Uso de Detoxa Plus® minimiza impactos negativos causados por micotoxinas (FB1 e DON) em frangos de corte

Fabio L. Gazoni¹, Fabrizio Matte², João Vitor Strapazzon³, Aleksandro S. da Silva³, Marcel M. Boiago³

Resumo

As micotoxinas representam desafios para a indústria de produção de alimentos e, em especial, no uso desses alimentos para a produção de proteína animal (PRESTES, 2019). Neste estudo, o comportamento dos parâmetros de desempenho e bioquímicos de frangos de corte alimentados com dietas contaminadas com 3 ppm de DON e 30 ppm de FB1, com adições crescentes do aditivo antimicotoxina (Detoxa Plus®), inativador enzimático de micotoxinas à base de *Saccharomyces cerevisiae* foi investigado. Foram utilizados 450 pintainhos machos de um dia de idade da linhagem Cobb, criados durante o período de 42 dias e distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições de 15 aves cada. Os índices de desempenho foram avaliados nos períodos de 1 a 21 dias, 1 a 35 dias e 1 a 42 dias de idade das aves. Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade de distribuição e, em seguida, à análise de variância. Em casos de diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). A ingestão de rações contaminadas com 3 e 30 ppm de DON e FB1, respectivamente, ocasionou queda de desempenho das aves nos períodos avaliados. O uso do produto comercial Detoxa Plus® minimizou os impactos negativos causados pelas micotoxinas na conversão alimentar a partir da dose de 750 ppm. O uso do aditivo antimicotoxina também manteve as variáveis espécies reativas ao oxigênio e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico estáveis em comparação aos valores encontrados nas aves que receberam dieta contaminada sem adição do produto comercial.

Palavras-chave: bioquímica sérica; conversão alimentar; TBARS; desoxinivalenol; fumonisinas.

Introdução

As micotoxinas são metabólitos produzidos por diferentes tipos de fungos. Os fungos geralmente se desenvolvem nos cereais e podem produzir micotoxinas em diferentes fases da cadeia de produção. Quando as micotoxinas são ingeridas por animais, elas podem causar várias alterações na saúde que variam de acordo com os tipos e quantidades de micotoxinas ingeridas.

Atualmente, vários métodos para controlar a ocorrência e/ou os efeitos das micotoxinas estão disponíveis. O controle dos efeitos deletérios das micotoxinas sobre a saúde animal pode ser realizado por aditivos antimicotoxinas.

Entre os vários compostos que podem ser utilizados para compor os aditivos antimicotoxinas frações de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* podem ser utilizadas para adsorver ou biotransformar as (JOUANY, 2007; ARMANDO, 2012; TSO, 2019) principais micotoxinas, tais como os tricotecenos, ocratoxinas, fumonisinas e zearalenona.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar parâmetros de desempenho e bioquímicos de frangos de corte desafiados alimentados com dietas contaminadas com 3 ppm de Desoxinivalenol (DON) e 30 ppm de Fumonisina B1 (FB1), com adições de doses crescentes de um aditivo antimicotoxina (Detoxa Plus®) composto por lisado de *Saccharomyces cerevisiae*.

Material e métodos

O experimento foi realizado no aviário experimental para frangos de corte do setor de avicultura da Fazenda Experimental da Universidade do Estado de Santa Catarina – Oeste. Foram utilizados 450 pintainhos machos de um dia de idade da linhagem Cobb, criados durante o período de 42 dias e distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições de 15 aves cada.

As aves foram distribuídas com base no peso médio do lote, visando homogeneidade entre as aves de cada parcela. Foi utilizado o manejo indicado pelo manual da linhagem. A água e a ração foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental, através de bebedouros tipo niple e comedouros tipo tubular, respectivamente. As dietas foram formuladas de acordo com as composições e exigências apresentadas nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO et. al., 2011), sendo preparadas em um misturador horizontal com capacidade para 150 kg de ração.

Os tratamentos se dividiram da seguinte forma: T1 – Dieta controle (sem contaminação); T2 – Dieta contaminada; T3 – Dieta contaminada + Detoxa Plus® 500 ppm; T4 – Dieta contaminada + Detoxa Plus® 750 ppm; T5 – Dieta contaminada + Detoxa Plus® 1000 ppm; T6 – Dieta controle + Detoxa Plus® 1000 ppm. As dietas foram contaminadas com a adição de material contendo altos níveis de Desoxinivalenol e Fumonisina B1,

¹Mestre em Sanidade e Reprodução Animal, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Universidade Federal de Santa Maria/RS. Coordenador Técnico Comercial América Latina - Aves. Vetanco do Brasil. Rua Raimundo Zanella, 400-D. Distrito Industrial Flávio Baldissera. Chapecó, Santa Catarina, Brazil. 89813-824. E-mail: gazoni@vetanco.com.br.

²Vetanco do Brasil, Santa Catarina, Chapecó, Brazil.

³Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC Oeste.

produzidos para uso em experimentação animal pela empresa MICOTEC (Piracicaba, SP). Após a adição do material foram realizadas análises das micotoxinas por cromatografia líquida de ultraeficiência com detecção por espectrometria de massa (HPLC - MS/MS) nas dietas e, os níveis detectados, são apresentados na Tabela 1. As análises de micotoxinas foram realizadas no setor de Bioquímica, do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP.

O aditivo antimicotoxina utilizado foi o Detoxa Plus®, Vetanco do Brasil Importação e Exportação Ltda, um produto que possui na composição 86% de lisado de parede de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e 14% de excipientes.

Tabela 1: Concentrações (ppb) de Desoxinivalenol (DON), Fumonisin (FB1 e FB2) e Zearalenona (ZEA) detectadas nas dietas utilizadas

Tratamento	DON	FB1	FB2	ZEA
T1	ND	1200	266	ND
T2	2843	26378	5526	174
T3	2713	27735	6057	150
T4	2761	33022	6270	145
T5	2730	25291	4330	152
T6	ND	1120	190	ND

T1 – Dieta controle (sem contaminação), T2 – Dieta contaminada, T3 – Dieta contaminada + Detoxa Plus® 500 g/ton, T4 – Dieta contaminada + Detoxa Plus® 750 g/ton, T5 – Dieta contaminada + Detoxa Plus® 1000 g/ton, T6 – Dieta controle + Detoxa Plus® 1000 g/ton, ND - não detectado (Limite de quantificação 30 ppb). Cromatografia líquida de ultraeficiência com detecção por espectrometria de massa (UPLC - MS/MS).

Os parâmetros zootécnicos foram: consumo de ração (CR, g), peso médio (PM, g), ganho de peso (GP, g) e conversão alimentar (CA) das aves nos períodos de 1 a 21 dias, 1 a 35 dias e 1 a 42 dias de idade das aves. No início e no final de cada fase foram pesadas as aves e as sobras de ração, dessa forma foram obtidos os índices produtivos acima citados. Também foi realizado o controle do número de aves mortas, transformado em porcentagem em cada fase de criação.

Aos 42 dias de vida foi realizada coleta de sangue da veia ulnar de uma ave por parcela. As amostras de sangue foram acondicionadas em tubos sem anticoagulante e centrifugados 5500 rpm por 10 minutos para obter o soro; transferidos para microtubos e congelados a -20 °C. As amostras foram levadas para o Laboratório de Análises Micotoxológicas – LAMIC, da Universidade Federal de Santa Maria, para realização da análise de relação esfinganina/esfingosina (SA/SO).

Uma ave por parcela foi abatida por deslocamento cervical para coleta de amostras do fígado, que foram identificadas e levadas refrigeradas ao Laboratório de Anatomia e Parasitologia do Departamento de Zootecnia da UDESC - Oeste para realização das análises de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e espécies reativas de oxigênio (EROs).

A determinação de EROs foi realizada utilizando o método descrito por Ali et al. (1992). Os resultados foram expressos em U DCF/mg de proteína. A peroxidação lipídica (TBARS) foi mensurada seguindo o método descrito por Jentzsch et al. (1996), com os resultados expressos em mmol MDA/g de tecido.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade de distribuição e, em seguida, à análise de variância. Em casos de diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). Para a variável mortalidade foi utilizado um teste não paramétrico devido à não existência de distribuição normal, onde foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis (5%).

Resultados e discussão

Os parâmetros PM e GP sofreram influência negativa da presença das micotoxinas nas dietas em todos os períodos avaliados ($P < 0,05$) (Tabela 2). As aves que ingeriram rações contaminadas tiveram menores PM e GP que as dos grupos não contaminados (T1 e T6) no período de 1 a 21 dias ($P < 0,05$), porém, nos períodos de 1 a 35 dias e 1 a 42 dias apenas as aves do grupo controle + Detoxa Plus® 1000 diferiram significativamente ($P < 0,05$) das que receberam rações com micotoxinas, com valores significativamente maiores que os tratamentos que continham micotoxinas para PM e GP.

Tabela 2: Valores médios obtidos para consumo de ração (CR, kg), peso médio (PM, kg), ganho de peso (GP, kg) e conversão alimentar (CA) das aves alimentadas com rações que continham os diferentes tratamentos no período de 1 a 7 dias

Tratamento	1 a 21 dias			
	CR	PM	GP	CA
T1 - Controle N	1,40	0,998 A	0,951 A	1,47 B
T2 - Controle P	1,42	0,894 B	0,848 B	1,68 A
T3 - CP 500	1,46	0,900 B	0,854 B	1,71 A
T4 - CP 750	1,41	0,923 B	0,878 B	1,61 AB
T5 - CP 1000	1,40	0,920 B	0,875 B	1,60 AB
T6 - CN 1000	1,39	1,025 A	0,980 A	1,42 B
P	0,351	< 0,01	< 0,01	< 0,01
CV (%)	3,82	3,29	3,47	5,89
Tratamento	1 a 35 dias			
	CR	PM	GP	CA
T1 - Controle N	3,78	2,53 AB	2,48 AB	1,52 B
T2 - Controle P	3,96	2,47 B	2,42 B	1,63 A
T3 - CP 500	3,80	2,36 B	2,31 B	1,64 A
T4 - CP 750	3,79	2,40 B	2,35 B	1,61 AB
T5 - CP 1000	3,80	2,45 B	2,40 B	1,58 AB
T6 - CN 1000	3,85	2,65 A	2,60 A	1,48 B
P	0,673	< 0,01	< 0,01	0,016
CV (%)	4,71	3,57	3,64	4,75
Tratamento	1 a 42 dias			
	CR	PM	GP	CA
T1 - Controle N	5,18	3,39 AB	3,34 AB	1,55 B
T2 - Controle P	5,46	3,30 B	3,25 B	1,68 A
T3 - CP 500	5,25	3,20 B	3,16 B	1,67 A
T4 - CP 750	5,37	3,27 B	3,22 B	1,67 A
T5 - CP 1000	5,20	3,28 B	3,23 B	1,61 AB
T6 - CN 1000	5,30	3,55 A	3,51 A	1,51 B
P	0,483	< 0,01	< 0,01	< 0,01
CV (%)	4,32	3,40	3,45	4,30

A, B, C Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). CV = coeficiente de variação.

A CA foi negativamente afetada pela presença das micotoxinas nas dietas, porém, os tratamentos contaminados que tiveram a adição de 750 e 1000 g/ton do produto Detoxa Plus® não diferiram estatisticamente dos tratamentos que não foram contaminados artificialmente ($P>0,05$) no período de 1 a 21 dias e 1 a 35 dias. Ao considerar o período de 1 a 42 dias percebe-se que a CA das aves que receberam a dieta contaminada + 1000 g/ton do Detoxa Plus® foi similar ($P>0,05$) à CA das aves que não receberam dietas contaminadas pela DON e FB1, ou seja, os efeitos negativos causados pela presença das micotoxinas foram minimizados pelo uso do produto comercial avaliado. Não houve diferença entre os tratamentos para a variável mortalidade, cujos valores médios variaram de 3,0 a 3,8 entre os tratamentos no período de 1 a 42 dias de idade.

As fumonisinas afetam a síntese dos esfingolipídios, causando um aumento relativo da esfingosina (SA) em relação as esfingosina (SO) em animais expostos a esta micotoxinas. A proporção entre SA e SO é utilizada como um biomarcador de intoxicação por fumonisinas em animais e humanos, podendo ser utilizada em levantamentos epidemiológicos sobre a exposição de uma determinada população às fumonisinas (Martins, 2005). A relação SA/SO foi similar nas amostras dos animais de todos os tratamentos, com exceção para aqueles do tratamento controle negativo, cujas concentrações das enzimas foram inferiores ao limite de detecção da metodologia utilizada na análise (Tabela 3).

A análise de espécies reativas ao oxigênio (ROS) foi significativamente superior nas amostras dos fígados das aves alimentadas com rações contaminadas e sem adição do produto Detoxa Plus®, quando comparadas com as dos demais tratamentos. Tal resultado mostra que a utilização do produto Detoxa Plus® nas diferentes concentrações testadas foi capaz de proteger o fígado contra a formação das espécies reativas ao oxigênio (ROS).

O valor encontrado para TBARS nas amostras de fígado das aves que receberam ração contaminada sem adição do Detoxa Plus® foi superior ao das aves que não receberam rações contaminadas e dos grupos que receberam ração contaminada + o produto Detoxa Plus® nas dosagens de 750 e 1000 g/ton de

Tabela 3: Valores médios obtidos para relação esfinganina/esfingosina (SA/SO) no soro, espécies reativas ao oxigênio (ROS, U DCF/mg proteína) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, mmol MDA/mg proteína) no fígado das aves alimentadas com rações com os diferentes tratamentos

Tratamento	SA/SO	ROS	TBARS
T1 - Controle N	<LQ	37.000 B	1,99 B
T2 - Controle P	1,33	108.000 A	8,34 A
T3 - CP 500	1,73	42.000 B	6,92 AB
T4 - CP 750	1,22	25.000 B	1,02 B
T5 - CP 1000	1,34	42.000 B	1,47 B
T6 - CN 1000	0,90	23.000 B	1,44 B
P	0,154	<0,0001	0,0016
CV (%)	44,95	34,13	78,43

A, B Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P<0,05$). CV = coeficiente de variação.

ração. Esse resultado mostra efeito positivo do uso do produto inativador de micotoxinas nas dosagens acima citadas.

Conclusões

A ingestão de rações contaminadas com 3 e 30 ppm de Desoxinivalenol e Fumonisina FB1, respectivamente, ocasionou queda de desempenho das aves nos períodos avaliados e elevação dos valores das variáveis bioquímicas espécies reativas ao oxigênio e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no organismo das aves.

O uso do produto comercial Detoxa Plus® minimizou os impactos negativos causados pelas micotoxinas na CA a partir da dose de 750 ppm. O uso do produto comercial também manteve as variáveis bioquímicas espécies reativas ao oxigênio e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico estáveis em comparação aos valores encontrados nas amostras das aves que receberam dieta contaminada sem adição do produto testado.

Referências

- ALI, S. F., LEBEL, C. P., BONDY, S. C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. *Neurotoxicology*, v. 13, n. 3, 637–648, 1992.
- ARMANDO, M. R., PIZZOLITTO, R. P., DOGI, C. A., CRISTOFOLINI, A., MERKIS, C. V., POLONI, C. V., DALCERO, A. M., CAVAGLIERI, L. R., Adsorption of ochratoxin A and zearalenone by potential probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains and its relation with cell wall thickness. *Journal of Applied Microbiology*, v113, n.2, p.256–264, 2012.
- JENTZSCH, A. M., BACHMANN, H., BIESALSKI, H. K. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radical Biology & Medicine*, v.20, n.2, p.251-256, 1996.
- JOUANY, J. P. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v. 137, 2007.

- MARTINS, J. M. P. *Avaliação do biomarcador (Esfinganina/Esfingosina) na intoxicação por fumonisinas em suínos*. Dissertação. UFRRJ, 48 p. 2005.
- PRESTES, I. D.; ROCHA, L. O.; NUÑEZ, K. V. M.; SILVA, N. C. C. Fungi and mycotoxins in corn grains and their consequences. *Scientia Agropecuaria*, v.10, n. 4, p. 559 – 570. 2019.
- ROSTAGNO, H. S. et al. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos*. 3ª edição, Viçosa, MG: UFV. 52 p. 2011
- TSO, K.-H.; JU, J.-C.; FAN, Y.-K.; CHIANG, H.-I. Enzyme Degradation Reagents Effectively Remove Mycotoxins Deoxynivalenol and Zearalenone from Pig and Poultry Artificial Digestive Juices. *Toxins*, v.11, n. 10, p. 599. 2019.