LOQ (µ/kg)
AFM ₁	1,13	328,3	[M+H] ⁺	329,0 > 273,1 ^a 329,0 > 229,0 ^b	0,1-100	0,2	0,7
AFB ₁	1,25	312,3	[M+H] ⁺	312,7 > 284,9 ^a 312,7 > 241,1 ^b	0,1-100	0,1	0,3
[¹³ C ₁₇]-AFB ₁	1,25	329,1	[M+H] ⁺	330,3 > 301,5			
AFB ₂	1,15	317,3	[M+H] ⁺	314,7 > 259,0 ^a 314,7 > 287,0 ^b	0,1-100	0,1	0,4
AFG ₁	1,18	328,3	[M+H] ⁺	328,9 > 243,0 ^a 328,9 > 199,5 ^b	0,1-100	0,2	0,6
AFG ₂	1,16	330,3	[M+H] ⁺	330,9 > 245,0 ^a 330,9 > 188,9 ^b	0,1-100	0,2	0,8
[¹³ C ₃₄]-FB ₁	5,40	755,6	[M+H] ⁺	756,6 > 374,4			
FB ₁	5,40	721,8	[M+H] ⁺	722,5 > 334,0 ^a 722,5 > 352,1 ^b	0,5-100	0,3	1,0
FB ₂	5,76	705,8	[M+H] ⁺	706,5 > 336,2 ^a 706,5 > 318,3 ^b	0,5-100	0,4	1,0
[¹³ C ₁₈]-ZEN	6,03	336,2	[M-H] ⁻	335,1 > 185,1			
ZEN	6,03	318,1	[M-H] ⁻	317,1 > 175,1 ^a 317,1 > 130,9 ^b	0,1-100	1,0	3,0
α-ZEL	5,81	320,2	[M-H] ⁻	319,1 > 275,2 ^a 319,1 > 160,2 ^b	0,1-100	0,8	2,6
β-ZEL	5,83	320,2	[M-H] ⁻	319,1 > 275,2 ^a 319,1 > 160,2 ^b	0,1-100	0,6	2,0

TR: Tempo de retenção; LOD: Limite de detecção; LOQ: Limite de quantificação; AF: Aflatoxina; FB: Fumonisina; ZEN: Zearalenona; α-ZEL: α-zearalenol; β-ZEL: β-zearalenol

^a Transição utilizada na quantificação.

^b Transição utilizada na confirmação.

4.3. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o PROC GLM do programa SAS para Windows, versão 9.4. O teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas de médias entre os tratamentos. O nível de significância estatística adotado foi de 0,05 de probabilidade.

5. RESULTADOS

5.1. Desempenho

Os efeitos dos tratamentos dietéticos no desempenho de leitões alimentados com rações contaminadas por micotoxinas, com ou sem adsorventes comerciais, durante 42 dias, são apresentados na tabela 4. Em comparação com os controles, o ganho de peso corporal dos animais que receberam uma mistura de AFs, FBs e ZEN foi menor ($P < 0,05$), enquanto os suínos que receberam essas micotoxinas em combinação com MP ou MR a 1,5% ou 3,0% apresentaram valores semelhantes ($P > 0,05$) aos controles. No entanto, o consumo de ração e a conversão alimentar não diferiram ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 4: Efeito de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre o desempenho de leitões após 42 dias de intoxicação¹.

Tratamento	Ganho total de peso corporal ² (kg)	Consumo total de ração ² (kg)	Alimento:ganho
1 (Controle, dieta basal, DB)	29,8±0,97 ^a	59,8±2,3 ^a	2,06±0,10 ^a
2 (DB + AFs + FBs + ZEN)	24,4±2,15 ^b	53,0±9,3 ^a	2,11±0,16 ^a
3 (DB + AFs + FBs + ZEN + 1.5% CMO)	26,7±3,23 ^{ab}	47,8±11,3 ^a	2,16±0,07 ^a
4 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% CMO)	30,2±1,73 ^a	53,1± 6,9 ^a	2,14±0,09 ^a
5 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 1.5% ADMM)	28,5±2,08 ^a	46,9± 5,9 ^a	2,15±0,10 ^a
6 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% ADMM)	27,9±1,19 ^a	51,8±6,7 ^a	2,11±0,01 ^a

¹ Os dados são as médias ± DP de 4 leitões por tratamento.

² No período de 0 a 42 dias de tratamento.

^{a-b} Em uma mesma coluna, médias seguidas de letras diferentes em sobrescrito diferem significativamente ($P < 0,05$).

5.2. Bioquímica do soro

Os resultados da bioquímica sérica estão resumidos na tabela 5. Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os seis tratamentos para TP, ALB, AST, ALT ou ALP.

Tabela 5: Efeito de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada à aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre a bioquímica sérica de leitões durante 42 dias de intoxicação¹.

Tratamento	Proteína total (g/dL)	Albumina (g/dL)	AST (g/dL)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)
1 (Controle, dieta basal, DB)	5,05±0,78 ^a	3,13±0,59 ^a	31,5±12,2 ^a	58,6±28,5 ^a	392±207 ^a
2 (DB + AFs + FBs + ZEN)	4,76±0,36 ^a	3,00±0,38 ^a	35,8±8,24 ^a	60,8±27,8 ^a	367±186 ^a
3 (DB + AFs + FBs + ZEN + 1.5% CMO)	5,01±0,86 ^a	3,37±0,64 ^a	32,1±16,0 ^a	53,1±20,7 ^a	378±154 ^a
4 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% CMO)	4,95± 0,94 ^a	3,35±0,62 ^a	34,5±11,5 ^a	58,0±24,0 ^a	419±180 ^a
5 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 1.5% ADMM)	4,80± 0,64 ^a	3,42±0,50 ^a	33,4±10,7 ^a	48,6±15,0 ^a	405±184 ^a
6 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% ADMM)	5,06± 1,21 ^a	3,11± 0,53 ^a	24,1±8,64 ^a	45,3±13,1 ^a	379±121 ^a

¹Os dados são as médias ± DP de 4 leitões por tratamento, medidos em intervalos de 14 dias, do dia 1 ao 42 da intoxicação.

Em uma mesma coluna, não foram observadas diferenças significativas entre as médias ($P > 0,05$).

5.3. Peso relativo dos órgãos

O peso relativo dos órgãos individuais e corporal foi utilizado para calcular seus respectivos pesos relativos, expressos em "g/kg" de peso corporal, conforme apresentado na tabela 6. O fígado das leitões alimentadas apenas com a mistura de micotoxinas ou com 1,5% de MP apresentou pesos relativos mais altos ($P < 0,05$) do que os controles, enquanto a adição de 3,0% de CMO ou ADMM (1,5% ou 3,0%) teve um efeito positivo no peso relativo do fígado após 42 dias de exposição dietética a AFs, FBs e ZEN. O peso relativo do útero das leitões no tratamento 2 (DB + AFs + FBs + ZEN) foi maior ($P < 0,05$) do que os controles ou animais dos tratamentos 4 (DB + AFs + FBs + ZEN + 3,0% de CMO) e 6 (DB + AFs + FBs + ZEN + 3,0% de ADMM). Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) nos pesos relativos dos rins, ovários ou pulmões.

Tabela 6: Efeito de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre os pesos relativos dos órgãos (g/kg de peso corporal) de leitões após 42 dias de intoxicação¹.

Tratamento	Fígado	Rins	Útero	Ovário	Pulmões
1 (Controle, dieta basal, DB)	2,36±0,28 ^b	0,51±0,04 ^a	0,12±0,01 ^b	0,01±0,00 ^a	1,27±0,14 ^a
2 (DB + AFs + FBs + ZEN)	3,43±0,41 ^a	0,51±0,05 ^a	0,22±0,09 ^a	0,01±0,01 ^a	1,24±0,21 ^a
3 (DB + AFs + FBs + ZEN + 1.5% CMO)	3,61±0,69 ^a	0,54±0,04 ^a	0,19±0,05 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	1,40±0,21 ^a
4 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% CMO)	2,89±0,21 ^{ab}	0,49±0,03 ^a	0,15±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	1,23±0,14 ^a
5 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 1.5% ADMM)	3,13±0,60 ^{ab}	0,54±0,10 ^a	0,19±0,05 ^{ab}	0,01±0,02 ^a	1,55±0,82 ^a
6 (DB+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% ADMM)	3,03±0,36 ^{ab}	0,47±0,02 ^a	0,16±0,02 ^b	0,01±0,01 ^a	1,34±0,53 ^a

¹Os dados são as médias ± DP de 4 leitões por tratamento.

^{a-b} Em uma mesma coluna, médias seguidas de letras diferentes em sobrescrito diferem significativamente ($P < 0,05$).

As medições de tamanho também foram realizadas para vulvas de leitões após 42 dias de intoxicação, conforme apresentado na tabela 7. Em comparação com os controles, a largura, altura e comprimento das vulvas foram maiores ($P < 0,05$) nos animais do tratamento 2 (apenas micotoxinas mistas), enquanto a administração de CMO ou ADMM reduziu os valores do tamanho, tendo efeito máximo com 1,5% de ADMM.

Tabela 7: Efeito de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre as medidas de tamanho (cm) da vulva de leitões após 42 dias de intoxicação¹.

Tratamento	Largura	Altura	Comprimento
1 (Controle, dieta basal)	2,13±0,40 ^c	2,37±0,35 ^c	1,72±0,25 ^c
2 (BD + AFs + FBs + ZEN)	2,76±0,81 ^a	3,54±0,52 ^a	2,34±0,31 ^a
3 (BD + AFs + FBs + ZEN + 1.5% CMO)	2,50±0,40 ^{ab}	3,19±0,14 ^{ab}	1,90±0,33 ^{bc}
4 (BD+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% CMO)	2,49±0,43 ^{ab}	3,20±0,39 ^{ab}	2,13±0,40 ^b
5 (BD+ AFs + FBs + ZEN + 1.5% ADMM)	2,31±0,23 ^b	2,89±0,45 ^b	2,09±0,25 ^b
6 (BD+ AFs + FBs + ZEN + 3.0% ADMM)	2,44±0,18 ^{ab}	2,96±0,29 ^b	2,03±0,25 ^{bc}

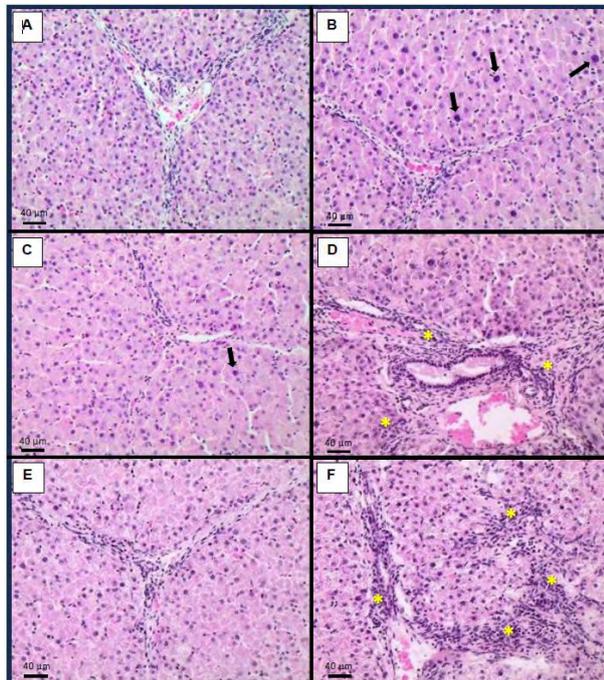
¹Os dados são as médias ± DP de 4 leitões por tratamento.

^{a-b} Em uma mesma coluna, médias seguidas de letras diferentes em sobrescrito diferem significativamente ($P < 0,05$).

5.4. Histopatologia

Não foram encontradas alterações histopatológicas nos úteros em nenhum dos tratamentos administrados. Os achados histopatológicos em fígado, rins, pulmões e ovários são apresentados nas figuras 16 – 19, respectivamente. O grupo controle, alimentado somente com a dieta basal (DB) não demonstraram nenhuma alteração em fígado (Figura 16A), rins (Figura 17A), pulmões (Figura 18A) e ovários (Figura 19A). Entretanto, os animais expostos à mistura de micotoxinas apresentaram displasia hepática moderada em 75% dos casos (Figura 16B), enquanto aqueles que receberam a mistura de micotoxinas acrescida de 1,5 kg/ton de CMO apresentaram displasia hepática leve em 25% dos casos (Figura 16C) e os alimentados com a mistura com 3kg/ton de CMO não apresentaram lesões hepáticas (Figura 16E). Os animais que receberam 1,5kg/ton de ADMM incorporado à mistura de micotoxinas desenvolveram hepatite leve, porém sem displasia, em 50% dos casos (Figura 16D) ao passo que os que foram alimentados com a mistura de micotoxinas juntamente com 3kg/ton de ADMM apresentaram hepatite moderada sem displasia em 50% dos casos (Figura 16F).

Figura 16 - Achados histopatológicos em fígados.

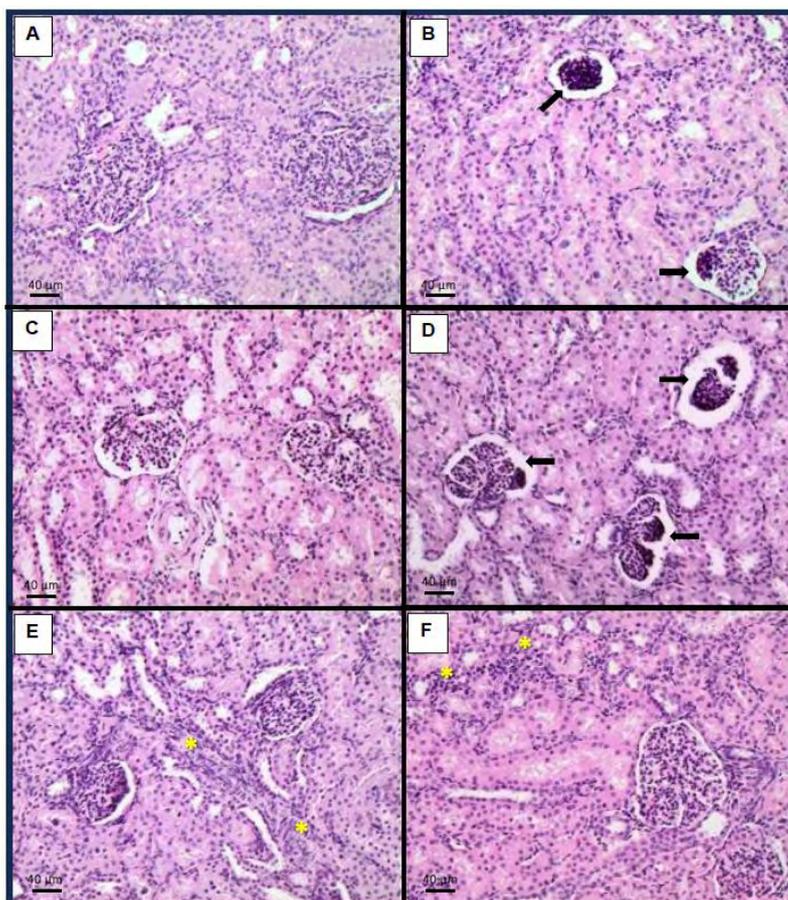


(A): Controle, somente dieta basal (DB); (B): DB + aflatoxinas (AFs) + fumonisinas (FBs) + zearalenona (ZEN); (C): BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5kg/ton de clinoptilolita modificada organicamente (CMO); (D): BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5kg/ton de agente detoxificante multicomponentes de micotoxinas (ADMM); (E): BD + AFs + FBs + ZEN + 3kg/ton CMO; (F): BD + AFs + FBs + ZEN + 3kg/ton ADMM. As setas indicam displasia hepática moderada. Asteriscos indicam hepatite moderada.

Fonte: Própria autoria

Em relação aos rins, os animais expostos somente à mistura de micotoxinas desenvolveram atrofia glomerular renal em 25% dos casos (Figura 17B). Entretanto os porcos que receberam as micotoxinas somadas à 1,5kg/ton de CMO não apresentaram alterações renais (Figura 17C), enquanto aqueles que foram alimentados com as micotoxinas e 3kg/ton de CMO exibiram apenas inflamação intersticial renal leve em 25% dos casos (Figura 17E). Os animais que receberam 1,5kg/ton de ADMM adicionado ao alimento contaminado apresentaram atrofia glomerular renal em 25% dos casos (Figura 17D) e os que receberam 3kg/ton de ADMM com a mistura de micotoxinas desenvolveram inflamação intersticial renal leve em 75% dos casos (Figura 17F).

Figura 17 - Achados histopatológicos em rins.



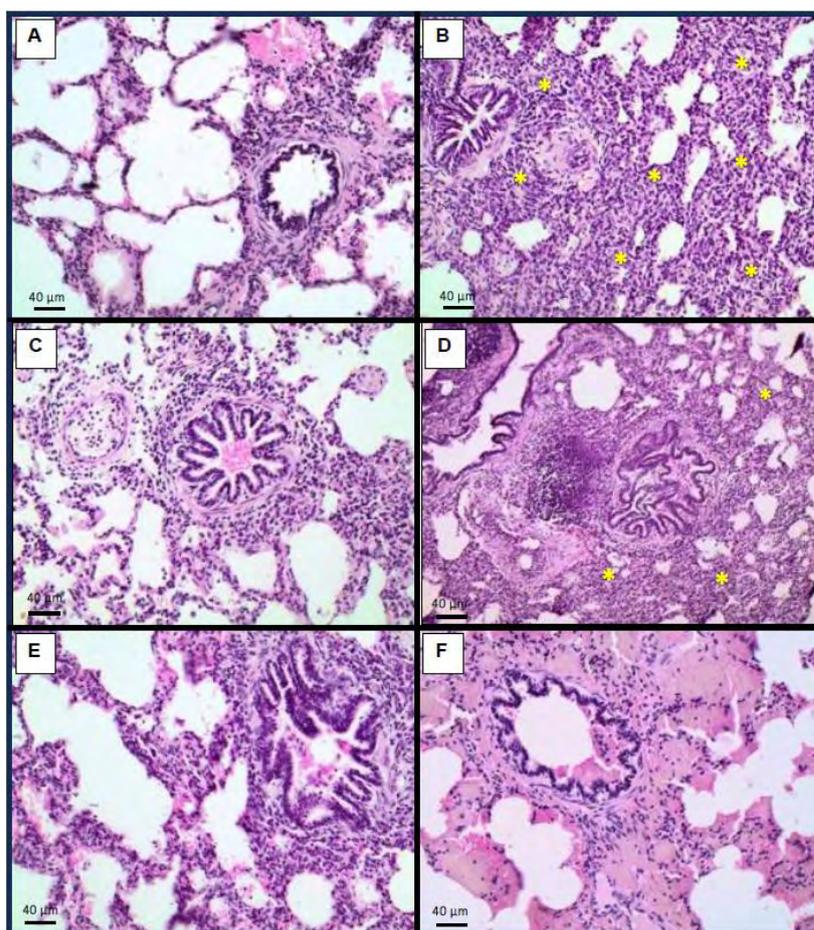
(A): Controle, somente dieta basal (DB); (B): DB + aflatoxinas (AFs) + fumonisinas (FBs) + zearalenona (ZEN); (C): BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5kg/ton de clinoptilolita modificada organicamente (CMO); (D): BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5kg/ton de agente detoxificante multicomponentes de micotoxinas (ADMM); (E): BD + AFs + FBs + ZEN + 3kg/ton CMO; (F): BD + AFs + FBs + ZEN + 3kg/ton ADMM. As setas indicam atrofia glomerular renal.

Asteriscos indicam leve inflamação intersticial renal.

Fonte: Própria autoria

Os pulmões dos animais expostos a somente à mistura de micotoxinas desenvolveram pneumonite intersticial moderada e edema pulmonar leve em 100% e 25% dos casos, respectivamente. (Figura 18B). Porcos alimentados com a mistura de micotoxinas e 1,5kg/ton de CMO apresentaram edema pulmonar leve sem inflamação intersticial em 50% dos casos (Figura 18C), enquanto os que receberam as micotoxinas com 3kg/ton de CMO não tiveram alterações pulmonares (Figura 18E). Os animais que receberam 1,5kg/ton de ADMM adicionado à mistura de micotoxinas desenvolveram pneumonite intersticial leve e edema pulmonar em 75% e 25% dos casos, respectivamente (Figura 18D), e os tratados com 3kg/ton de ADMM na mistura de micotoxinas manifestaram edema pulmonar, mas sem inflamação em 25% dos casos (Figura 18F).

Figura 18 - Achados histopatológicos em pulmões.



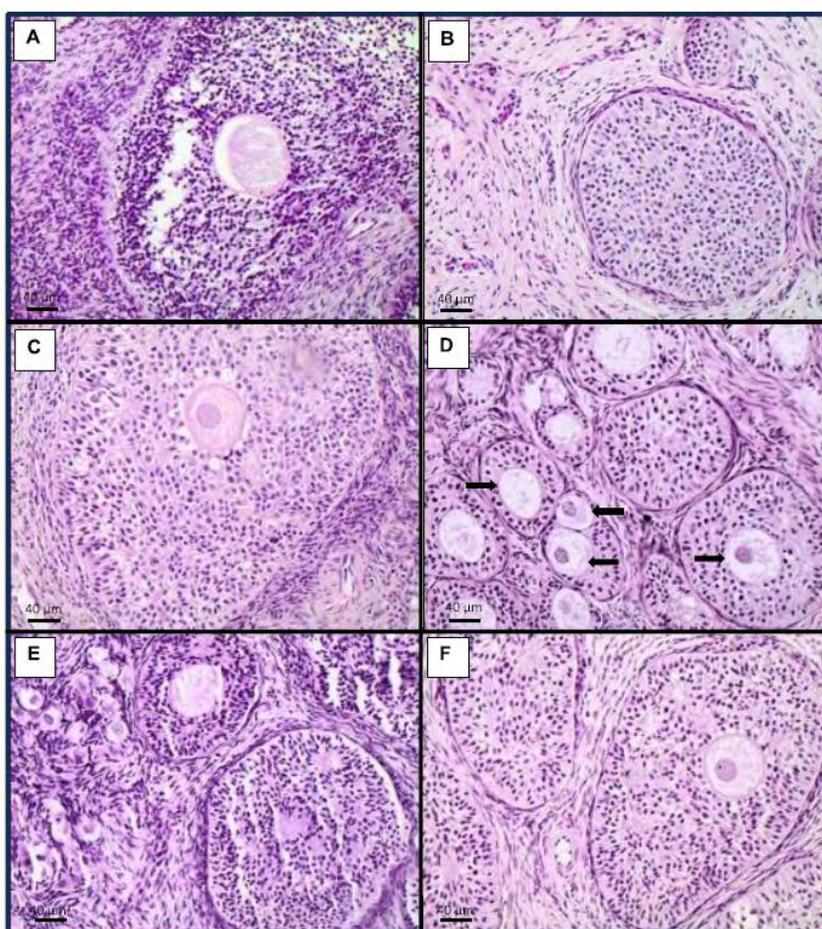
(A): Controle, somente dieta basal (DB); (B): DB + aflatoxinas (AFs) + fumonisinas (FBs) + zearalenona (ZEN); (C): BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5kg/ton de clinoptilolita modificada organicamente (CMO); (D): BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5kg/ton de agente detoxificante multicomponentes de micotoxinas (ADMM); (E): BD + AFs + FBs + ZEN + 3kg/ton CMO; (F): BD + AFs + FBs + ZEN + 3kg/ton ADMM.

Asteriscos indicam pneumonite intersticial moderada.

Fonte: Própria autoria

Quanto aos ovários, os animais que ingeriram a mistura de micotoxinas demonstraram uma redução no número de oócitos em 25% dos casos (Figura 19B) Porcos expostos à mistura de micotoxinas com 1,5kg/ton de CMO também apresentaram redução no número de oócitos em 25% dos casos (Figura 19C), enquanto aqueles alimentados com as micotoxinas juntamente com 3kg/ton de CMO não tiveram nenhum tipo de alteração ovariana (Figura 19E). Animais que receberam 1,5kg/ton de ADMM adicionado à mistura de micotoxinas apresentaram um aumento no número de oócitos em 25% dos casos (Figura 19D), e os que receberam a mistura de micotoxinas com 3kg/ton de ADMM não apresentaram alterações ovarianas (Figura 19F).

Figura 19 - Achados histopatológicos em ovários



(A): Controle, somente dieta basal (DB); (B): DB + aflatoxinas (AFs) + fumonisinas (FBs) + zearalenona (ZEN); (C): BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5kg/ton de clinoptilolita modificada organicamente (CMO); (D): BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5kg/ton de agente detoxificante multicomponentes de micotoxinas (ADMM); (E): BD + AFs + FBs + ZEN + 3kg/ton CMO; (F): BD + AFs + FBs + ZEN + 3kg/ton ADMM. As setas indicam aumento no número de oócitos.

Fonte: Própria autoria

5.5. Resíduos de micotoxinas em fígado e rins

Os níveis residuais de AFs, FBs, ZEN e seus metabólitos (α -ZEL e β -ZEL) no fígado e rins estão apresentados nas tabelas 8 e 9, respectivamente. Na tabela 8, a adição de AFs, FBs e ZEN à DB (tratamento 2) resultaram em níveis médios no fígado de AFM₁, AFs, FBs e ZEN de $0,92 \pm 0,07$, $3,99 \pm 0,22$, $2,59 \pm 0,97$ e $23,3 \pm 3,7$ $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. Metabólitos de ZEN (α -zearalenol, α -ZEL e β -zearalenol, β -ZEL) não foram detectados em nenhuma amostra de fígado. Níveis mais baixos ($P < 0,05$) de FBs e ZEN residuais foram observados no fígado dos tratamentos que receberam os adsorventes avaliados. Em relação às AFs residuais, não foram observados níveis quantificáveis no fígado de suínos nos tratamentos 3-6.

Tabela 8. Efeito de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinada a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre os resíduos de micotoxinas no fígado de leitões após 42 dias de intoxicação¹.

Tratamentos ²	AFM ₁ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	AFs ³ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	FBs ⁴ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	ZEN ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	α -ZEL ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	β -ZEL ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
2	$0,92 \pm 0,07$	$3,99 \pm 0,22$	$2,59 \pm 0,97^a$	$23,3 \pm 3,7^a$	< LOQ	< LOQ
3	< LOQ	< LOQ	$1,67 \pm 0,10^c$	$19,3 \pm 3,2^b$	< LOQ	< LOQ
4	< LOQ	< LOQ	$1,99 \pm 0,78^b$	$16,1 \pm 3,6^c$	< LOQ	< LOQ
5	< LOQ	< LOQ	$1,52 \pm 0,88^c$	$15,7 \pm 2,4^c$	< LOQ	< LOQ
6	< LOQ	< LOQ	$1,65 \pm 0,59^c$	$10,5 \pm 1,7^d$	< LOQ	< LOQ

¹ Os dados são médias \pm DP de 4 leitões por tratamento.

² 1: Controle, somente dieta basal (DB); 2: DB + AFs + FBs + ZEN; 3: DB + AFs + FBs + ZEN + 1.5 kg/ton CMO; 4: DB + AFs + FBs + ZEN + 3.0 kg/ton CMO; 5: DB + AFs + FBs + ZEN + 1.5 kg/ton ADMM; 6: DB + AFs + FBs + ZEN + 3.0 kg/ton ADMM. ³ Soma de AFB₁ + AFB₂ + AFG₁ + AFG₂. ⁴ Soma de FB₁ + FB₂.

^{a-d} Em uma mesma coluna, médias seguidas de letras diferentes em sobrescrito diferem significativamente ($P < 0,05$).

LOQ: Limite de quantificação (consulte a tabela 2 para os valores de LOQ para cada micotoxina); ZEL: zearalenol.

Os resultados na tabela 9 revelam que os rins das leitões do tratamento 2, que envolveu AFs, FBs e ZEN combinadas, apresentaram concentrações médias de $2,63 \pm 0,31$, $9,13 \pm 0,25$, $4,32 \pm 0,65$ e $41,6 \pm 5,7$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ para AFM₁, AFs, FBs e ZEN, respectivamente. No entanto, no tratamento 3 (DB + AFs + FBs + ZEN + 1,5% CMO), os níveis foram abaixo do LOQ para AFM₁, AFs, α -ZEL e β -ZEL, enquanto FBs e ZEN foram observados em níveis médios de

2,98±1,11 e 34,3±3,3 µg/kg, respectivamente. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados no tratamento 4 (DB + AFs + FBs + ZEN + 3,0% CMO), com níveis quantificáveis de FBs (3,25±1,56) e ZEN (30,5±4,2). Na mesma ordem, o tratamento 5 (BD + AFs + FBs + ZEN + 1,5% ADMM) apresentou níveis médios para AFM₁ de 1,06±0,20, AFs de 4,25±0,53, FBs de 2,77±1,02 e ZEN de 23,1±2,9 µg/kg. No tratamento 6 (BD + AFs + FBs + ZEN + 3,0% ADMM), os valores médios foram menores para AFM₁ (0,80±0,11), AFs (1,92±0,24), FBs (2,63±1,32) e ZEN (17,4 ± 2,1), se comparados com os dados do tratamento 2.

Tabela 9. Efeito de uma clinoptilolita modificada organicamente (CMO) ou de um agente desintoxicante de micotoxinas de múltiplos componentes (ADMM) combinado a aflatoxinas (AFs), fumonisinas (FBs) e zearalenona (ZEN) sobre os resíduos de micotoxinas nos rins de leitões após 42 dias de intoxicação¹.

Tratamentos ²	AFM ₁ (µg/kg)	AFs ³ (µg/kg)	FBs ⁴ (µg/kg)	ZEN (µg/kg)	α-ZEL (µg/kg)	β-ZEL (µg/kg)
1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
2	2,63±0,31 ^a	9,13±0,25 ^a	4,32±0,65 ^a	41,6±5,7 ^a	< LOQ	< LOQ
3	< LOQ	< LOQ	2,98±1,11 ^b	34,3±3,3 ^b	< LOQ	< LOQ
4	< LOQ	< LOQ	3,25±1,56 ^b	30,5±4,2 ^c	< LOQ	< LOQ
5	1,06±0,20 ^b	4,25±0,53 ^b	2,77±1,02 ^c	23,1±2,9 ^d	< LOQ	< LOQ
6	0,80±0,11 ^b	1,92±0,24 ^c	2,63±1,32 ^c	17,4±2,1 ^d	< LOQ	< LOQ

¹ Os dados são médias ± DP de 4 leitões por tratamento.

² 1: Controle, somente dieta basal (DB); 2: DB + AFs + FBs + ZEN; 3: DB + AFs + FBs + ZEN+ 1.5 kg/ton CMO; 4: DB + AFs + FBs + ZEN + 3.0 kg/ton CMO; 5: DB + AFs + FBs + ZEN + 1.5 kg/ton ADMM; 6: DB + AFs + FBs + ZEN + 3.0 kg/ton ADMM. ³ Soma de AFB₁ + AFB₂ + AFG₁ + AFG₂. ⁴ Soma de FB₁ + FB₂.

^{a-d} Em uma mesma coluna, médias seguidas de letras diferentes em sobrescrito diferem significativamente (P < 0,05).

LOQ: Limite de quantificação (consulte a tabela 2 para os valores de LOQ para cada micotoxina); ZEL: zearalenol.

6. Discussão

Neste estudo, a ausência de sinais clínicos nos animais indica baixos níveis de exposição às micotoxinas, curto tempo experimental e falta de estresse devido ao alto conforto dos animais. Além disso, esses resultados indicam que os adsorventes avaliados em 1,5% ou 3,0% da dieta não afetaram negativamente a integridade nutricional da dieta, o que implica que essas concentrações dietéticas eram seguras para alimentação. As micotoxinas combinadas testadas afetaram negativamente o peso corporal (kg) de leitoas ao longo de 42 dias de intoxicação (tabela 4) embora nenhum efeito tenha sido observado no consumo de ração. Além disso, a inclusão dos adsorventes CMO ou ADMM em 1,5% ou 3,0% diminuíram os efeitos negativos das micotoxinas combinadas, aumentando assim o peso das leitoas durante os 42 dias de intoxicação aproximando-o do valor encontrado no grupo controle.

Uma das consequências econômicas mais significativas da micotoxicose na produção de suínos é a redução da taxa de crescimento (LATHAM et al., 2023). Neste estudo, uma mistura de AFs, FBs e ZEN foi utilizada, resultando em efeitos tóxicos combinados nos animais expostos. Os efeitos da exposição simultânea a múltiplas micotoxinas são complexos e podem ser classificados em categorias sinérgicas, aditivas e antagônicas (ALASSANE-KPEMBI et al., 2017). Estudos anteriores identificaram algumas possíveis interações sinérgicas e aditivas de micotoxinas co-ocorrentes, como AFs e FBs, associadas à redução do ganho de peso corporal (DILKIN et al., 2003; HARVEY et al., 1991), o que está de acordo com os dados relatados. Mudanças na síntese de proteínas, expressão de genes e cinética enzimática são geralmente apresentadas como os principais mecanismos pelas quais as micotoxinas podem afetar o desempenho das leitoas (POPESCU et al., 2021).

Com relação à toxicidade, o foco principal está na AFB₁ entre todas as AFs. A AFB₁ é bem conhecida por suas propriedades carcinogênicas e teratogênicas (BUSZEWSKA-FORAJTA, 2020; ENGIN; ENGIN, 2019). O citocromo P450 microsomal hepático (CYP450) catalisa a formação de um intermediário instável e substrato altamente reativo, conhecido como AFB₁-8,9-epóxido, como um evento crucial nos mecanismos de toxicidade induzida por AFB₁. Este composto intermediário desempenha o papel principal nas toxicidades carcinogênicas, dentre outras, relacionadas à AFB₁ (BUSZEWSKA-FORAJTA, 2020; DOHNAL; WU; KUČA, 2014; ENGIN; ENGIN, 2019; POPESCU et al., 2021). Além disso, a AFB₁ está associada à imunotoxicidade, estresse oxidativo e alterações epigenéticas, como a metilação do DNA e alterações no RNA, entre outros efeitos que potencialmente contribuem para o

carcinoma hepatocelular (HCC) (LI et al., 2022). A exposição do útero à AFB₁ afeta a metilação do DNA da prole, destacando a necessidade de pesquisas adicionais para entender os mecanismos epigenéticos subjacentes (SCHRENK et al., 2020).

Entre as FBs, a FB₁ mostrou induzir toxicidade com efeitos neurotóxicos, teratogênicos, hepatotóxicos e carcinogênicos em animais (BERTERO et al., 2018). A exposição de porcos à FB₁ leva ao desenvolvimento de disfunção clínica específicas em suínos chamada de edema pulmonar, e está associada à alta pressão hidrostática capilar pulmonar (DILKIN et al., 2003). A exposição à FB₁ em suínos também resulta em danos aos sistemas hepático, cardiovascular, gastrointestinal e imunológico. O dano cardiovascular está relacionado à disfunção do metabolismo dos esfingolipídeos, e dentre os sinais hepáticos estão inclusos colestase, necrose hepática e proliferação celular, sendo que a toxicidade é dose e tempo dependente (FU et al., 2013). A estrutura osteogênica não esteroideal da ZEN imita hormônios naturais, causando problemas reprodutivos em animais, reduzindo a atividade estrogênica e alterando as vias metabólicas associadas. Por exemplo, em suínos, a exposição de curto prazo no primeiro ciclo reprodutivo levou a um aumento do retorno ao estro, abortos e sintomas de hiperestrogenismo em leitões recém-nascidos. Esta exposição resultou em atresia folicular ovariana, alterações semelhantes à apoptose em células da granulosa e aumento da proliferação celular em útero e oviduto (OBREMSKI et al., 2003; ZINEDINE et al., 2007).

Os achados histopatológicos apresentados neste estudo corroboram com os estudos supracitados, apresentando lesões como displasia hepática e hepatite moderadas, atrofia glomerular, inflamação intersticial renal, pneumonite intersticial moderada e aumento do número de oócitos.

No presente estudo não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros bioquímicos séricos. Esses achados são coerentes com os encontrados em estudos anteriores (FU et al., 2013; WEAVER; SEE; KIM, 2014). Vale ressaltar que esses estudos relataram que as variáveis mencionadas podem não ser biomarcadores satisfatórios para indicar intoxicação em suínos expostos à micotoxinas em quantidades menores e/ou por um curto período de tempo, visto que tais alterações ocorrem após danos hepáticos graves. Portanto, a utilização de biomarcadores mais sensíveis no sangue dos animais é altamente indicada em casos de exposição reduzida à micotoxinas.

A mistura de micotoxinas contendo AFs, FBs e ZEN aumentou o peso relativo do fígado nos animais, causando também displasia hepatocelular neste órgão. Além disso, esses animais também apresentaram pneumonite intersticial, atrofia glomerular renal e redução do número de

oócitos nos ovários. No entanto, a adição de 3,0% de CMO ou ADMM (1,5 ou 3,0%) teve um efeito positivo no peso relativo do fígado após 42 dias de exposição dietética a AFs, FBs e ZEN. Um efeito protetor semelhante de CMO ou ADMM foi observado em relação ao peso relativo do útero. Além disso, os tratamentos com CMO e ADMM foram capazes de reduzir a incidência de displasia hepatocelular, atrofia glomerular renal e pneumonite intersticial. Curiosamente, a adição de 1,5% de ADMM aumentou o número de oócitos nos ovários. Por outro lado, as leitões suplementadas com 3,0% de CMO ou ADMM apresentaram infiltrado inflamatório intersticial leve nos rins, e os animais tratados com ambas concentrações de ADMM desenvolveram hepatite.

Níveis residuais de AFs (incluindo AFM₁) foram detectados apenas nos fígados das leitões do tratamento 2 (DB + AFs + FBs + ZEN), enquanto as concentrações de FBs e ZEN e seus metabólitos derivados (α - e β -ZEL) foram reduzidas nos tratamentos restantes 3, 4, 5 e 6, os quais foram estatisticamente inferiores ao tratamento 2. Os resultados indicam que os tratamentos com os adsorventes proporcionaram uma alta proteção para o fígado dos animais contra as micotoxinas fornecidas tanto relacionado à presença de CMO como de ADMM, conforme indicado pelos níveis variáveis dessas toxinas nos diferentes tratamentos. O desempenho efetivo do ADMM também foi demonstrado em um estudo *in vivo* em leitões desmamados expostos a ZEN e toxinas T-2 na dieta. Os resultados demonstraram uma redução dose-dependente nos níveis residuais de ZEN e T-2 no fígado com a inclusão desse adsorvente, recomendando uma dose de 3g de ADMM/kg de ração (DILKIN et al., 2003). Além disso, o uso de bentonita, um mineral de argila purificado, nas dietas de suínos durante um ensaio de 35 dias, mostrou uma capacidade notável de adsorver micotoxinas. De acordo com os resultados, um desempenho superior foi observado para esse adsorvente, contribuindo com o aumento da ingestão de ração e ganho de peso, com a manutenção da saúde geral dos fígados e outros órgãos dos suínos (HORKY et al., 2022). Segundo (RAJ et al., 2021) o uso de CMO na alimentação de frangos de corte expostos a AFB₁ e OTA levou a uma melhora na conversão alimentar e ganho de peso médio, condizendo com os dados aqui apresentados.

Quando os rins foram examinados para a determinação e quantificação dos níveis residuais de AFs, FBs, ZEN, α - e β -ZEL, todos os tratamentos comparados ao controle positivo (tratamento 2) foram significativamente reduzidos. Ao longo da avaliação das micotoxinas, a redução de AFs pelos adsorventes mostrou-se altamente eficaz nos tratamentos 3 e 4, seguidos pelos tratamentos 5 e 6. Para FB₁ e ZEN, os tratamentos 5 e 6 foram mais eficazes do que os outros tratamentos. Esses dados demonstram claramente que o uso destes adsorventes, CMO e

ADMM, é altamente eficaz contra as AFs, reduzindo também os efeitos das FBs e ZEN, sugerindo que utilizando a suplementação com esses aditivos tem o potencial de mitigar os níveis residuais de micotoxinas e, conseqüentemente, os riscos à saúde dos leitões. Eficácia semelhante para ADMM foi avaliada em leitões desmamados expostos a ZEN e T-2 na dieta, onde os níveis residuais dessas toxinas foram aliviados sem resultados negativos nos rins dos animais (RAJ et al., 2020). De acordo com os resultados observados com o CMO, um estudo constatou que a aplicação desse adsorvente reduziu efetivamente os níveis residuais de AFB₁ e OTA em frangos de corte. A inclusão de CMO levou a uma redução nos resíduos de toxinas nos órgãos examinados, o que, por sua vez, resultou em melhorias significativas nos marcadores bioquímicos específicos associados à saúde do fígado e melhorias notáveis nas métricas de desempenho. Esses achados corroboram o impacto favorável de CMO quando os frangos de corte são expostos à ingestão simultânea de AFB₁ e OTA, indicando seus benefícios potenciais em tais cenários (RAJ et al., 2021).

7. Conclusões

Após uma exposição alimentar de 42 dias, a mistura de micotoxinas diminuiu o ganho de peso corporal e aumentou o tamanho da vulva e dos pesos relativos do fígado e útero, além de também induzir alterações histopatológicas no fígado, rins, pulmões e ovários, embora nenhum efeito tenha sido observado nos parâmetros bioquímicos séricos dos animais intoxicados. Os adsorventes testados melhoraram os efeitos tóxicos e reduziram significativamente os níveis residuais de micotoxinas em fígado e rins, com destaque para a suplementação com 1,5% de CMO, visto que foi capaz de reduzir o início da carcinogênese hepática sem causar hepatotoxicidade. Estas descobertas demonstram a eficácia do CMO e ADMM para mitigar os efeitos adversos das micotoxinas presentes na dieta de leitões, com perspectivas de melhorar as estratégias de manejo de micotoxinas na suinocultura.

Estudos futuros devem abordar os efeitos protetores de longo prazo dos adsorventes avaliados, com vistas à otimização das estratégias de manejo de micotoxinas em criações comerciais de suínos

REFERÊNCIAS

ABRANCHES, C. T. S. **Carodnia vierai (Mammalia: Xenungulata): Uma linhagem evolutiva única? Inferências através de microdesgaste dentário e morfometria geométrica da mandíbula**. Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, 2012.

ALASSANE-KPEMBI, I. et al. Mycotoxins co-contamination: Methodological aspects and biological relevance of combined toxicity studies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 16, p. 3489–3507, 2 nov. 2017.

AMBROZOVA, P. et al. **Synthesis and modification of clinoptilolite**. **Molecules**MDPI AG, , 4 jul. 2017.

ANJOS, M. R. **Método Multirresíduo para Análise de Aflatoxina M1, Avermectinas, Agrotóxicos Organofosforados e Milbemicina em Leite por Cromatografia Líquida de Ultraeficiência Acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial**. Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

ANVISA. **RDC 07/2011: Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos**. , 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual 2022**. , 2022.

BARROS, E. M. A. **Microbiota fúngica e caracterização físico-química de queijos tipo ricota comercializados em Maceió - AL**. Maceió, AL: Universidade Federal de Alagoas, 2013.

BERTERO, A. et al. **Fusarium molds and mycotoxins: Potential species-specific effects**. **Toxins**MDPI AG, , 15 jun. 2018.

BISCOTO, G. L. **Micotoxinas na alimentação de bovinos no Brasil: um estudo de 2017 a 2021**. Doutorado—Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2022.

BORTOLATTO, L. B. **Desenvolvimento de materiais estruturados hierarquicamente a partir de zeólitas do tipo Y**. Doutorado—Florianópolis, SC: Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, 2019.

BRAND, H. G. **Formulação de rações balanceadas para suínos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2018.

BURANATRAGOOL, K. et al. Dispositions and tissue residue of zearalenone and its metabolites α -zearalenol and β -zearalenol in broilers. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 351–356, 1 fev. 2015.

BUSZEWSKA-FORAJTA, M. **Mycotoxins, invisible danger of feedstuff with toxic effect on animals.** *Toxicon* Elsevier Ltd, , 30 jul. 2020.

CAO, X. et al. Quantitative determination of carcinogenic mycotoxins in human and animal biological matrices and animal-derived foods using multi-mycotoxin and analyte-specific high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric methods. *Journal of Chromatography B*, v. 1073, p. 191–200, 15 jan. 2018.

CHAYTOR, A. C. et al. Occurrence and decontamination of mycotoxins in swine feed. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, v. 24, n. 5, p. 723–738, maio 2011.

CHEN, J. et al. **Fumonisin B1: Mechanisms of toxicity and biological detoxification progress in animals.** *Food and Chemical Toxicology* Elsevier Ltd, , 1 mar. 2021.

COELHO, L.; AMORIM, A. **Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais** *Rev. Bras. Epidemiol.* [s.l.: s.n.].

DA SILVA, J. V. B. **Uma visão geral sobre micotoxinas, seus efeitos patogênicos e biomarcadores de exposição.** Mestrado—Ribeirão Preto - SP: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP/USP, 2022.

DE OLIVEIRA, C. A. F.; FRANCO, L. T.; MUAZ, K. Modern approaches for the assessment of human exposure to dietary mycotoxins. Em: **Toxicological Risk Assessment and Multi-System Health Impacts from Exposure.** [s.l.] Elsevier, 2021. p. 323–335.

DI GREGORIO, M. C. **Determinação de biomarcadores de aflatoxina B1 e aplicabilidade na avaliação da eficiência de adsorventes em suínos.** Pirassununga, SP: [s.n.].

DIAS, A. C. et al. Manual brasileiro de boas práticas agropecuárias na produção de suínos. **Embrapa Suínos e Aves**, 2011.

DILKIN, P. et al. Toxicological effects of chronic low doses of aflatoxin B1 and fumonisin B1-containing *Fusarium moniliforme* culture material in weaned piglets. *Food and Chemical Toxicology*, v. 41, n. 10, p. 1345–1353, 2003.

DILKIN, P. **Efeito das micotoxinas na reprodução de suínos in: IV SIMPÓSIO BRASIL SUL DE SUINOCULTURA.** 2011. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br>>

DOHNAL, V.; WU, Q.; KUČA, K. **Metabolism of aflatoxins: Key enzymes and interindividual as well as interspecies differences.** *Archives of Toxicology* Springer Verlag, , 2014.

ELLIOTT, C. T.; CONNOLLY, L.; KOLAWOLE, O. Potential adverse effects on animal health and performance caused by the addition of mineral adsorbents to feeds to reduce mycotoxin exposure. **Mycotoxin Research**, v. 36, n. 1, p. 115–126, 1 fev. 2020.

ENGIN, A. B.; ENGIN, A. **DNA damage checkpoint response to aflatoxin B1. Environmental Toxicology and Pharmacology** Elsevier B.V., , 1 jan. 2019.

FAO. **Meat Market Review: Emerging trends and outlook**. Rome: [s.n.].

FRANCO, L. T. et al. Assessment of mycotoxin exposure and risk characterization using occurrence data in foods and urinary biomarkers in Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, v. 128, p. 21–34, 1 jun. 2019.

FRANCO, L. T. et al. **Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in workplaces and human biomonitoring of mycotoxins in exposed workers: a systematic review. Toxin Reviews** Taylor and Francis Ltd, , 2020.

FU, J. C. et al. Effectiveness of maifanite in reducing the detrimental effects of aflatoxin B1 on hematology, aflatoxin B1 residues, and antioxidant enzymes activities of weanling piglets. **Livestock Science**, v. 157, n. 1, p. 218–224, out. 2013.

GRENIER, B. et al. The low intestinal and hepatic toxicity of hydrolyzed fumonisin B 1 correlates with its inability to alter the metabolism of sphingolipids. **Biochemical Pharmacology**, v. 83, n. 10, p. 1465–1473, 15 maio 2012.

HARVEY, R. B. et al. **Cocontamination of swine diets by aflatoxin and diacetoxyscirpenol** **J Vet Diagn Invest**. [s.l: s.n.].

HOLANDA, D. M.; KIM, S. W. Investigation of the efficacy of mycotoxin-detoxifying additive on health and growth of newly-weaned pigs under deoxynivalenol challenges. **Animal Bioscience**, v. 34, n. 3, p. 405–416, 1 mar. 2021.

HORKY, P. et al. Is a new generation of mycotoxin clay adsorbents safe in a pig's diet? **Porcine Health Management**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2022.

JUSTINO, G. A. DE J. **Micotoxinas - Biomonitorização Humana nas crianças**. Mestrado—Coimbra: Universidade de Coimbra, 2020.

LATHAM, R. L. et al. **Diverse mycotoxin threats to safe food and feed cereals. Essays in Biochemistry** Portland Press Ltd, , 1 set. 2023.

LI, C. et al. Research progress in toxicological effects and mechanism of aflatoxin B1 toxin. **PeerJ**, v. 10, 2022.

MAZOYER, M.; ROUDART, L. **História das agriculturas no mundo: Do neolítico à crise contemporânea**. Editora UNESP ed. [s.l: s.n.].

MINAMI, L. et al. **Fumonisin: efeitos toxicológicos, mecanismo de ação e biomarcadores para avaliação da exposição.** Semina: Ciências Agrárias. Londrina, PR: [s.n.].

NONES, J. **Avaliação da contaminação por micotoxinas em ingredientes e rações para suínos.** Florianópolis: [s.n.].

OBREMSKI, K. et al. **The level of zearalenone and α -zearalenol in the blood of gilts with clinical symptoms of toxicosis, fed diets with a low zearalenone content** ***Journal of Animal and Feed Sciences.** [s.l: s.n.].

OLIVER, M. E. C. et al. **Micotoxinas e micotoxicoses na suinocultura: revisão de literatura.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.nutritime.com.br>>.

PINTO, A. V.; NARDI JUNIOR, G. DE. **A peste suína africana na Chia em 2018 e os reflexos nas exportações brasileiras de carne suína.** [s.l: s.n.].

POPESCU, R. G. et al. The Effectiveness of Dietary Byproduct Antioxidants on Induced CYP Genes Expression and Histological Alteration in Piglets Liver and Kidney Fed with Aflatoxin B1 and Ochratoxin A. **Toxins**, v. 13, n. 2, 1 fev. 2021.

PRESTES, I. D. et al. Fungi and mycotoxins in corn grains and their consequences. **Scientia Agropecuaria**, v. 10, n. 4, p. 559–570, 2019.

PRICE, M.; HONGO, H. The Archaeology of Pig Domestication in Eurasia. **Journal of Archaeological Research**, v. 28, n. 4, p. 557–615, 1 dez. 2020.

RAJ, J. et al. Efficacy of a multicomponent mycotoxin detoxifying agent on concurrent exposure to zearalenone and T-2 mycotoxin in weaned pigs. **Livestock Science**, v. 242, 1 dez. 2020.

RAJ, J. et al. Effects of a modified clinoptilolite zeolite on growth performance, health status and detoxification of aflatoxin B1 and ochratoxin A in male broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 62, n. 4, p. 601–610, 2021.

SANTURIO, J. **Micotoxinas e micotoxicoses nos suínos.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/228641827>>.

SCHAARSCHMIDT, S.; FAUHL-HASSEK, C. **Mycotoxins during the processes of nixtamalization and tortilla production.** **Toxins.** MDPI AG, , 1 abr. 2019.

SCHNEIDER, S. et al. Os efeitos da pandemia da Covid-19 sobre o agronegócio e a alimentação. **Estudos Avancados**, v. 34, n. 100, p. 167–188, 1 jan. 2020.

SCHRENK, D. et al. Risk assessment of aflatoxins in food. **EFSA Journal**, v. 18, n. 3, 1 mar. 2020.

SILVA, D. D. DA et al. Micotoxinas em Cadeias Produtivas do Milho: Riscos à Saúde Animal e Humana. **Embrapa Milho e Sorgo**, 2015.

SILVA, I. M. DE M. et al. **Boas práticas agropecuárias como ferramenta chave na prevenção de aflatoxinas M1 em queijos** *Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente*. Rio de Janeiro, RJ: [s.n.].

SOUTO, P. C. M. DE C. **Efeitos da Administração prolongada de baixos níveis de fumonisina B1 em suínos: avaliação de parâmetros de desempenho, histologia de órgãos, resposta imunológica e resíduos em materiais biológicos**. Doutorado—Pirassununga, SP: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade São Paulo - FZEA/USP, 2015.

SOUTO, P. C. M. DE C. et al. Principais micotoxicoses em suínos. v. 24, n. 3, p. 480–494, 2017.

SVOBODA, M. et al. Multiannual occurrence of mycotoxins in feed ingredients and complete feeds for pigs in the Czech Republic. **Acta Veterinaria Brno**, v. 88, n. 3, p. 291–301, 2019.

TALEUZZAMAN, M.; JOURNAL, I. Organic & Medicinal Chem IJ Limit of Blank (LOB), Limit of Detection (LOD), and Limit of Quantification (LOQ) Organic and Medicinal Chemistry. **Organic & Medicinal Chem IJ**, v. 7, n. 5, 2018.

TONINI, C. **Biomarcadores sanguíneos de exposição à zearalenona e aplicabilidade na avaliação da eficiência de aditivos antimicotoxinas em suínos e bovinos**. Doutorado—Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, 2020.

VILA-DONAT, P. et al. **A review of the mycotoxin adsorbing agents, with an emphasis on their multi-binding capacity, for animal feed decontamination**. **Food and Chemical Toxicology** Elsevier Ltd, , 1 abr. 2018.

WEAVER, A. C.; SEE, M. T.; KIM, S. W. Protective effect of two yeast based feed additives on pigs chronically exposed to deoxynivalenol and zearalenone. **Toxins**, v. 6, n. 12, p. 3336–3353, 2014.

ZEDER, M. A. Pathways to animal domestication. Em: **Biodiversity in Agriculture: Domestication, Evolution, and Sustainability**. [s.l.] Cambridge University Press, 2012. p. 227–259.

ZINEDINE, A. et al. **Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin**. **Food and Chemical Toxicology**, jan. 2007.