

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUIZ RODOLFO SCAVAZZA GERTNER

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE
FUMONISINAS EM RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE
NA HISTOLOGIA DE FÍGADO E MUCOSA INTESTINAL
E RESPOSTA IMUNOLÓGICA HUMORAL À VACINA
CONTRA DOENÇA DE NEWCASTLE**

CURITIBA

2009

LUIZ RODOLFO SCAVAZZA GERTNER

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE
FUMONISINAS EM RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA
HISTOLOGIA DE FÍGADO E MUCOSA INTESTINAL E
RESPOSTA IMUNOLÓGICA HUMORAL À VACINA CONTRA
DOENÇA DE NEWCASTLE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Área de concentração: Patologia Veterinária, do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Profa. Dra. Elizabeth Santin
Co-orientador: Prof. Dr. George Rottinghaus

CURITIBA
2009

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

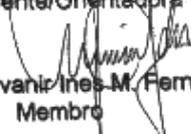


PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "AVALIAÇÃO DO EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE FUMONISINAS EM RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA HISTOLOGIA DE FÍGADO E MUCOSA INTESTINAL E RESPOSTA IMUNOLÓGICA HUMORAL À VACINA CONTRA DOENÇA DE NEWCASTLE" apresentada pelo Mestrando Luiz Rodolfo Scavazza Gertner, declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03-CEPE/UFPR, que considerou o candidato Rorovedo para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 13 de fevereiro de 2009


Prof.ª Dr.ª Elizabeth Santin
Presidente/Orientadora


Prof.ª Dr.ª Jovani Ines M. Fernandes
Membro


Prof. Dr. Fernando Rutz
Membro

Aos meus pais e avós, pelo infindo apoio, paciência e credibilidade em meu futuro.
À minha companheira Cintia, pelo carinho em todos os momentos.
À minha irmã, pela admiração que sente, que me motiva.
A todos os amigos, pela paz e segurança que me proporcionam.

AGRADECIMENTOS

Nada deste trabalho seria possível sem uma excelente equipe de trabalho, pronta para cooperar em qualquer parte do percurso, e merecem agradecimentos:

Dra. Elizabeth Santin, meu ponto de apoio desde minha formatura, orientadora sempre presente nas fases da minha vida. Foi quem deu vida a este trabalho.

Minha colega de mestrado, Marina Bolzani Saad, que além de amiga, ajudou em todos os pontos imagináveis deste trabalho, trocando idéias e solucionando problemas em conjunto.

As técnicas de laboratório Louise Cândido da Silva e Maristela Toledo, que além de participarem das análises do experimento, agindo como se fossem delas mesmas, sempre me auxiliaram em qualquer situação.

Aos colegas de laboratório Ricardo Hayashi, Mariana Lourenço, Hederson Dallagnol, Leandro Kuritza, Renan Queiroz, Ítalo Ruiz, Guilherme Matuella e Adriane Bainy, que também colaboraram para a realização do trabalho sem medir esforços.

A todos que me incentivaram.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	VIII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	X
INTRODUÇÃO GERAL.....	11
CAPÍTULO 1: Influência da fumonisina sobre a resposta imunológica – Revisão Bibliográfica.....	12
1.1. Introdução.....	14
1.2. Fungos.....	15
1.3. Micotoxinas.....	16
1.4. Fumonisinias.....	18
1.4.1. Membranas celulares.....	18
1.4.2. Mecanismo de ação das fumonisinias.....	19
1.5. Efeitos da fumonisina sobre o sistema imune.....	20
1.6. Considerações finais.....	22
1.7. Referências.....	23
CAPÍTULO 2: Avaliação do efeito de fumonisina em ração de frangos de corte na histologia de fígado e mucosa intestinal e resposta imunológica humoral à vacina contra doença de Newcastle.....	28
2.1. Sumário.....	29
2.2. Descrição do problema.....	30
2.3. Material e métodos.....	31
2.4. Resultados e discussão.....	33
2.5. Conclusões e aplicações.....	35
2.6. Referências e notas.....	35
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Fotomicrografia de fígado (400x) dos diferentes tratamentos. O tratamento 2 (B) apresenta maior intensidade de vacuolização no tecido hepático, quando comparado ao tratamento 1 (A).....	40
FIGURA 2. Fotomicrografia de bolsa cloacal (400x). O tratamento 1 (A) apresenta maior número de células em mitose, quando comparado ao tratamento 2 (B).....	42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Peso vivo de frangos de corte submetidos ou não à fumonisina.....	40
TABELA 2. Porcentagem de lesões microscópicas hepáticas de frangos de corte submetidos ou não à fumonisina em amostras processadas de cada ave, aos 17 dias de idade, de acordo com cada escore (0 = parênquima normal, 1 = lesões suaves, 2 = lesões moderadas, 3 = lesões severas).....	40
TABELA 3. Médias e Desvio Padrão da contagem de total de hemácias, de leucócitos e hematologia para cada grupo. T1= Ração controle; T2= Ração controle adicionada de 7 ppm de fumonisina.....	41
TABELA 4. Média das alturas de vilos e profundidade de criptas, mensuradas do intestino Delgado coletados de frangos de corte submetidos ou não à fumonisina, aos 17 dias de idade.....	42
TABELA 5. Médias de títulos vacinais para a enfermidade de Newcastle e de número de células em mitose da bolsa cloacal de frangos de corte submetidos ou não à fumonisina.....	42

RESUMO

As fumonisinas são metabólitos secundários de fungos do gênero *Fusarium*, que podem contaminar alimentos, incluindo os cereais, que servem tanto para alimentação humana como animal. Essas micotoxinas representam risco econômico, interferindo no perfeito desenvolvimento e saúde animal. Para humanos existe a preocupação, principalmente, com jovens e neonatos, já que estes são expostos a maiores concentrações de fumonisina, levando em consideração seu peso corporal. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência de uma dieta contaminada com fumonisina, comparada a uma dieta controle no desempenho e saúde de frangos de corte. As aves foram distribuídas em dois tratamentos: T1, aves recebendo ração controle; T2, aves recebendo adição de 7 ppm de fumonisina na ração. No grupo que recebeu adição de fumonisina na ração, as aves apresentaram menores pesos, comparadas ao grupo controle. Apresentaram também maior porcentagem de lesões hepáticas moderadas e severas, sugerindo que a micotoxina influencia na função hepática. No grupo 2, as médias de profundidades de cripta para duodeno, jejuno e íleo foram menores que no grupo 1, assim como para tamanho de vilos no íleo, podendo-se especular que a fumonisina impede o perfeito desenvolvimento do intestino dos animais, o que pode afetar a absorção de nutrientes e o desempenho das aves. Em relação à resposta imune, foi verificado que a presença de fumonisina diminuiu o número de células em mitose na bolsa cloacal e a titulação de anticorpos contra doença de Newcastle.

Palavras-chave: *Fusarium*; toxinas; imunidade.

ABSTRACT

The fumonisins are secondary metabolites of *Fusarium* molds, which can contaminate foods, including cereals, which in such a way serve for feeding human being and animals. This mycotoxin represents economic risk, adversely affecting the perfect development and animal health. For human beings the concern exists, mainly, with young children and babies, since they are exposed to bigger concentrations of fumonisin, considering body weight. The objective of the present study was to evaluate the influence of a diet contaminated with fumonisin, compared with a control diet, in the performance and health of broiler. The birds had been distributed in two treatments: T1, birds receiving control ration; T2, birds receiving addition of 7 ppm of fumonisin in the ration. In the group that received fumonisin addition in the ration, the birds presented lower weights, comparative to the control group. They had also presented bigger percentage of moderate and severe liver injuries, suggesting that the mycotoxin influences the liver function. In group 2, the averages of crypt depths for duodenum, jejunum and ileum, had been less than in group 1, as well as for size of villus in the ileum, being able itself speculating that fumonisin blocks the perfect development of animal intestine, what can affect the absorption of nutrients and the performance of the birds. In relation to the immunity, it was verified that fumonisin diminished the number of mitotic cells in cloacal bursa and the antibody titles against Newcastle disease.

Key-words: Fusarium; toxins; immunity.

INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Fusarium* é provavelmente o maior produtor de micotoxinas, e é comumente encontrado em cereais na América, Europa e Ásia. Fusariotoxinas têm sido descritas como causadoras de uma ampla variedade de efeitos tóxicos, tanto em experimentações animais quanto em animais de produção, e também se sabe que causa toxicidade em humanos e, além disso, causam grandes perdas econômicas para os produtores de cereais e processadores de alimentos. As fumonisinas são produzidas por fungos do gênero *Fusarium*.

O objetivo do nosso estudo no primeiro momento foi estudar e conhecer o que existe sobre fumonisina na bibliografia, e no segundo momento foi realizado um experimento onde foram estudados os aspectos imunológicos e patológicos desta micotoxina em aves.

O trabalho está composto por dois capítulos, sendo o primeiro uma revisão bibliográfica sobre a influência da fumonisina na imunidade, artigo para publicação na Revista Ciência Agrárias e Ambientais, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. O segundo capítulo é a apresentação de um trabalho original, para obtenção de resultados sobre o efeito da fumonisina no trato digestório e resposta imunológica de frangos de corte. A fumonisina foi adicionada experimentalmente na ração de um grupo de animais (T2), para avaliação dos efeitos e comparação com um grupo controle (T1). Este capítulo está nas normas para publicação no *The Journal of Applied Poultry Research*.

CAPÍTULO 1
INFLUÊNCIA DA FUMONISINA SOBRE A RESPOSTA
IMUNOLÓGICA – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

INFLUÊNCIA DA FUMONISINA SOBRE A RESPOSTA IMUNOLÓGICA - Revisão Bibliográfica

Fumonisin Influence in the Immune Response – Review

LUIZ RODOLFO SCAVAZZA GERTNER

RESUMO

O crescimento fúngico e a subsequente contaminação de produtos destinados à alimentação animal e humana por toxinas produzidas pelos fungos representam risco econômico, influenciando negativamente o desempenho e a saúde animal. As fumonisinas, produzidas pelos fungos *Fusarium moniliforme* e *F. proliferatum*, são uma família de micotoxinas que podem contaminar os alimentos, predominantemente os alimentos a base de milho. Em animais, as fumonisinas têm associação, principalmente, com redução no desempenho, mas elas podem causar severa imunossupressão, afetando células e órgãos do sistema imune.

Palavras-chave: Fusarium; toxinas; imunidade.

ABSTRACT

The mould growth and the subsequent contamination of products destined to food and feed for toxins produced by molds represent economic risk, adversely influencing the animal performance and health. The fumonisins, produced by *Fusarium moniliforme* and *F. proliferatum* moulds, are a family of mycotoxins that can contaminate foods, predominantly maize products. Fumonisin reduce animal performance, but they can cause severe immunosuppression, affecting cells and organs of the immune system.

Key-words: Fusarium; toxins; immunity.

1. INTRODUÇÃO

Os fungos produzem uma imensa diversidade de metabólitos secundários, como pigmentos, antibióticos e compostos tóxicos, denominados micotoxinas. Quando produzidos em associação com os alimentos, ração animal e forragens, estes metabólitos tóxicos podem ser ingeridos pelo homem e pelos animais, provocando micotoxicoses (MOSS, 1991).

O crescimento fúngico e a subsequente contaminação de alimentos animais e humanos por micotoxinas representam risco econômico e para a saúde. As micotoxinas de maior preocupação para a saúde animal e humana são produzidas por três principais gêneros de fungos (*Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*). As fumonisinas, produzidas pelo *Fusarium moniliforme* e pelo *F. proliferatum*, são uma família de micotoxinas que podem contaminar alimentos, predominantemente produtos a base de milho (TURNER, NIKIEMA e WILD, 1999).

Relatos de ocorrência natural de altos níveis de fumonisinas têm sido obtidos em milho (200 mg/kg) e induzem leucoencefalomalácia eqüina e edema pulmonar em suínos (NORRED, 1993; BAILLY et al., 1996). Em espécies aviárias as fumonisinas têm associação com desempenho reduzido, aumento no peso de órgãos e hepatite ou hiperplasia hepatocelular em frangos de corte, perus e patos (BROWN, ROTTINGHAUS e WILLIAMS, 1992; LEDOUX et al., 1992; WEIBKING et al., 1993 a,b; ESPADA et al., 1994; BERMUDEZ, LEDOUX e ROTTINGHAUS, 1995; ESPADA et al., 1997). Além disso, a influência das fumonisinas sobre o sistema imune de aves também tem sido relatada (LI et al, 1999) e este fato pode comprometer a criação industrial de aves devido a essa imunossupressão aumentar a ocorrência de outras enfermidades.

Por outro lado, existe também a preocupação que seres humanos podem ser expostos às fumonisinas pelo consumo de produtos animais contaminados, como carne, leite e ovos (TURNER, NIKIEMA e WILD, 1999).

Ainda não existe uma legislação global para regular os níveis permitidos de fumonisinas no milho e em produtos processados a partir do mesmo, porém mais de 90 países apresentam regulamentação própria ou níveis máximos para algumas toxinas (LINO, SILVA e PENA, 2004). A U. S. *Food and Drug Administration* (2001a) recomenda níveis máximos de fumonisinas de 1, 10, 30, 50 e 15 partes por milhão (ppm), na ração total de cavalos, suínos, ruminantes, aves e vacas leiteiras,

respectivamente e considerando a soma das fumonisinas B1, B2 e B3. Para seres humanos, a FDA (2001b) recomenda valores de 2 a 4 ppm considerando diferentes produtos do milho. A União Européia preconiza que o limite máximo para essa toxina seja de 4000 µg/kg (4 ppm) para milho não processado (Commission Regulation 1126/2007).

A seleção de modelos experimentais animais é crucial para relatar o risco que as fumonisinas proporcionam aos humanos. Vários autores (TURNER, NIKIEMA e WILD, 1999) destacam que, para obter informações úteis com relação aos riscos humanos deve ser utilizada grande variedade de modelos animais e *in vitro*. Nesta revisão busca-se avaliar os principais efeitos das fumonisinas observados em diversos modelos animais, principalmente no que se refere ao sistema imunológico.

2. FUNGOS

Durante muitos anos, os fungos foram considerados como vegetais, e a partir de 1969 passaram a ser classificados em um reino a parte. Os fungos apresentam um conjunto de características próprias, que permitem sua diferenciação das plantas, eles não sintetizam clorofila nem qualquer pigmento fotossintético, não tem celulose em sua parede celular, com exceção de alguns fungos aquáticos, e não armazenam amido como substância de reserva. Já a presença de substâncias quitinosas na parede da maior parte das espécies fúngicas e sua capacidade de depositar glicogênio os assemelham às células animais (GOMPertz et al., 2005a).

Os fungos são heterotróficos, nutrem-se de matéria orgânica morta (fungos saprofitos) ou viva (fungos parasitários), no caso dos cereais. Eles necessitam de substâncias orgânicas, os hidratos de carbono, já que eles próprios não são capazes de elaborar, devido à falta de clorofila, e esta é que torna possível à planta assimilar o anidrido carbônico do ar atmosférico, que facilita a síntese dos hidratos de carbono (SILVEIRA, 1995).

Os fungos são ubíquos, sendo encontrados no solo, na água, nos vegetais, em animais, no homem e em detritos em geral, participando ativamente do ciclo dos elementos da natureza. O solo é um meio ótimo e favorável à vida dos fungos, pois a grande quantidade de detritos orgânicos animais e vegetais fornece para os fungos uma fonte inesgotável de alimento (SILVEIRA, 1995). Segundo HENRICI (1930), desde a década de trinta já foram isoladas várias espécies de fungos no solo, dos quais podem

ser citados os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*, e alguns destes fungos podem atacar os vegetais, vivendo parasiticamente.

A maioria dos fungos, em condições favoráveis de temperatura e umidade, produz grandes quantidades de inóculos, o material infectivo do patógeno. Os principais inóculos dos fungos são os esporos, que tem as formas mais diversas e adaptam-se aos meios de disseminação mais variáveis, e também é a principal forma de disseminação dos fungos. Os principais veículos de disseminação dos fungos são os ventos, a água, o solo, o homem, os insetos e outros animais (SILVEIRA, 1995).

A contaminação fúngica e conseqüente produção de toxinas em cereais podem ocorrer em qualquer ponto da cadeia produtiva, como na lavoura, na colheita e no armazenamento. Atraso na colheita, ataque de insetos, e danos físicos afetam a integridade dos grãos e proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento de fungos. Não pode ser esquecida que a produção dessas substâncias pode ocorrer em rações processadas, quando armazenadas em condições precárias com excesso de umidade e altas temperaturas por grandes períodos (SANTIN, 2000).

Por diferentes processos, os fungos podem elaborar vários metabólitos, como antibióticos, dos quais a penicilina é o mais conhecido, e micotoxinas, como as aflatoxinas e fumonisinas, que lhes conferem vantagens seletivas.

3. MICOTOXINAS

Alguns microorganismos podem influenciar o crescimento fúngico, devido à competição que se estabelece no substrato de cultivo. Este antagonismo, muitas vezes, é conseqüência da elaboração de substâncias tóxicas (GOMPertz et al., 2005a), as micotoxinas.

A história das micotoxinas começa em 1960, quando um surto de mortalidade inexplicável de aves aconteceu no Reino Unido. Este surto ficou conhecido mundialmente como “Doença X dos Perus”. Após investigação científica, descobriu-se que o problema estava na ração, feita com amendoim importado da África e do Brasil. Este amendoim estava contaminado com uma substância produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, a aflatoxina. Desta ração foi obtido um extrato clorofórmico, que ao ser administrado a marrecos jovens, foi capaz de reproduzir as lesões hepáticas semelhantes à doença original (ALLCROFT, CARNAGHAN e SARGENT, 1961; ALLCROFT e CARNAGHAN, 1962).

Micotoxinas são substâncias químicas resultantes da atividade metabólica de fungos, que podem intoxicar seres humanos e animais. Elas constituem-se em um grupo de compostos tóxicos produzidos por fungos que crescem sob condições favoráveis, principalmente de temperatura e umidade, em substratos variados (GOMPERTZ et al., 2005b). Cereais e sementes oleaginosas são frequentemente afetadas por estes metabólitos secundários de fungos, durante a colheita, armazenamento e industrialização. Entre os fatores que determinam a contaminação estão a umidade no campo e armazenamento, temperatura, estiagem, práticas de colheita e infestação por insetos. Estes metabólitos tóxicos causam perdas econômicas, como contaminação de produtos agrícolas, perda de produtividade animal, custos indiretos em sistemas de controle, gastos na remoção da toxina para recuperar o produto rejeitado e não aceitação do produto pelo mercado importador, e também comprometem a saúde de seres humanos e animais. Os prejuízos são difíceis de serem calculados, já que seus efeitos são subjetivos, como perda no desempenho, falhas vacinais, associação com outras doenças, além da perda nutricional que causa aos grãos (SANTIN, 2000).

Os principais gêneros de fungos envolvidos na produção de micotoxinas são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, e dependendo dos teores ingeridos, diferentes tipos de micotoxicoses podem ser verificados, como as micotoxicoses agudas, crônicas, mutagênicas e teratogênicas. O efeito agudo mais freqüente é a deterioração das funções hepática e renal, entretanto, algumas micotoxinas agem primariamente, interferindo na síntese protéica, produzindo dermonecrose e imunodeficiência. Outras são neurotóxicas, podendo em baixas concentrações, causar tremores em animais. O efeito crônico de muitas micotoxinas é a indução de câncer, principalmente no fígado. Algumas podem interferir na replicação do DNA, e conseqüentemente, podem produzir efeitos mutagênicos e teratogênicos (GOMPERTZ et al., 2005b).

A produção de micotoxinas pelos fungos tem relação com fatores ambientais, biológicos e químicos, podendo mais de uma toxina ser encontrada em um mesmo substrato. Também se deve considerar que a presença de fungos em cereais não garante a presença de toxinas, assim como sua ausência não indica ausência de toxinas, esta podendo persistir após a eliminação do agente (SANTIN, 2000).

Desde 1960, a micotoxicologia tem sido desenvolvida e novas micotoxinas vêm sendo isoladas e caracterizadas, especialmente as produzidas pelo gênero *Fusarium*, dentre as quais se destacam as fumonisinas, consideradas de ocorrência e importância mundial.

4. FUMONISINAS

As espécies do gênero *Fusarium* são citadas por MILLS (1989) como as principais invasoras de grãos de milho no campo, e afirma também que podem ser encontradas no armazenamento, quando em condições de temperatura e umidade adequadas.

As fumonisinas são moléculas estruturalmente relacionadas, e até o momento, dezesseis foram isoladas e caracterizadas: Fumonisina B1 (FB1), FB2, FB3, FB4, A1, A2, A3, AK1, C1, C2, C3, C4, P1, P2, P3, PH1a e PH1b (MUSSEER e PLATTNER, 1997; AH SEO e WON LEE, 1999).

A fumonisina B₁ é o principal metabólito produzido pelos fungos *Fusarium moniliforme* e *F. proliferatum*, os quais são achados como contaminantes difundidos no milho (GELDERBLOM et al., 1992). Ela é sempre o metabólito mais abundante e o mais tóxico deste grupo de micotoxinas, representando 70% da concentração total em rações e alimentos naturalmente contaminados, seguido pelas fumonisinas B2 e B3 (MURPHY, RICE e ROSS, 1993; NORRED, 1993; THIEL, SHEPARD e SYDENHAM, 1991).

A primeira ocorrência natural de fumonisina foi descrita por SYDENHAM, GELDERBLOM e THIEL (1991), a partir de amostras de milho mofado colhidas em uma área em Transkei, sul da África, que apresentava alta incidência de câncer de esôfago em seres humanos. Os níveis detectados nas amostras variavam de 44 µg/g a 83 µg/g. Altos níveis de contaminação (117 µg/g) também foram encontrados por THIEL, MARASAS e SYDENHAM (1992) em milho proveniente de algumas regiões da África com histórico da doença.

4.1. MEMBRANAS CELULARES

Os lipídeos, quando classificados de acordo com sua natureza química, podem pertencer a dois grupos. Um grupo consiste de compostos de cadeia aberta com cabeças polares e longas caudas apolares e inclui os ácidos graxos, os triacilgliceróis, os esfingolipídeos, os fosfoacilgliceróis e os glicolipídeos. O segundo grupo consiste de compostos de cadeia cíclica, os esteróides (CAMPBELL, 2000).

Os esfingolipídeos não contêm glicerol, como outros lipídeos, mas sim um álcool aminado de cadeia longa, a esfingosina, da qual essa classe de compostos tira seu nome. Constituem uma segunda classe de lipídeos anfipáticos, presentes em membranas de vegetais e de animais. Eles servem como importantes componentes estruturais de

todas as membranas biológicas (HORTON et al., 1996) e são encontrados em plantas e animais, sendo particularmente abundantes no sistema nervoso (CAMPBELL, 2000; HORTON et al., 1996; SANTIN, 2000).

O esqueleto estrutural dos esfingolipídeos é a esfingosina, e as moléculas mais simples dos esfingolipídeos são as ceramidas, que consistem de um ácido graxo ligado ao grupamento amino da esfingosina por uma ligação amida. As ceramidas são precursores metabólicos de todos os esfingolipídeos (CAMPBELL, 2000; HORTON et al., 1996). As três famílias principais de esfingolipídeos são esfingomielinas, cerebrosídeos e gangliosídeos. Destes, somente as esfingomielinas contêm fosfato, e por isso, são classificados como fosfolipídeos. Os cerebrosídeos e gangliosídeos contêm glicídeos, e por isso são classificados como glicolipídeos. As esfingomielinas estão presentes nas membranas citoplasmáticas da maioria das células de mamíferos, e é o principal componente de bainha de mielina que envolve determinadas células nervosas (HORTON et al., 1996; VOET, VOET e PRATT, 2000). Os cerebrosídeos são abundantes no tecido nervoso e correspondem, aproximadamente, a 15% dos lipídeos das bainhas mielínicas, e os gangliosídeos proporcionam às células, marcadores de superfície distintos, que servem no reconhecimento celular e na comunicação célula a célula (como por exemplo, os antígenos dos grupos sanguíneos são gangliosídeos), e também fazem parte da lâmina externa da membrana citoplasmática (HORTON et al., 1996).

Os esfingolipídeos são uma fonte de lipídeos menores que possuem uma atividade sinalizadora discreta. A esfingomielina, bem como as porções ceramida dos esfingolipídeos mais complexos, parece modular especificamente as atividades de proteínas-fosfatases (enzimas que removem grupos fosfato das proteínas) que estão envolvidas na regulação do crescimento e na diferenciação celular (VOET, VOET e PRATT, 2000).

4.2. MECANISMO DE AÇÃO DAS FUMONISINAS

O mecanismo de ação das fumonisinas ainda não está bem descrito, mas muitos modos bioquímicos de ação têm sido propostos para explicar as doenças animais induzidas por estas micotoxinas, como a inibição da biossíntese dos esfingolipídeos (NORRED, 1993), que são importantes para integridade e atividade fisiológica celular sendo encontrados em grandes quantidades no cérebro e tecido nervoso de mamíferos e aves (SANTIN, 2000). WANG, NORRED e BACON (1991) também propuseram que a

fumonisina poderia intervir na biossíntese de esfingolipídeos, porque existe uma similaridade da molécula de fumonisina com o complexo amino álcool esfingosina. A inibição da biossíntese dos esfingolipídeos pode ter profundo efeito sobre a célula, uma vez que esses componentes têm papel importante na estrutura da membrana, comunicação celular, regulação de fatores de crescimento, incluindo fator de necrose tumoral, interleucina-1 e fator de crescimento neural (MERRILL, VAN ECHTEN e WANG, 1993). WANG, NORRED e BACON (1991), testando a hipótese de que a fumonisina age alterando a biossíntese de esfingolipídeos, examinaram os efeitos da fumonisina B1 sobre a habilidade de hepatócitos de ratos converterem serina aos esfingolipídeos, e mostraram que a fumonisina inibiu a síntese “de novo” de esfingolipídeos. Recentemente, danos oxidativos que ocorrem nas células e DNA também foram descritos relacionados às fumonisinas (ABEL e GELDERBLUM 1998; SAHU et al., 1998; YIN et al., 1998).

A alteração no metabolismo dos esfingolipídeos pode ser monitorada, já que a esfinganina acumulada na célula pode ser detectada no sangue periférico. Alguns autores (WANG, ROSS e WILSON, 1992) alimentaram equídeos com dietas contendo 44 mg/g de fumonisina B1 durante dez dias e observaram, no vigésimo dia do experimento, elevação do nível de esfinganina em 2,7 vezes. As elevações das enzimas ocorreram após dez dias, indicando que os níveis de esfinganina e esfingosina podem ser utilizados como marcadores de exposição às fumonisinas.

5. EFEITOS DA FUMONISINA SOBRE O SISTEMA IMUNE

As fumonisinas podem atuar como agentes imunossupressores e podem aumentar a susceptibilidade às doenças (BEREK et al., 2001). Tanto a imunidade inata como a adquirida pode ser afetada pelas micotoxinas. Um local que pode ilustrar muito bem isso é o efeito das micotoxinas sobre o epitélio intestinal, já que essa mucosa é considerada uma barreira física contra patógenos possuindo ao mesmo tempo componentes da imunidade inata quanto específica como é o caso da presença de linfócitos e Imunoglobulina A. Na realidade, logo na ingestão de um alimento contaminado, as células da mucosa intestinal podem ficar expostas a grandes concentrações de toxinas (PRELUSKY et al., 1996). Como é descrito por BOUHET e OSWALD (2005), a função de barreira física realizada pelo epitélio intestinal é conseguido através da resistência elétrica trans-epitelial (TEER) que existe na monocamada celular. Algumas toxinas são capazes de diminuir essa TEER em células

do intestino. BOUHET et al., (2004) descreveram que as fumonisinas alteram a resistência trans-epitelial nas células do intestino de suínos. De acordo com aqueles autores essa pode ser uma explicação dos processos de lesão, descamação e ulceração observada em animais expostos a ingestão de micotoxinas.

Vários investigadores procuraram explicar qual o mecanismo pelas quais as micotoxinas poderiam afetar essa TEER na mucosa intestinal. MCLAUGHLIN et al. (2004) explicam ser devido à diminuição na quantidade de proteínas que estão nas junções celulares. Já para LEUNG et al. (2003), a diminuição na biossíntese de esfingolípídios que é causada pelas fumonisinas pode alterar a regulação elétrica das células epiteliais.

Fumonisininas são descritas como bloqueadora das fases mitóticas do ciclo das células epiteliais diminuindo sua proliferação em suínos (BOUHET et al., 2004). Ainda no que se refere à imunidade inata da mucosa intestinal, sabe-se que a produção de muco a partir das células caliciformes tem importante função como lubrificação e barreira protetora deste epitélio. Sabe-se que quando a mucosa intestinal sofre desafios ocorre incremento no número destas células no intestino com aumento na produção de muco. Entretanto, o estudo de literatura demonstra que fumonisina induz hiperplasia de células epiteliais da mucosa intestinal de frangos de corte (BROWN, ROTTINGHAUS e WILLIAMS, 1992), e mais estudos neste aspecto são necessários para verificar sua influência sobre a proliferação de células caliciformes e a produção de muco.

Outro aspecto afetado pelas micotoxinas é a produção de citocinas pelas células intestinais que desempenham papel fundamental no recrutamento de células inflamatórias para defesa desta mucosa. OSWALD et al. (2003) descreveram que leitões alimentados com baixos níveis de fumonisina diminuíram a expressão de Interleucina-8 (IL-8) no íleo sugerindo que este fato pode ter grande influência na maior susceptibilidade à *E. coli* observada nestes animais quando comparado ao grupo controle. Estes autores sugerem que o menor recrutamento de células inflamatórias ocasionado pela diminuição na expressão de IL-8 se associa a ação desta toxina na redução de proliferação celular e integridade da mucosa do intestino aumentando a susceptibilidade dos animais à colonização bacteriana.

A interferência das micotoxinas na defesa das mucosas também foi descrita sobre a funcionalidade de macrófagos alveolares em suínos. LIU et al. (2002) demonstraram que tanto fumonisina B1 quanto aflatoxina apresentam citotoxicidade dose e tempo dependente para macrófagos alveolares de suínos, porém a partir de

alterações distintas uma vez que são metabólitos totalmente diferentes. Fumonisina B1 inibe a esfingosina e esfingosina N-acetiltransferase que são fundamentais para a rota “de novo” de síntese de esfingolipídios, e este é descrito como um evento inicial da citotoxicidade da fumonisina em células. Alguns estudos demonstram que a toxicidade da fumonisina para macrófagos de aves (QURESHI e HANGLER, 1992) é maior que a observada em suínos (LIU et al., 2002) sugerindo uma diferença entre as espécies animais quanto à sensibilidade a esta micotoxina.

A influência destes metabólitos tóxicos de fungos na imunidade das mucosas pode afetar muito o desempenho animal, já que a indução desta imunidade é muito importante para conferir proteção contra diversos patógenos que tipicamente invadem essas superfícies. Em adição, existe aparentemente uma inter-relação entre as distintas mucosas do organismo, o que permite que a estimulação de uma superfície mucosa potencialmente induza proteção específica em outras mucosas (STREATFIELD, 2006). Como a administração de vacinas via oral também é uma rota bastante prática e econômica de imunização dos animais, quando ocorre a interferência de micotoxinas nesta resposta imune, o resultado da vacinação pode ser afetado.

Estudos em ratos também mostraram que o efeito da fumonisina sobre a resposta à imunização com CVSO (células vermelhas do sangue de ovinos), depende do momento da administração da toxina, sendo seu efeito evidente somente se a imunização ocorrer concomitantemente com a vacinação (TRYPHONAS et al., 1997).

Na verdade todas essas alterações descritas na literatura comprovam que as fumonisinas alteram a resposta imune dos animais, podendo interferir com a resposta vacinal, tornando os animais susceptíveis a infecções inespecíficas ou mesmo para aquelas as quais esses animais tenham sido vacinados.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pecuária brasileira está em crescente expansão no mercado mundial e a cada momento tem que se adequar às exigências do mercado. Para manter seu *status*, estudos são focados na nutrição animal, visando um menor custo de produção com maior eficiência. O decréscimo do uso de aditivos antimicrobianos nas rações tem exigido maiores estudos em relação às particularidades imunológicas. Dessa maneira, tem-se estimulado a busca pela prevenção de possíveis agressões ao sistema imune dos animais, sempre na busca pela otimização de seu desempenho e produção.

As fumonisinas são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium* e detectadas em grãos de milho no Brasil e no mundo. Considerando que esse cereal é matéria-prima básica na formulação de rações destinadas a animais, é de suma importância o estudo da fumonisina na cadeia de produção animal, para garantir que com o controle dessa micotoxina, o país terá condições de manter a produção em alta escala.

7. REFERÊNCIAS

ABEL, S., GELDERBLUM, W.C. Oxidative damage and fumonisin B1-induced toxicity in primary rat hepatocytes and rat liver in vivo. *Toxicology*. v.131, p.121-131, 1998.

AH SEO, J., WON LEE, Y. Natural occurrence of the C series of fumonisins in moldy corn. *Appl. Environm. Microbiol.* v.65, p.1331-1334, 1999.

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

ALLCROFT, P., CARNAGHAN, R.B.A. Groundnut toxicity *Aspergillus flavus* toxin (aflatoxina) in animal products. Preliminary Communication. *Vet. Rec.*, v.74, p.863-864, 1962.

BAILLY, J.D., RAYMOND, I., LE BARS, P., GUYOMARD, Y., ABADIE, J., LE BARS, J., GUERRE, P., DELVERDIER, M., BURGAT, V. Leucoencephalomalacie des équidés: cas rapportés au CNITV. *Rev. Med. Vet.* v.147, p.787-796, 1996.

BEREK, L., PETRI, I.B., MESTERHAZY, A., TEREN, J., MOLNAR, J. Effects of mycotoxins on human immune functions *in vitro*. *Toxicol. In Vitro*, v.15, p.25-30, 2001.

BERMUDEZ, A.J., LEDOUX, D.R., ROTTINGHAUS, G.E. Effects of *Fusarium moniliforme* culture material containing known levels of fumonisin B1 in ducklings. *Avian Dis.* v.39, p.879-886, 1995.

BOUHET, S., HOURCADE, E., LOISEAU, N., FIKRY, A., MARTINEZ, S., ROSELI, M., GALTIER, P., MENGHERI, E., OSWALD, I.P. The mycotoxin fumonisin B1 alters the proliferation and the barrier function of porcine intestinal cells. *Toxicol. Sci.* v.77, p.165-171, 2004

BOUHET, S., OSWALD, I.P. The effects of mycotoxins, fungal food contaminants, on the intestinal epithelial cell-derived innate immune response. *Veterinary Imm. And Immunopath.* v.108, p.199-209, 2005.

BROWN, T.P., ROTTINGHAUS, G.E., WILLIAMS, M.E. Fumonisin mycotoxicosis in broilers: performance and pathology. *Avian Dis.* v.36, p.450-454, 1992.

CAMPBELL, M.K. Bioquímica. Artmed Editora, Porto Alegre – RS, 3 ed., 2000.

COMMISSION REGULATION (EC) 1126/2007 of 28 september 2007 settings maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards Fusarium toxins in maize and maize products. Official Journal of EU, L255, 14-17.

ESPADA, Y., RUIZ DE GOPEGUI, R., CUADRADAS, C., CABANES, F.J. Fumonisin mycotoxicosis in broilers. Weights and serum chemistry modifications. Avian Dis. v.38, p.454– 460, 1994.

ESPADA, Y., RUIZ DE GOPEGUI, R., CUADRADAS, C., CABANES, F.J. Fumonisin mycotoxicosis in broilers: plasma proteins and coagulation modifications. Avian Dis. v.41, p.73–79, 1997.

GELDERBLOM, W.C., MARASAS, W.F., VLEGGAR, R., THIEL, P.G., CAWOOD, M.E. Fumonisins: isolation, chemical characterization and biological effects. Mycopathology. v.117, p.11–16, 1992.

GOMPERTZ, O.F., GAMBALE, W., PAULA, C.R., CORRÊA, BENEDITO. Biologia dos Fungos. Em: TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F. Microbiologia. São Paulo – SP, p.451-459, 2005.

GOMPERTZ, O.F., GAMBALE, W., PAULA, C.R., CORRÊA, BENEDITO. Fungos Tóxicos. Em: TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F. Microbiologia. São Paulo – SP, p.505-506, 2005.

HENRICI, A.T. Molds, Easts and Actinomycetes. John Wiley and Sons, New York, 1930.

HORTON, H.R., MORAN, L.A., OCHS, R.S., RAWN, J.D., SCRIMGEOUR, K.G. Fundamentos de Bioquímica. Editora Prentice-Hall do Brasil Ltda, Rio de Janeiro – RJ, 1996.

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

LEUNG, L.W., CONTRERAS, R.G., FLORES-MALDONADO, C., CERREJIDO, M., RODRIGUEZ-BOULAN, E. Inhibitors of glycosphingolipid biosynthesis reduce transpithelial electrical resistance in MDCK I and FRT cells. Am. J. Physiol.Cell.Physiol. v.284, p.1021-1030, 2003.

LI, Y.C., LEDOUX, D.R., BERMUDEZ, A.J., FRITSCHKE, K.L., ROTTINGHAUS, G.E. Effects of fumonisin B1 on selected immune responses in broiler chicks. Poult. Sci. v.78, n.9, p.1275-1282, 1999.

LINO, C.M., SILVA, L.J.G., PENA, A.S. Fumonisinas: presença em alimentos, implicações na saúde e aspectos legislativos. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias. v.99, p.181-192, 2004.

LIU, B.H., YU, F.Y., CHAN, M.H., YANG, Y.L. The effects of mycotoxins, fumonisin B1 and aflatoxin B1, on primary swine alveolar macrophages. *Toxicology and App. Pharmacology*. v.180 p.197-204, 2002.

MCLAUGHLIN, J., PADFIELD, P.J., BURT, J.P., O'NEILL, C.A. Ochratoxin A increases permeability through tight junctions by removal of specific claudin isoforms. *Am.J.Physiol.Cell.Physiol*. v.287, p.1412-1417, 2004.

MERRILL, A.H., VAN ECHTEN, G., WANG, E. Fumonisin B1 inhibits sphingosine (sphinganine) N-acyltransferase and "de novo" sphingolipid biosynthesis in cultured neuron *in situ*. *J. Biol. Chem.*, v.268, p.2299-2306, 1993.

MILLS, J.T. Ecology of mycotoxigenic *Fusarium* species on cereal seeds. *J. Food. Prot.*, v.52, p.737-742, 1989.

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

MURPHY, P.A., RICE, L.G., ROSS, P.F. Fumonisin B1, B2 and B3 content of Iowa, Wisconsin, and Illinois corn and corn screenings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.41, p.263–266, 1993.

MUSSER, S.M., PLATTNER, R.D. Fumonisin composition in culture of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium nygamae*. *J. Agri. Food. Chem.*, v.45, p.1169-1173, 1997.

NORRED, W.P. Fumonisin: mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Toxicol. Environ. Health*. v.38, p.309–328, 1993.

OSWALD, I.P., DESAUTELS, C., LAFFITTE, J., FOURNOUT, S., PERES, S.Y., ODIN, M., LE BARS, P., LE BARS, J., FAIRBROTHER, J.M. Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl. Environ. Microbiol*. v.69, p.5870-5874, 2003.

PRELUSKY, D.B. TRENHOLM, H.L., ROTTER, B.A., MILLER, J.D., SAVARD, M.E., YEUNG, J.M., SCOTT, P.M. Biological fate on fumonisin B1 in food-producing animals. *Adv. Exp.Med.Biol*. v.392, p.265-278, 1996.

QURESHI, M.A., HANGLER Jr, W.M. Effect of fumonisin B₁ on chicken macrophage functions *in vitro*. *Poultry Science*. v.71, 102-104, 1992.

SAHU, S.C., EPPLEY, R.M., PAGE, S.W., GRAY, G.C., BARTON, C.N., O'DONNELL, M.W. Peroxidation of membrane lipids and oxidative DNA damage by fumonisin B1 in isolated rat liver nuclei. *Cancer Lett*. v.125, p.117–121, 1998.

SANTIN, E. Micotoxicoses. In: BERCHIERI Jr, A., MACARI, M. Doenças das Aves. Campinas, p.379-388, 2000.

SILVEIRA, V.D. Micologia. Âmbito Cultural Edições, Rio de Janeiro – RJ, 5 ed., 1995.

STREATFIELD, S.J. Mucosal immunization using recombinant plant-based oral vaccine. *Methods*. v.38, p.150-157, 2006.

SYDENHAM, E.W., GELDERBLUM, W.C.A., THIEL, P.G. Evidence for the natural occurrence of fumonisin B1, a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme* in corn. *J. Agri. Food Chem.*, v.39, p.2014-2018, 1991.

THIEL, P.G., SHEPARD, G.S., SYDENHAM, E.W. Levels of fumonisins B1 and B2 in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. *J. Agri. Food Chem.*, v.39, p.109-111, 1991.

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

TRYPHONAS, H., BONDY, G., MILLER, J.D., LACROIX, F., HODGEN, M., MEGUIRE, P., FERNIE, S., MILLER, D., HAYWARD, S. Effects of fumonisin B1 on the immune system of Sprague-Dawley rats following a 14-day oral (gavage) exposure. *Fundamental and Applied Toxicology*. v.39, p.53-59, 1997.

TURNER, P.C., NIKIEMA, P., WILD, C.P. Fumonisin contamination of food: progress in development of biomarkers to better assess human health risks. In: *Mutation Research*. v.44, p.81-93, 1999.

U.S. Food and Drug Administration. Background Paper in Support of Fumonisin Levels in Animal Feed: Executive Summary of this Scientific Support Document, 2001. Disponível em <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fumongb4.html>>. Acesso em junho de 2008a.

U.S. Food and Drug Administration. Background Paper in Support of Fumonisin Levels in Corn and Corn Products Intended for Human Consumption, 2001. Disponível em <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fumongb.html>>. Acesso em junho de 2008b.

VOET, D., VOET, J.G., PRATT, C.W. *Fundamentos de Bioquímica*. Artmed Editora, Porto Alegre – RS, 2000.

WANG, E., NORRED, W.P., BACON, C.W. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *J. Biol.Chem.*, v.266, p.1486-1490, 1991.

WANG, E., ROSS, F.P., WILSON, T.M. Increases in serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies, given, feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *Nutrit. Pharmacol. Toxicol.*, v.122, p.1706-1716, 1992.

WEIBKING, T.S., LEDOUX, D.R., BERMUDEZ, A.J., TURK, J.R., ROTTINGHAUS, G.E., WANG, E., MERRILL Jr., A.H. Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisin B1, on the young broiler chick. *Poult. Sci.* v.72, p.456-466, 1993a.

WEIBKING, T.S., LEDOUX, D.R., BROWN, T.P., ROTTINGHAUS, G.E. Fumonisin toxicity in turkey poults. *J. Vet. Diagn. Invest.* v.5, p.75–83, 1993b.

YIN, J.J., SMITH, M.J., EPPLEY, R.M., PAGE, S.W., SPHON, J.A. Effects of fumonisin B1 on lipid peroxidation in membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* v.1371, p.134–142, 1998.

CAPÍTULO 2

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE FUMONISINA EM RAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE NA HISTOLOGIA DE FÍGADO E MUCOSA
INTESTINAL HUMORAL À VACINA CONTRA DOENÇA DE
NEWCASTLE**

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE FUMONISINA EM RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE NA HISTOLOGIA DE FÍGADO E MUCOSA INTESTINAL E RESPOSTA IMUNOLÓGICA HUMORAL À VACINA CONTRA DOENÇA DE NEWCASTLE

LUIZ RODOLFO SCAVAZZA GERTNER

Palavras – chave: Fusarium, toxinas, fumonisinas, micotoxinas, imunidade

1. SUMÁRIO

O crescimento fúngico e a subsequente contaminação de produtos destinados à alimentação por toxinas produzidas pelos fungos são assunto de preocupação, devido à interferência que causam no sistema imune. Micotoxinas na dieta também podem ser um fator adverso para aumentar reações vacinais, e afetar a eficiência de vacinas, importantes para o desenvolvimento animal. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência de uma dieta contaminada com fumonisina, comparada a uma dieta controle no desempenho e saúde de frangos de corte. As aves foram distribuídas em dois tratamentos: T1, aves recendo ração controle; T2, aves recebendo adição de 7 ppm de fumonisina na ração. Neste experimento foi possível demonstrar diferença significativa ($P \leq 0,05$) no peso dos animais, sendo que no grupo controle os animais eram mais pesados que animais do grupo submetido à fumonisina ao longo do experimento. No grupo alimentado com fumonisina, foi observada maior porcentagem de indivíduos apresentando lesões hepáticas moderadas e severas quando comparada ao grupo de aves controle. Também foi demonstrado que o grupo alimentado com fumonisina apresentou menor profundidade de cripta ($P \leq 0,05$) no duodeno, jejuno e íleo, e tamanho dos vilos ($P \leq 0,05$) no íleo. O número de células em mitose na bolsa cloacal foi significativamente menor ($P \leq 0,05$) no grupo que recebeu a toxina, e o título de anticorpos contra a doença de Newcastle também foi menor, comparados ao grupo controle.

2. DESCRIÇÃO DO PROBLEMA

O impacto das toxinas dos fungos, as micotoxinas, na saúde e produção animal tem sido descrita por vários autores [1, 2, 3, 4]. Estas micotoxinas afetam principalmente o trato digestório e funções hepáticas, e podem reduzir o metabolismo animal, afetando as respostas do sistema imunológico contra muitos agentes patogênicos [3, 4, 5].

O efeito de algumas micotoxinas na resposta imune contra vírus vacinais tem sido descrito na literatura [3, 4], mas poucos estudos têm demonstrado o efeito das fumonisinas em vacinações contra a Doença de Newcastle. As fumonisinas produzidas pelo *Fusarium moniliforme* e pelo *F. proliferatum* são uma família de micotoxinas que contaminam alimentos, predominantemente a base de milho, ao redor do mundo [6], e podem atuar como agentes imunossupressores em animais, aumentando a susceptibilidade a doenças [7].

Estas toxinas são descritas como extremamente tóxicas para várias espécies animais [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14], causando alterações no metabolismo dos esfingolipídeos, e com isso contribuindo na morte celular e citoletalidade [15, 16, 17]. Rumora et al. [18], Gelderblom [19] e Mexía-Salazar [20], encontraram lesões hepáticas em animais, relacionadas à fumonisina, e Bouhet et al. [21] também mostraram efeitos tóxicos da toxina sobre células do epitélio intestinal de animais. Além disso, Oswald et al. [22] observaram aumento da colonização intestinal por cepas de *E. coli* patogênica e aumento na translocação bacteriana para outros órgãos, após administração oral de fumonisina em leitões.

A União Européia preconiza que o limite máximo para essa toxina seja de 4000 µg/kg (4 ppm) para milho não processado [23], porém alguns autores citam terem encontrado contaminações que excedem o limite permitido [24, 25].

Considerando estes aspectos, muitas pesquisas vêm sendo realizadas para avaliar algumas alternativas para reduzir o impacto da fumonisina na saúde e desempenho animal, e compreender melhor a ação desta micotoxina em animais.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da fumonisina, na resposta imunológica da vacina contra a Doença de Newcastle em frangos de corte, além de avaliar parâmetros hematológicos, histológicos e anticorpos vacinais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 100 frangos de corte, Ross 308®, distribuídos em um desenho experimental inteiramente casualizado com dois tratamentos e 50 repetições, sendo cada ave uma repetição, onde T1= ração controle, T2= ração com adição de 7 ppm de fumonisina. As aves receberam uma anilha de identificação na membrana da asa e foram alojadas de 1 a 21 dias de vida em baterias verticais experimentais, submetidas a alimento e água *ad libitum*. Os animais foram mantidos em temperatura de conforto térmico, de acordo com sua fase de vida (1 a 7d, 28 a 33°C; 8 a 14d, 24 a 28°C; 15 a 21d, 22 a 25°), e a manejo de acordo com o manual da linhagem [26]. As dietas dos animais foram formuladas de acordo com o NRC [27]. No grupo T2 uma cultura de fumonisina, foi misturada à dieta de acordo com os níveis definidos. As rações, de cada tratamento, foram analisadas para fumonisina, deoxinivalenol (DON), aflatoxina, T2 e zearalenona através de kit ELISA [28]. Foram detectados níveis de 0,97 ppm de fumonisina, 4,82 ppm de DON, 1,10 ppb de aflatoxina, 2,3 ppb de T2 e 123 ppb de zearalenona na ração do grupo controle e 7,26 ppm de fumonisina, 4,75 ppm de DON, 0,38 ppb de aflatoxina, 3,27 ppb de T2 e 180,3 ppb de zearalenona para ração do grupo T2.

No primeiro dia de vida as aves receberam vacina para coccidiose via oral [29], com 1 mL de uma solução contendo um total de 2.300 oocistos/mL de *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. mitis* e *E. tenella*, através de uma seringa acoplada em uma sonda diretamente no esôfago das aves. Aos 7 dias de vida, cada ave recebeu 0,03 mL de vacina para Doença de Newcastle [30] através de gota ocular, contendo dose infectante média (DIE_{50}) de $10^{5,5}$.

Semanalmente as aves foram pesadas individualmente, e foram realizados exames coproparasitológicos de um *pool* de fezes de cada tratamento. Nos 14° e 21° dias de vida das aves foi realizada colheita de sangue, através de punção da veia jugular direita, onde 2 mL de cada amostra de sangue foram imediatamente passados para um tubo de ensaio contendo anticoagulante para análises hematológicas, e 1 mL em outro tubo sem anticoagulante para realização de exames bioquímicos e avaliação sorológica de títulos vacinais para doença de Newcastle, através de kits ELISA [31].

O sangue heparinizado, após a colheita, foi refrigerado imediatamente e analisado dentro de 24 horas. Primeiramente, uma gota de sangue sem aditivo foi utilizada no ato da coleta para o preparo de lâmina com extensão sanguínea para contagem diferencial de leucócitos, sendo seca ao ar, identificada com caneta indelével

e guardada para posterior coloração pelo método de Wright. Na análise dos parâmetros hematológicos, a contagem dos eritrócitos e leucócitos totais foi realizada em câmara de Neubauer com solução de Azul de Cresil Brilhante, e o diferencial dos leucócitos (heterófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos) em esfregaço sanguíneo, corados com Wright. O soro foi separado por centrifugação e mantido em refrigeração até as análises bioquímicas. Foram determinados níveis de proteínas (método biureto), albumina (método verde de bromo cresol), ácido úrico (método uricase/peroxidase), uréia (método GLDH) e as enzimas aspartato amino transferase - AST (método cinético-UV), gama glutamil transferase - GGT (método cinético-UV) e creatina quinase - CK (método UV otimizado).

Aos 7, 17 e 21 dias de vida das aves, cinco aves de cada tratamento foram sacrificadas por deslocamento cervical, e necropsiadas para avaliação. Foram analisados escores de lesões para coccidiose no trato digestório, considerando: SA sem lesão; +1 lesão leve; +2 lesão moderada; +3 lesão severa, segundo o sistema de lesões intestinais macroscópicas de Johnson e Reid [32]. Foram também realizadas colheitas de amostras de intestino, fígado, timo, baço e bolsa cloacal para avaliação histopatológica. Para as amostras de intestino, foram realizadas análises morfométricas de tamanho de vilos e profundidade de cripta de cada segmento de acordo com metodologia de Maiorka et al. [33]. Foram realizadas também análises de alterações hepáticas e contagem de números de células em mitose na bolsa cloacal de acordo com Santin et al. [34] através de um sistema analítico de imagens [35]. As lesões encontradas no fígado foram classificadas em: escore 0= parênquima normal; escore 1= vacuolização celular leve; escore 2= vacuolização celular moderada; escore 3= vacuolização celular severa. Também influenciaram nos escores a proliferação de ductos biliares e presença de núcleos picnóticos.

Para análises de títulos de anticorpos vacinais das amostras de soro contra doença de Newcastle foram utilizados Kit Elisa [31]. Os resultados de absorvância foram transformados em Log 10 para serem submetidos à análise estatística.

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias que foram diferentes neste teste também foram submetidas ao teste de Tukey ($P \leq 0,05$), através do programa Statistix for Windows Copyright © 1996 Analytical Software [36].

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre o peso das aves do grupo controle e o grupo que recebeu fumonisina na ração (Tabela 1).

No presente estudo, onde fumonisina foi consumida por um período de 21 dias por um grupo de aves, também foi observada maior porcentagem de aves apresentando lesões hepáticas moderadas e severas quando comparada a um grupo de aves alimentadas com ração controle sem adição de fumonisina (Tabela 2) (Figura 1). Em outros estudos [18, 19, 20] também foram observadas lesões hepáticas devido às fumonisininas em ratos e camarão branco. Neste estudo, o grupo de aves controle também apresentou lesões leves e moderadas no fígado, mas não apresentou lesões severas, o que pode ser explicado pela pequena presença de outras micotoxinas na ração do grupo controle. Este fato pode de certa maneira explicar porque não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de aves no que se refere aos níveis séricos de AST e GGT (Tabela 3), duas enzimas consideradas importantes para caracterizar lesões de fígado. O grupo alimentado com fumonisina apresentou, ainda, significativamente ($P \leq 0,05$) maior número de hemácias que o grupo controle, mas os dois grupos de aves não diferiram quanto aos outros parâmetros de hemograma, leucograma e análises bioquímicas séricas realizadas (Tabela 3).

Neste experimento também foi demonstrado que aves do grupo submetido à fumonisina apresentaram menor profundidade de cripta ($P \leq 0,05$) no duodeno, jejuno e íleo e tamanho dos vilos ($P \leq 0,05$) no íleo que as aves do grupo controle (Tabela 4). Estudo realizado por Bouhet et al [21] demonstraram que fumonisina tem efeito tóxico sobre células diferenciadas e não diferenciadas do epitélio intestinal, o que diminui o crescimento e proliferação de células epiteliais bloqueando-as na fase G0/G1 do ciclo celular. Pode-se especular com isso que a fumonisina impede o perfeito desenvolvimento do intestino dos animais, o que pode afetar a absorção de nutrientes e o desempenho. O epitélio intestinal funciona como barreira protetora contra produtos químicos e patógenos. A perda da função da barreira intestinal pode ter como consequência a translocação de patógenos bacterianos pelo intestino. Oswald et al. [22] observaram aumento da colonização intestinal por cepas de *E. coli* patogênica e aumento na translocação bacteriana para outros órgãos. Desta forma, esse efeito também pode aumentar a probabilidade de lesões intestinais provocado por microorganismos secundários.

Em adição, estudos demonstram que as fumonisinas também diminuem a resposta imune dos animais [37, 38, 39]. No presente estudo foi verificado que a presença de fumonisina na dieta das aves diminuiu significativamente ($P \leq 0,05$) o número de células em mitose na bolsa cloacal (Figura 2), e mostrou diminuição no título de anticorpos humorais contra a doença de Newcastle quando comparado ao grupo controle (Tabela 5), demonstrando alguma interferência destas micotoxinas no sistema imune dos animais, que pode ser muito importante para o desempenho dos animais em campo, quando estes expõem-se a diversos desafios infecciosos.

Fungos do gênero *Fusarium*, produtores das fumonisinas, afetam cereais no mundo todo e frequentemente são relatados em grãos recém colhidos e também nos armazenados [40, 41]. Mills [42] também cita que as espécies do gênero *Fusarium* podem ser encontradas no campo e na armazenagem, em condições adequadas de temperatura e umidade, e afirma também que são as principais invasoras de grãos de milho. Talvez esse seja o motivo pelo qual a incidência de fumonisinas tenha sido tão frequentemente demonstrada em vários estudos [42, 43, 44, 45, 46, 6].

A União Européia preconiza que o limite máximo para essa toxina seja de 4000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (4 ppm) para milho não processado [23], porém Manova e Mladenova [24] citam terem encontrado 94,7% das amostras contaminadas com fumonisina, encontrando contaminações de até 4050 $\mu\text{g}/\text{kg}$, excedendo o limite máximo permitido. Vrabcheva et al. [25] também mostram em seu trabalho, contaminação por fumonisina de até 6,56 mg/kg em amostras de produtos a base de milho.

Os mecanismos de toxicidade das fumonisinas são complexos, e pode envolver diversos sítios moleculares. O efeito bioquímico primário é inibir enzimas, levando ao acúmulo de bases esfingóides e depleção de esfingolipídeos [47]. Alterações no metabolismo dos esfingolipídeos contribuem na morte celular e citoletalidade por fumonisinas [15, 16, 17].

Apesar das fumonisinas serem descritas como extremamente tóxicas para cavalos, ratos, coelhos, cordeiros e suínos [8, 9, 10, 11, 13, 14], bovinos e aves são considerados por alguns autores, como espécies menos sensíveis às fumonisinas [12], sendo que o Centro para Alimentos Seguros e Nutrição, dos Estados Unidos, propõe que para frangos de corte a ingestão de fumonisina por produtos a base de milho, pode ser extremamente mais alta que em outras espécies animais [48]. Outros autores afirmam, ainda, que a absorção da fumonisina no trato digestório das aves é pobre [49, 50]. Entretanto, aqueles estudos de absorção foram conduzidos com uma única exposição

aguda das aves as fumonisinas. Do ponto de vista prático, e considerando que a fumonisina diminui a permeabilidade da membrana epitelial [21] pode-se especular que ocorra maior absorção da fumonisina, e com isso maior susceptibilidade sistêmica em animais cronicamente expostos. Isto é o que geralmente ocorre com animais de produção, que consomem o mesmo lote de alimento por extensos períodos de tempo. Para aves de produção estes resultados podem ser relevantes, devido ao curto período de vida dos animais, e na diminuição do potencial de desempenho.

5. CONCLUSÕES E APLICAÇÕES

- 1- Estudos demonstram alta prevalência de Fumonisinas em cereais utilizados para ração animal. Aves são consideradas menos sensíveis às fumonisinas que outras espécies animais.
- 2- No presente estudo, entretanto, foi verificado que a fumonisina em níveis de 7 ppm na dieta de aves foi capaz de diminuir a profundidade de cripta no intestino delgado.
- 3- O número de células em mitose na bolsa cloacal também se mostrou menor no grupo que recebeu a fumonisina.
- 4- Foram encontradas maiores porcentagens de lesões moderadas e severas nas aves que receberam adição de fumonisina na ração.
- 5- Estas aves também apresentaram menor peso corporal quando comparadas ao grupo de aves controle.
- 6- Estes resultados sugerem que as fumonisinas podem afetar o desenvolvimento da mucosa intestinal, a resposta imune e o desempenho dos animais.

6. REFERÊNCIAS E NOTAS

1. Kubena, L.F., R.B. Harvey, T.D. Phillips, D.E. Corrier, and W.E. Huff, 1990. Diminution of aflatoxicosis in growing chickens by dietary addition of a hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Poult. Sci.* 69: 727-735.
2. Huff, W.E., L.F. Kubena, R.B. Harvey, and T.D. Phillips, 1992. Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin A. *Poult. Sci.* 71: 64-69.

3. Azzam, A.H., and M.A. Gabal, 1997. Interaction of aflatoxin in the feed and immunization against selected infectious diseases. I. infectious bursal disease. *Avian Pathol.* 26: 317-325.

4. Santin, E., A.C. Paulillo, P.C. Maiorka, A.C. Alessi, E.L. Krabbe, and A. Maiorka, 2002. The effects of ochratoxin/aluminosilicate interaction on the tissues and humoral immune response of broilers. *Avian Pathol.* 31: 73-79.

5. Santin E., 2005. Mould growth and mycotoxins production. In *The Mycotoxin blue book..* D.E. Diaz, ed. Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom. 225-234.

6. Turner, P.C., Nikiema, P., and Wild, C.P., 1999. Fumonisin contamination of food: progress in development of biomarkers to better assess human health risks. In: *Mutation Research..* 44: 81-93.

7. Berek, L., I.B. Petri, A. Mesterhazy, J. Teren, and J. Molnar, 2001. Effects of mycotoxins on human immune functions *in vitro*. *Toxicol. In Vitro.* 15: 25-30.

8. Yoo, H., W.P. Norred, E. Wang, A.H. Merrill, and R.T. Riley, 1992. Sphingosine inhibition of *de novo* sphingolipid biosynthesis and cytotoxicity are correlated in LLC-PK1 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 114: 9-15.

9. Tolleson, W.H., W.B. Melchior, S.M. Morris, L.J. McGarrity, O.E. Domon, L. Muskhelishvili, S.J. James, and P.C. Howard, 1996. Apoptotic and anti-proliferative effects of fumonisin B1 in human keratinocytes, fibroblasts, esophageal epithelial cells and hepatoma cells. *Carcinogenesis.* 17: 239-249.

10. Mobio, T.A., I. Baudrimont, A. Sanni, T.W. Shier, D. Saboureau, S.D. Dano, Y. Ueno, P.S. Steyn, and E.E. Creppy, 2000. Prevention by vitamin E of DNA fragmentation and apoptosis induced by fumonisin B1 in C6 glioma cells. *Arch Toxicol.* 74: 112-119.

11. WHO, 2000. Environmental Health Criteria 219: Fumonisin B1, 153 pp. United Nations Environmental Programme, the International Labour Organization. International Programme on Chemical Safety, Geneva.

12. Bolger, M., R.D. Coker, M. Dinovi, D. Gaylor, M.O. Gelderblom, N. Paster, R.T. Riley, G. Shepard, and J.A. Speijers, 2001. Fumonisin B1. In *Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food.* Food and Agriculture Organization of the United Nations, paper 74. World Health Organization Food Additives, series 47, 103-279.

13. Haschek, W.M., L.A. Gumprecht, G. Smith, M.E. Tumbleson, and P.D. Constable, 2001. Fumonisin toxicosis in swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environm. Health. Perspect.* 109: 251-257.

14. Caloni, F., M. Spotti, G. Pompa, F. Zucco, A. Stamatii, and I. De Angelis, 2002. Evaluation of fumonisin B(1) and its metabolites absorption and toxicity on intestinal cells line Caco-2. *Toxicon.* 40: 1181-1188.

15. Yoo, H., W.P. Norred, J. Showker, and R.T. Riley, 1996. Elevated Sphingoid bases and complex sphingolipid depletion as contributing factors in fumonisin-induced cytotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 138: 211-218.

16. Schmelz, E.M., M.A. Donbrink-Kurtzman, P.C. Roberts, Y. Kozutsumi, T. Kawasaki, and A.H. Merrill, 1998. Induction of apoptosis by fumonisin B1 in HT29 cells is mediated by the accumulation of endogenous free sphingoid bases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 148: 252-260.

17. Yu, C.H., Y.M. Lee, Y.P. Yun, and H.S. Yoo, 2001. Differential effects of fumonisin B1 on cell death in culture cells: The significance of the elevated sphinganine. *Arc. Pharm. Res.* 24: 136-143.

18. Rumora, L., A.M. Domijan, T.Z. Grubiszic, and M. Peraica, 2007. Mycotoxin fumonisin B1 alters cellular redox balance and signaling pathways in rat liver and kidney. *Toxicol.* 242: 31-38.

19. Gelderblom, W.C.A., W.F.O Marasas, S.L. Mazur, S. Swanevelder, and S. Abel, 2008. Cancer initiating properties of fumonisin B1 in a short-term rat liver carcinogenesis assay. *Toxicol.* 250: 89-95.

20. Mexía-Salazar, A.N., J. Hernandez-Lopez, A. Burgos-Hernandes, M.O. Cortez-Rocha, R. Castro-Longoria, and J.M. Ezquerra-Brauer, 2008. Role of fumonisin B1 on the immune system histopathology, and muscle proteins of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Food Chemistry.* 110: 451-479.

21. Bouhet, S., E. Hourcade, N. Loiseau, A. Fikry, S. Martinez, M. Roseli, P. Galtier, E. Mengheri, and I.P. Oswald, 2004. The mycotoxin fumonisin B1 alters the proliferation and the barrier function of porcine intestinal cells. *Toxicol. Sci.* 77: 165-171.

22. Oswald, I.P., C. Desautels, J. Laffitte, S. Fournout, S.Y. Peres, M. Odin, P. Le Bars, J. Le Bars, and J.M. Fairbrother, 2003. Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5870-5874.

23. Commission Regulation (EC) 1126/2007 of 28 september 2007 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards Fusarium toxins in maize and maize products. *Official Journal of EU*, L255, 14-17.

24. Manova R., and R. Mladenova, 2009. Incidence of zearalenone and fumonisin in Bulgarian cereal production. *Food Control.* 20: 362-365.

25. Vrabcheva, T., S. Lazarova, and G. Beev, 2004. Occurrence of Fusarium species in Bulgarian cereal grains. *Plant Science (Bulg).* 41: 240-243.

26. PS Management Manual Ross 308
<http://www.aviagen.com/308psm/308psm.htm> , January, 23, 2009.

27. National Research Council, 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. National Academy Press: Washington, D.C.
28. AgraQuant® Determinação de Fumonisinas Totais, Aflatoxinas Totais, Zearalenona, Deoxynivalenol, Toxina T – 2. Romer Labs Singapore Pte Ltd.
29. Paracox® – 5. Schering – Plough.
30. New – Vaxin – HB1. Schering – Plough.
31. Newcastle Disease Virus Antibody Test Kit, IDEXX Laboratories, Inc.
32. Johnson, J., and W.M. Reid, 1970. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Exp. Parasitol.* 28: 30-36.
33. Maiorka, A., E. Santin, A.F. Fischer da Silva, L.D.G. Bruno, I.C. Boleli, I.C., and M. Macari, 2000. Desenvolvimento do trato gastrointestinal de embriões oriundos de matrizes pesadas de 30 e 60 semanas de idade. *Braz. J. Poult. Sci.* 2: 123-129.
34. SANTIN, E. Micotoxicoses. In: Berchieri Jr, A., M. Macari, 2000. *Doenças das Aves*. Campinas, p.379-388.
35. Motic Images Plus, 2001-2004. Version 2.0 ML. Motic China Group Co. Ltd, West Chester, OH.
36. Statistix for Windows Copyright © 1996 Analytical Software.
37. Liu, B.H., F.Y. Yu, M.H. Chan, and Y.L. Yang, 2002. The effects of mycotoxins, fumonisin B1 and aflatoxin B1, on primary swine alveolar macrophages. *Toxicology and App. Pharmacology.* 180: 197-204.
38. Ferrante, M.C., R. Meli, G.M. Raso, E. Esposito, L. Severino, G. Carlo, and A. Lucisano, 2002. Effect of fumonisin B1 on structure of macrophage plasma membrane. *Toxicology Letters.* 129: 181-187.
39. Halloy, D.J., P.G. Gustin, S. Bouhet, and I.P. Oswald, 2005. Oral exposure to culture material containing fumonisins predisposes swine to the development of pneumonitis caused by *Pasteurella multocida*. *Toxicol.* 213: 34-44.
40. Bottalico, A., 1998. Fusarium diseases of cereals: Species complex and related mycotoxins profiles in Europe. *Journal of Plant Pathology.* 80: 85-103.
41. Logrieco, A., G. Mule, A. Moretti, and A. Bottalico, 2002. Toxigenic Fusarium species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology.* 108: 597-609.
42. Mills, J.T., 1989. Ecology of mycotoxigenic Fusarium species on cereal seeds. *J. Food. Prot.* 52: 737-742.

43. Thiel, P.G., G.S. Shepard, and E.W. Sydenhem, 1991. Levels of fumonisins B1 and B2 in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. *J. Agri. Food Chem.* 39: 109-111.

44. Gelderblom, W.C., W.F. Marasas, R. Vleggaar, P.G. Thiel, and M.E. Cawood, 1992. Fumonisin: isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathology.* 117: 11-16.

45. Murphy, P.A., L.G. Rice, and P.F. Ross, 1993. Fumonisin B1, B2 and B3 content of Iowa, Wisconsin, and Illinois corn and corn screenings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 41: 263-266.

46. Norred, W.P., 1993. Fumonisin: mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Toxicol. Environ. Health.* 38: 309-328.

47. Wang, E., W.P. Norred, and C.W. Bacon, 1991. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *J. Biol.Chem.* 266: 1486-1490.

48. Center for Food Safety and Nutrition, US Food and Drug Administration, 2001. Background Paper in Support of Fumonisin Levels in Animal Feed: Executive Summary of this Scientific Document (November 9, 2001). <http://www.cfsan.fda.gov/dms/fumonbg4.html>.

49. Vudathula, D.K., D.B. Prelusky, M. Ayroud, H.L. Trenholm, and J.D. Miller, 1994. Pharmacokinetic fate and pathological effects of ¹⁴C-fumonisin B1 in laying hens. *Nat. Toxins.* 2: 81-88.

50. Prelusky, D.B., H.L. Trenholm, B.A. Rotter, J.D. Miller, M.E. Savard, J.M. Yeung, and P.M. Scott, 1996. Biological fate of fumonisin B1 in food-producing animals. *Adv. Exp.Med.Biol.* 392: 265-278.

Agradecimentos:

Ao Doutor Rottinghaus da University of Missouri, USA pelo fornecimento da cultura de fumonisina;

À Dagranya pelo fornecimento dos animais experimentais;

À Schering – Plough, pelo fornecimento da vacina contra Coccidiose e doença de Newcastle.

Tabela 1: Peso vivo de frangos de corte submetidos ou não à fumonisina.

Idade	Grupos		
	CONTROLE	7 PPM DE FUMONISINA	VALOR DE P
Dia 1	41,00 ± 3,22	41,48 ± 2,87	0,542
Dia 7	157,80 ± 13,08 ^a	142,80 ± 12,14 ^b	0,0001
Dia 14	400,25 ± 27,07 ^a	371,50 ± 44,38 ^b	0,038
Dia 21	759,33 ± 44,50	738,40 ± 86,31	0,067

^{a-b}Valores das médias na mesma linha com letras diferentes (a-b) diferem significativamente (P<0.05).

Tabela 2: Porcentagem de lesões microscópicas hepáticas de frangos de corte submetidos ou não à fumonisina em amostras processadas de cada ave, aos 17 dias de idade, de acordo com cada escore (0 = parênquima normal, 1 = lesões suaves, 2 = lesões moderadas, 3 = lesões severas).

GRUPOS	ESCORE 0	ESCORE 1	ESCORE 2	ESCORE 3
	(% FREQUÊNCIA)	(% FREQUÊNCIA)	(% FREQUÊNCIA)	(% FREQUÊNCIA)
T1	0	75	25	0
T2	7	22	45	26

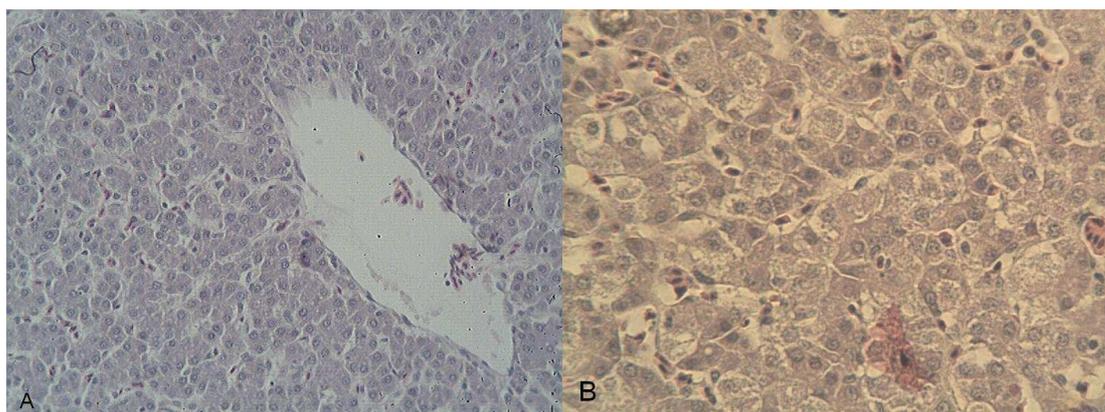


Figura 1. Fotomicrografia de fígado (400x) dos diferentes tratamentos. O tratamento 2 (B) apresenta maior intensidade de vacuolização no tecido hepático, quando comparado ao tratamento 1 (A).

Tabela 3: Médias e Desvio Padrão da contagem de total de hemáceas, de leucócitos e hematologia para cada grupo. T1= Ração controle; T2= Ração controle adicionada de 7 ppm de fumonisina.

PARÂMETROS	IDADE	TRATAMENTO 1	TRATAMENTO 2	VALOR DE P
Hemáceas (/μL)	14 dias	2,06 x 10 ⁶ ± 244632	2,09 x 10 ⁶ ± 609391	0,659
	21 dias	2,23 x 10 ⁶ ± 104307 ^b	2,71 x 10 ⁶ ± 400756 ^a	0,009
Leucócitos (/μL)	14 dias	11000 ± 4062	11000 ± 2915,5	0,437
	21 dias	12400 ± 3911,5	21800 ± 9909,6	0,253
Hemoglobina (g/dL)	14 dias	14,63 ± 0,54	15,51 ± 1,64	0,342
	21 dias	16,15 ± 0,53	16,25 ± 1,07	0,365
Hematócrito (%)	14 dias	33,0 ± 1,00	34,4 ± 3,13	0,398
	21 dias	34,6 ± 1,14	36,2 ± 2,04	0,570
Proteínas (UI/L)	14 dias	3,22 ± 0,16	3,12 ± 0,27	0,947
	21 dias	2,88 ± 0,21	2,84 ± 0,97	0,905
Albumina (UI/L)	14 dias	1,42 ± 0,22	1,24 ± 0,05	0,383
	21 dias	2,13 ± 0,12	2,20 ± 0,16	0,356
AST (UI/L)	14 dias	525,46 ± 574,60	355,84 ± 473,23	0,691
	21 dias	441,20 ± 49,64	359,82 ± 31,21	0,422
GGT (UI/L)	14 dias	16,52 ± 5,18	10,94 ± 6,90	0,192
	21 dias	24,32 ± 1,43	25,80 ± 4,97	0,456
CK (UI/L)	14 dias	1016,1 ± 351,52	1966,2 ± 1662,6	0,107
	21 dias	2513,8 ± 1366,6	1176,2 ± 548,5	0,450
Uréia (mg/dL)	14 dias	7,61 ± 4,03	7,75 ± 5,61	0,983
	21 dias	4,64 ± 0,32	6,49 ± 1,56	0,413
Ácido Úrico (UI/L)	14 dias	10,62 ± 1,25	13,79 ± 3,47	0,121
	21 dias	7,20 ± 0,68	9,14 ± 2,55	0,268

^{a-b} Valores das médias na mesma linha com letras diferentes (a-b) diferem significativamente (P<0.05).

Tabela 4: Média das alturas de vilos e profundidade de criptas, mensuradas do intestino Delgado coletados de frangos de corte submetidos ou não à fumonisina, aos 17 dias de idade.

GRUPOS	DUODENO (μM)		JEJUNO (μM)		ÍLEO (μM)	
	VILOS	CRIPTAS	VILOS	CRIPTAS	VILOS	CRIPTAS
T1	1196,5 \pm	165,87 \pm	887,33 \pm	129,32 \pm	605,89 \pm	138,50 \pm
	201,50	21,35 ^a	215,77	21,59 ^a	57,56 ^a	21,03 ^a
T2	1116,7 \pm	117,40 \pm	790,76 \pm	108,05 \pm	527,14 \pm	101,73 \pm
	164,76	16,45 ^b	188,05	16,05 ^b	48,57 ^b	12,83 ^b
Valor de P	0,2421	0,000	0,1314	0,000	0,000	0,000

^{a-b} Valores das médias na mesma coluna com letras diferentes (a-b) diferem significativamente ($P < 0.05$).

Tabela 5: Médias de títulos vacinais para a enfermidade de Newcastle e de número de células em mitose da bolsa cloacal de frangos de corte submetidos ou não à fumonisina.

GRUPOS	TÍTULOS VACINAIS		CÉLULAS EM MITOSE
	Dia 14	Dia 21	Dia 21
T1	3,44 \pm 0,21	2,16 \pm 1,21	19,40 \pm 4,94 ^a
T2	3,29 \pm 0,21	1,86 \pm 0,95	11,28 \pm 2,96 ^b
Valor de P	0,180	0,575	0,000

^{a-b} Valores das médias na mesma coluna com letras diferentes (a-b) diferem significativamente ($P < 0.05$).

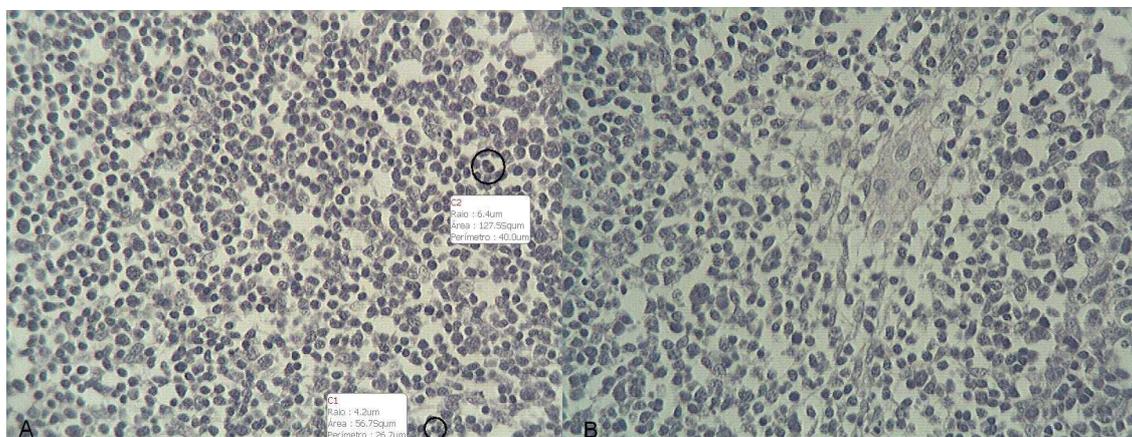


Figura 2. Fotomicrografia de bolsa cloacal (400x) dos diferentes tratamentos. O tratamento 1 (A) apresenta maior número de células em mitose, quando comparado ao tratamento 2 (B).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de cereais visa principalmente alimentação de humanos e de animais em todo o mundo. O crescimento fúngico e a subsequente contaminação de alimentos por micotoxinas pode levar a ingestão destes metabólitos tóxicos pelo homem e animais, provocando micotoxicoses. As fumonisinas são uma família de micotoxinas que podem contaminar alimentos, predominantemente produtos a base de milho. Considerando que esse cereal é matéria-prima básica na formulação de rações destinadas a animais, entra a importância do estudo da fumonisina na cadeia de produção animal.

O presente trabalho é complementar a outros já desenvolvidos ao redor do mundo, e pode demonstrar a importância que a fumonisina representa na cadeia de alimentos. A avaliação da adição de fumonisina na dieta de frangos de corte pode demonstrar que esta micotoxina interfere na imunidade dos animais, podendo tanto levar à imunossupressão como sendo fator para aumentar reações vacinais, importantes para o desenvolvimento animal.

Os resultados do trabalho sugerem que a presença de fumonisina na dieta afeta o desempenho animal, já que os pesos dos animais que receberam adição de fumonisina na ração foram inferiores ao grupo controle. Também se pode citar que a micotoxina afeta a função hepática, devido ao fato de que os animais alimentados com maior concentração de fumonisina apresentaram maior porcentagem de escores de lesões hepáticas.

Com base neste estudo, pode-se especular que a fumonisina afeta o perfeito desenvolvimento do epitélio intestinal, já que foram encontradas menores profundidades de cripta no intestino delgado e menores tamanhos de vilos no íleo, o que afeta a proliferação de células e pode, com isso, comprometer a absorção de nutrientes e o desempenho das aves.

Com base nestes resultados, conclui-se que a fumonisina merece atenção no cenário de produção de alimentos, visto que aparece como contaminante na imensa produção de cereais que existe nos dias atuais.

