

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA– PPGZOO**

**CAROLINI PRIGOL**

**USO DE BLEND INATIVADOR DE MICOTOXINAS EM DIETAS DE FRANGOS DE  
CORTE CONTAMINADAS POR DEOXINIVALENOL E FUMONISINA**

**CHAPECÓ**  
**2023**

**CAROLINI PRIGOL**

**USO DE BLEND INATIVADOR DE MICOTOXINAS EM DIETAS DE FRANGOS DE  
CORTE CONTAMINADAS POR DEOXINIVALENOL E FUMONISINA**

**CHAPECÓ**

**2023**

**CAROLINI PRIGOL**

**USO DE BLEND INATIVADOR DE MICOTOXINAS EM DIETAS DE FRANGOS DE  
CORTE CONTAMINADAS POR DEOXINIVALENOL E FUMONISINA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.  
Orientador: Prof. Dr. Marcel Manente Boiago.

**CHAPECÓ**

**2023**

Prigol, Carolini

USO DE BLEND INATIVADOR DE MICOTOXINAS EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE CONTAMINADAS POR DEOXINIVALENOL E FUMONISINA / Carolini Prigol. -- 2023. 50 p.

Orientador: Marcel Manente Boiago  
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2023.

1. Levedura. 2. Relação Esfingosina/Esfinganina. 3. Perfil oxidativo. I. Manente Boiago, Marcel . II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

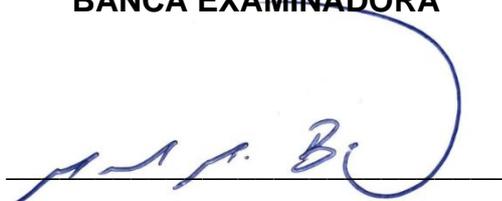
**CAROLINI PRIGOL**

**USO DE BLEND INATIVADOR DE MICOTOXINAS EM DIETAS DE FRANGOS DE  
CORTE CONTAMINADAS POR DEOXINIVALENOL E FUMONISINA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.  
Orientador: Prof. Dr. Marcel Manente Boiago.

**BANCA EXAMINADORA**

Membros:



Prof. Dr. Marcel Manente Boiago - UDESC Oeste



Prof. Dr. Diovani Paiano – UDESC Oeste



Prof. Dr. Tiago Goulart Petrolli – UNOESC Xanxerê

Chapecó, 27 de julho de 2023.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de expressar meu profundo agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a realização desta dissertação de mestrado. Seus apoios e orientações foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Em primeiro lugar, sou imensamente grata ao meu orientador por sua dedicação e paciência. Agradeço por compartilhar seus conhecimentos, por suas valiosas sugestões e por seu incentivo constante ao longo desta jornada.

Gostaria também de expressar minha gratidão aos meus pais e ao meu marido, por seu apoio e crença constante em minha capacidade. Sempre me encorajando a perseguir meus sonhos e apoiando-me em todas as decisões importantes.

Além disso, gostaria de agradecer a todos os membros da minha família, amigos e colegas que me apoiaram durante toda essa jornada. Agradeço a Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) por proporcionar um ambiente propício ao aprendizado e por fornecer os recursos necessários para o desenvolvimento desta pesquisa. A FAPESC pela bolsa de estudos, e a empresa Vetanco do Brasil por fornecerem recursos para este projeto.

“Sabemos bem aonde queremos chegar, mas respeitamos e damos atenção total ao passo que estamos tomando neste momento.” (TOLLE, 2002)

## RESUMO

Um dos desafios existentes na produção avícola é a contaminação dos alimentos por micotoxinas, que afetam a saúde e o desempenho das aves e geram, portanto, perdas econômicas significativas. As micotoxinas deoxinivalenol (DON) e fumonisina B1 (FB1) comprometem a saúde intestinal, o sistema imunológico e o desempenho das aves, além de aumentar a susceptibilidade a doenças. Diante desse cenário, estratégias eficazes para minimizar esses efeitos são essenciais. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do uso de um inativador de micotoxinas a base de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desempenho, características morfológicas intestinais e variáveis bioquímicas de frangos de corte alimentados com rações contaminadas com as micotoxinas DON (3 ppm) e FB1 (30 ppm). Foram utilizados 450 frangos de corte machos com um dia de idade, que foram distribuídos em seis tratamentos com sete repetições de 15 aves cada, conforme segue: CN – Controle negativo (ração sem contaminação); CP – Ração contaminada com DON e FB1; CP+D500 – Ração contaminada + Produto inativador 500 mg/kg; CP+D750 – Ração contaminada + Produto inativador 750 mg/kg; CP+D1000 – Ração contaminada + Produto inativador 1000 mg/kg; CN+D1000 – Ração sem contaminação + Produto inativador 1000 mg/kg. O desempenho zootécnico foi mensurado nos períodos de 1 a 21, 1 a 35 e 1 a 42 dias. Amostras de sangue foram coletadas aos 42 dias de idade para análises de indicadores de estresse oxidativo e a relação esfingosina/esfinganina, no mesmo dia foi realizada a eutanásia de cinco aves para coleta de amostras do fígado destinadas a mensuração de marcadores de estresse oxidativo e amostras do epitélio intestinal para histopatologia (altura de vilosidade e profundidade de cripta). O consumo de ração das aves não foi afetado pelos tratamentos em nenhum dos períodos de criação, entretanto, as aves não desafiadas com as micotoxinas apresentaram maior ganho de peso. As aves dos grupos CP e CP+D500 tiveram as piores conversões alimentares (CA) em todas as fases de criação, porém, as aves dos grupos CP+750 e CP+1000 não diferiram das dos grupos não contaminados. Constatou-se um aumento de ROS no fígado e maior relação esfingosina/esfinganina nas aves do CP em relação aos demais grupos, já para TBARS também se observou um aumento nas aves do CP em relação as dos grupos CN, CP+D750, CP+D1000 e CN+D1000. As aves dos grupos CN+D1000 e CP+D1000 tiveram o maior tamanho de vilosidade intestinal em relação aos demais

tratamentos. Já a maior profundidade de cripta foi observada nas aves do CN+D1000 e CP+D1000 em comparação as do CN. Conclui-se que o consumo de micotoxinas prejudicou o desempenho e elevou o estresse oxidativo das aves. Porém, a adição de 1000 mg/kg do produto testado minimizou os efeitos negativos observados na CA e o estresse oxidativo causado por DON e FB1, além de proporcionar maiores tamanhos de vilosidades intestinais nos frangos de corte.

**Palavras-chave:** Levedura; Relação Esfingosina/Esfinganina; Perfil Oxidativo.

## ABSTRACT

One of the challenges in poultry production is food contamination by mycotoxins, which affect the health and performance of birds and therefore result in significant economic losses. Mycotoxins deoxynivalenol (DON) and fumonisin B1 (FB1) compromise intestinal health, the immune system, and bird performance, increasing susceptibility to diseases. Given this scenario, effective strategies to minimize these effects are essential. In this context, the present study aimed to evaluate the effects of using a mycotoxin inactivator based on *Saccharomyces cerevisiae* on the performance, intestinal morphological characteristics, and biochemical variables of broilers fed with feed contaminated with DON (3 ppm) and FB1 (30 ppm) mycotoxins. A total of 450 one-day-old male broilers were used, which were divided into six treatments with seven replicates of 15 birds each, as follows: CN – Negative control (uncontaminated feed); CP – Feed contaminated with DON and FB1; CP+D500 – Contaminated feed + Inactivator product 500 mg/kg; CP+D750 – Contaminated feed + Inactivator product 750 mg/kg; CP+D1000 – Contaminated feed + Inactivator product 1000 mg/kg; CN+D1000 – Uncontaminated feed + Inactivator product 1000 mg/kg. Zootechnical performance was measured during the 1-21, 1-35, and 1-42 day periods. Blood samples were collected at 42 days of age for oxidative stress indicator analysis and sphingosine/sphinganine ratio, and on the same day, euthanasia of five birds was performed to collect liver samples for oxidative stress marker measurements and intestinal epithelium samples for histopathology (villous height and crypt depth). The birds' feed consumption was not affected by the treatments in any of the rearing periods; however, birds not challenged with mycotoxins showed greater weight gain. Birds in the CP and CP+D500 groups had the worst feed conversion ratios (FCR) in all rearing phases, but birds in the CP+750 and CP+1000 groups did not differ from those in the uncontaminated groups. An increase in ROS was observed in the liver and a higher sphingosine/sphinganine ratio in CP birds compared to the other groups, and an increase in TBARS was also observed in CP birds compared to CN, CP+D750, CP+D1000, and CN+D1000 groups. Birds in the CN+D1000 and CP+D1000 groups had the largest intestinal villous sizes compared to the other treatments. The greatest crypt depth was observed in birds from the CN+D1000 and CP+D1000 groups compared to CN. In conclusion, mycotoxin consumption impaired bird performance and increased oxidative stress. However, the addition of 1000 mg/kg of the tested

product minimized the negative effects observed in FCR and the oxidative stress caused by DON and FB1, as well as providing larger intestinal villi sizes in broilers.

**Keywords:** Yeast; Sphingosine/Sphinganine Ratio; Oxidative Profile.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Estrutura química das micotoxinas Fumonisina B1 e Deoxinivalenol. ....19
- Figura 2 - Semelhanças das estruturas químicas das moléculas de Fumonisina, esfinganina e esfingosina. ....20

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias obtidas para as concentrações (ppb) de Deoxinivalenol (DON) e Fumonisina B1 (FB1) nas rações utilizadas.....	32
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 micotoxinas e <i>S. cerevisiae</i> . ....	34
Tabela 3 - Valores médios obtidos para relação esfingosina/enfinganina (So/Sa) no soro, espécies reativas ao oxigênio (ROS, U DCF/mg proteína) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, mmol MDA/mg proteína) no fígado dos frangos de corte alimentados com micotoxinas e <i>S. cerevisiae</i> . ....	35
Tabela 4 - Tamanho de vilosidade ( $\mu\text{m}$ ), profundidade cripta ( $\mu\text{m}$ ) e relação vilosidade:cripta de frangos de corte de 42 dias alimentados com rações com micotoxinas e <i>S. cerevisiae</i> . ....	36

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
2.1	MICOTOXINAS .....	17
2.2	FUMONISINAS.....	19
2.3	DEOXINIVALENOL .....	21
2.4	ESTRESSE OXIDATIVO.....	22
2.5	<i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> .....	23
<b>3</b>	<b>ARTIGO 1: USO DE BLEND INATIVADOR DE MICOTOXINAS EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE CONTAMINADAS POR DEOXINIVALENOL E FUMONISINA</b> .....	<b>25</b>
3.1	INTRODUÇÃO .....	25
3.2	MATERIAL E MÉTODOS .....	27
<b>3.2.1</b>	<b>Produto</b> .....	<b>27</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Produção de micotoxinas</b> .....	<b>27</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Animais e delineamento experimental</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2.4</b>	<b>Performance</b> .....	<b>29</b>
<b>3.2.5</b>	<b>Coleta de amostras</b> .....	<b>29</b>
<b>3.2.6</b>	<b>Histopatológico</b> .....	<b>30</b>
<b>3.2.7</b>	<b>Estado oxidante do fígado</b> .....	<b>30</b>
<b>3.2.8</b>	<b>Relação esfingosina/esfinganina</b> .....	<b>31</b>
<b>3.2.9</b>	<b>Análise de micotoxinas na ração</b> .....	<b>31</b>
<b>3.2.10</b>	<b>Análise Estatística</b> .....	<b>33</b>
3.3	RESULTADOS .....	33
<b>3.3.1</b>	<b>Performance</b> .....	<b>33</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Estado oxidante do fígado e relação esfingosina/esfinganina</b> .....	<b>35</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Histopatológico</b> .....	<b>35</b>
3.4	DISCUSSÃO .....	36
3.5	CONCLUSÃO.....	41
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>42</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>43</b>
	<b>ANEXO A – COMPROVANTE DO CEUA</b> .....	<b>49</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Os frangos de corte enfrentam problemas relacionados a sua produção, como bem-estar animal, manejo e questões sanitárias. As micotoxinas são um desafio e seus impactos são perceptíveis, pois não existem limites seguros para a avicultura industrial lidar com essa situação. Portanto, o controle efetivo dessas micotoxinas são essenciais (MALLMANN; MALMANN, 2020).

Os prejuízos econômicos, sanitários e comerciais gerados pelas micotoxinas acarretam um grande problema na avicultura. Quando ingeridas a partir de alimentos contaminados, ocorre a diminuição do desempenho produtivo por atingir diversos órgãos e sistemas, além de afetar o sistema imune (AWUCHI et al., 2022). As micotoxinas podem promover estresse oxidativo e comprometer a integridade intestinal, ocorrendo menor absorção dos nutrientes ingeridos (KIM et al., 2019).

A fumonisina, importante micotoxina na produção animal, pode causar destruição das junções de oclusão (YUAN et al., 2019), induzindo a uma disbiose e processos inflamatórios intestinais (ZHAI et al., 2022). Seus efeitos tóxicos incluem a carcinogenicidade, neurotoxicidade, apoptose, imunotoxicidade, entre outros (QU et al., 2022).

Já a micotoxina Deoxinivalenol afeta a atividade ribossomal resultando em deficiência da síntese proteica e alteração mitocondrial (WANG et al., 2018). Essas alterações podem modificar a barreira intestinal, diminuindo o transporte de nutrientes e tornando o animal mais susceptível às bactérias patogênicas comprometendo sua performance (CHEN; LI; LIN, 2017).

Uma importante estratégia para reduzir a biodisponibilidade das micotoxinas no trato gastrointestinal dos animais é o uso de métodos biológicos, como adsorventes e modificadores de micotoxinas produzidos com enzimas, fungos e bactérias (KEPIŃSKA-PACELIK; BIEL, 2021), geralmente com menor toxicidade, impacto na qualidade nutricional e nas características sensoriais da ração, reduzindo os efeitos negativos sofridos pelas micotoxinas. A parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um exemplo, pois tem potencial de adsorver micotoxinas pela interação com a sua parede celular (PEIVASTEHR-ROUDSARI et al., 2022).

A eficácia de um adsorvente é demonstrada pela sua capacidade de se ligar a uma ou mais micotoxinas no trato gastrointestinal do animal e permanecer ligado até ser eliminado (YIANNIKOURIS et al., 2021). Além disso, a *S. cerevisiae* pode promover a biotransformação das micotoxinas, resultando em metabólitos atóxicos. Nesse processo, proteínas extracelulares ou enzimas desempenham um papel importante na inativação das micotoxinas (LIU; XIE; WEI, 2022).

A utilização da *S. cerevisiae* em dietas contaminadas com micotoxinas, já demonstrou ser capaz de aumentar as vilosidades intestinais das aves (WEAVER et al., 2022), reduzir bactérias patogênicas (KIM et al., 2019), melhorar o desempenho e digestibilidade dos nutrientes, além de ter efeito protetor no fígado (HOLANDA; KIM, 2020).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do uso de um produto adsorvente/inativador enzimático de micotoxinas composto por lisado de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desempenho, características morfológicas intestinais e variáveis bioquímicas de frangos de corte alimentados com rações contaminadas com as micotoxinas DON (3 ppm) e FB1 (30 ppm).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MICOTOXINAS

As aves de corte, juntamente com outras espécies avícolas, enfrentam uma suscetibilidade significativa à contaminação por micotoxinas, as quais são encontradas principalmente nos grãos utilizados como alimento animal. A presença dessas micotoxinas pode ocasionar impactos negativos na saúde e no desempenho das aves, ao mesmo tempo em que aumenta os custos de produção. Devido aos seus efeitos imunossupressores, as micotoxinas podem comprometer as respostas vacinais, agravando o surgimento de doenças. Além disso, elas interferem na saúde intestinal, prejudicando a absorção adequada de nutrientes essenciais (DILKIN, 2021). Assim, é essencial adquirir um conhecimento aprofundado sobre as micotoxinas e explorar alternativas viáveis para mitigar seus efeitos adversos.

As micotoxinas são metabólitos tóxicos produzidos por diversas espécies de fungos, entre os principais estão *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Condições como alta umidade, temperatura elevada e falhas nas práticas agrícolas e de armazenamento propiciam o desenvolvimento desses fungos. Embora a presença de fungos não seja indicativa de altas concentrações de micotoxinas nos grãos, a realização de análises laboratoriais permite avaliar os níveis de contaminação (TIBOLA; FERNANDES, 2020). Em climas tropicais e subtropicais, como é o caso do Brasil, as condições de umidade e temperatura são especialmente favoráveis para o crescimento fúngico (MALLMANN; DILKIN, 2007).

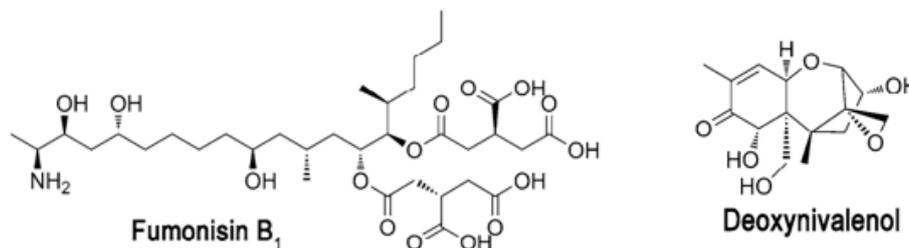
As classes de micotoxinas mais prevalentes e relevantes são: as aflatoxinas, produzidas pelo fungo do gênero *Aspergillus*, as ocratoxinas pelo gênero *Aspergillus* e *Penicillium* e as fusariotoxinas que são os tricotecenos, zearalenona e fumonisinas, produzidas pelo gênero *Fusarium* (PEREIRA; CUNHA; FERNANDES, 2019). A presença dessas micotoxinas representa um considerável risco para a saúde animal e para toda a cadeia alimentar, especialmente em vista do aumento da população e da demanda por alimentos, o que leva à oferta de grãos de baixa qualidade e subprodutos aos animais,

aumentando as chances de contaminação. Nesse contexto, é crucial o desenvolvimento de tecnologias de diagnósticos rápidos e eficientes, a fim de garantir a oferta de alimentos de qualidade e permitir ações preventivas antes da ingestão, como a inclusão de produtos antimicotoxinas. Isso se torna fundamental, pois os impactos causados por esses metabólitos comprometem o desenvolvimento e a produtividade dos animais (PINOTTI et al., 2016).

Os efeitos negativos das micotoxinas nos animais são extremamente preocupantes e podem ter um impacto significativo em seu desempenho e saúde. Estudos têm demonstrado que as micotoxinas têm potencial de afetar negativamente o desempenho dos animais, promovendo estresse oxidativo e comprometendo a integridade da parede intestinal, o que resulta em uma diminuição na absorção de nutrientes (KIM et al., 2019). Além disso, as micotoxinas têm sido associadas a alterações na microbiota intestinal dos animais. Seus efeitos citotóxicos e pró-inflamatórios na mucosa intestinal e nas células imunes podem levar a modificações indesejáveis na composição da microbiota intestinal (GUERRE, 2020).

O uso de produtos antimicotoxinas tem efeitos positivos na performance produtiva dos animais contaminados com micotoxinas (GROFF-URAYAMA et al., 2022), a adição desses produtos na dieta das aves é uma estratégia para assegurar a qualidade e o desempenho dos animais em condições de contaminação por micotoxinas.

Figura 1 - Estrutura química das micotoxinas Fumonisin B<sub>1</sub> e Deoxynivalenol.



Fonte: LYAGIN; EFREMENKO (2019).

## 2.2 FUMONISINAS

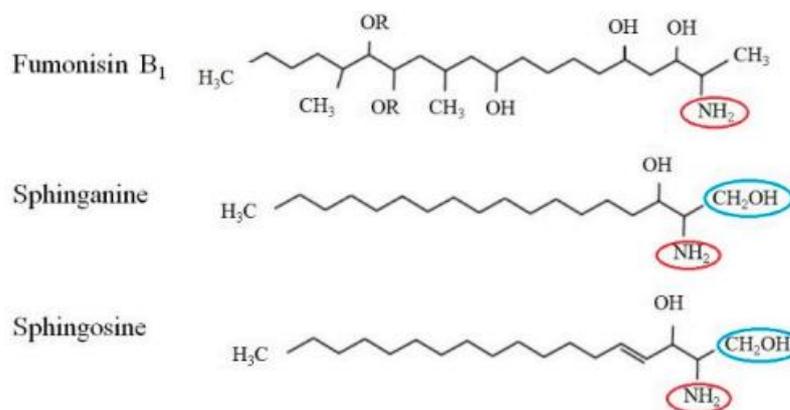
As fumonisinas foram relatadas pela primeira vez em 1988, derivadas de culturas do *Fusarium moniliforme* MRC 826, com alta toxicidade e carcinogenicidade (GELDERBLOM et al., 1988). No mesmo ano, a estrutura química das fumonisinas foi apresentada instituindo os nomes de fumonisina B1 (FB1) e B2 (FB2) (BEZUIDENHOUT et al., 1988). Para as espécies de aves e mamíferos a FB1 é considerada a mais tóxica das fumonisinas (GAO et al., 2023).

Essas micotoxinas são altamente solúveis em água e possuem estabilidade à temperatura, assim, demonstram-se estáveis em condições variadas, os processos químicos e físicos podem não ser eficazes para remover as micotoxinas dos grãos (QU et al., 2022).

Os efeitos tóxicos causados pelas fumonisinas são variados, como carcinogenicidade, neurotoxicidade, apoptose, imunotoxicidade, autofagia, entre outros. Essa toxicidade pode ser causada pela modulação do metabolismo do esfingolípido e a indução do estresse oxidativo. A estrutura da fumonisina (FUM) é similar a esfingosina (So) e esfinganina (Sa), demonstrado na Figura 2, que são componentes importantes da esfingomielina (QU et al., 2022). A esfinganina e esfingosina, principais componentes do esfingolípido, agem na regulação das funções celulares, como a proliferação, diferenciação e apoptose. Devido à similaridade da molécula da Fumonisin com a Sa e So, a FUM compete com a Sa e So na síntese da ceramida, dificultando a síntese de esfingolípídios. Essa

inibição da síntese da ceramida faz com que haja aumento de esfinganina e de esfingosina, levando ao acúmulo de metabólitos 1-fosfato de Sa/So, envolvidos no crescimento e sinalização antiapoptose via receptores celulares, assim como o decréscimo do fluxo de esfingolipídios (LUMSANGKUL et al., 2019).

*Figura 2 - Semelhanças das estruturas químicas das moléculas de Fumonisin, esfinganina e esfingosina.*



Fonte: QU et al (2022).

Os efeitos tóxicos das fumonisinas em animais são preocupantes devido ao seu caráter cumulativo, podendo ocorrer acúmulo dessas substâncias no fígado e músculos (TARDIEU et al., 2019). Além disso, estudos apontam para um aumento significativo nos níveis de So e Sa em decorrência da exposição prolongada a baixas doses de fumonisinas (BENLASHER et al., 2012) (LAURAIN et al., 2021). Essas descobertas destacam a importância de monitorar e controlar a presença de micotoxinas na alimentação animal para evitar danos à saúde e prejuízos na produção animal.

O fígado e os rins desempenham um papel crucial na retenção das toxinas, sendo os principais órgãos responsáveis por esse processo. Contudo, além desses órgãos, a FB1 pode ser encontrada em outras partes do corpo, como no soro sanguíneo e outros tecidos. As interações entre a FB1 e o colesterol estão envolvidas na absorção intestinal de FB1 e na sua excreção biliar. A FB1 pode transitar de um ambiente aquoso para um lipídico, juntamente com o colesterol e os sais biliares, como o sódio taurocolato, essa interação do colesterol e sais biliares, resulta na incorporação de FB1 em micelas mistas no

lúmen intestinal, que facilitam a absorção intestinal da FB1 presente na dieta (MAHFOUD et al., 2002).

A fumonisina B1, quando presente em altas concentrações, tem sido associada ao aumento do estresse oxidativo e à deterioração da barreira intestinal, resultando no aumento da permeabilidade causada pela destruição das junções de oclusão (YUAN et al., 2019), que induz a processos inflamatórios e disbiose (ZHAI et al., 2022). Assim como, a interação da FB1 com deoxinivalenol, mesmo em níveis baixos, pode causar alterações na microbiota e afetar a resposta imunológica do intestino, aumentando a predisposição para o desenvolvimento de enterite necrótica (SHANMUGASUNDARAM et al., 2023).

A exposição as fumonisinas resulta em diminuição dos níveis de proteínas das junções de oclusão, incluindo ocludina, claudina-1, claudina-4 e zona ocludente. Essa redução indica que as micotoxinas podem comprometer a integridade da barreira intestinal, aumentando a permeabilidade e, conseqüentemente, a exposição a bactérias patogênicas, como a Salmonella (LIU et al., 2023). Além disso, outros efeitos adversos podem ocorrer, como o desprendimento das camadas epiteliais, atrofia das glândulas intestinais e necrose. Assim como, a expressão anormal de citocinas inflamatórias que indicam a presença de processos inflamatórios intestinais (LI et al., 2020).

### 2.3 DEOXINIVALENOL

O deoxinivalenol (DON) é uma micotoxina produzida por fungos do gênero *Fusarium* spp. E pertence à família dos tricotecenos. Essa substância é caracterizada por sua estrutura orgânica polar, apresentando três grupos de hidroxila livres (-OH) associados à sua toxicidade (RIAHI et al., 2021). A produção da DON pode ocorrer em diversos tipos de grãos, especialmente aqueles cultivados durante o inverno, quando as condições de temperatura e umidade são favoráveis ao crescimento dos fungos. O mecanismo de ação dessa micotoxina baseia-se na inibição da síntese proteica e na interferência da síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA), o que afeta o metabolismo e a multiplicação celular (MALLMANN; DILKIN, 2007).

A molécula de DON possui características de termoestabilidade e é capaz de resistir a baixos níveis de pH (WOLF; BULLERMAN, 1998). Em nível molecular, DON afeta a atividade ribossomal ligando-se à subunidade 60S e induzindo estresse ribotóxico. Isso resulta em deficiência na síntese proteica e provoca alterações na estrutura mitocondrial. Além disso, a DON promove a ativação das proteínas quinases, comprometendo a proliferação celular e levando à apoptose (WANG et al., 2018).

A alimentação de animais com DON pode resultar em uma diminuição no consumo e, conseqüentemente, prejudicar o desempenho deles. Além disso, essa substância tem o potencial de alterar o perfil bioquímico, a morfologia intestinal e a expressão de RNA mensageiro de transporte de nutrientes (WU et al., 2015). Essas mudanças podem levar a uma modificação na barreira intestinal, tornando os animais mais suscetíveis a doenças e comprometendo sua performance. A exposição a DON também pode levar a um aumento esplênico, maior incidência de apoptose e danos ao DNA, afetando o sistema imunológico dos animais (CHEN; LI; LIN, 2017).

## 2.4 ESTRESSE OXIDATIVO

Os radicais livres são átomos ou moléculas que possuem um número ímpar de elétrons em sua camada eletrônica mais externa, o que confere a eles uma alta reatividade. Eles podem ser formados durante processos de oxidação-redução, no qual podem doar um elétron, oxidando-se, ou receber um elétron, reduzindo-se. Os radicais livres são produzidos naturalmente pelo organismo, sendo as mitocôndrias a principal fonte endógena dessa produção. Porém, fontes externas, como as micotoxinas, podem induzir a formação de radicais livres. Os radicais livres em que o elétron é desemparelhado nos átomos de oxigênio denominam-se espécies reativas ao oxigênio (ROS) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

O estresse oxidativo é a condição decorrente do desequilíbrio entre as espécies reativas ao oxigênio (ROS) e o sistema antioxidante, quando a produção de ROS excede a capacidade antioxidante do organismo, pela

estimulação das micotoxinas, as mitocôndrias produzem radicais livres que podem gerar maior estresse oxidativo e citotoxicidade (CHEN et al., 2021). O aumento de estresse oxidativo pode ocorrer quando tecidos são lesados, produzindo altas quantidades de espécies reativas de oxigênio, pois os tecidos lesados produzem aumento de enzimas geradoras de radicais livres, ativação de fagócitos ou interrupção nas cadeias de transporte de elétrons da fosforilação oxidativa (ROCK et al., 1996).

O resultado do estresse oxidativo são danos nas proteínas, lipídios e DNA, prejudicando as membranas celulares e causando disfunções mitocondriais, levando a inflamação intestinal e diminuindo a capacidade de absorção dos nutrientes (MISHRA; JHA, 2019). O dano peroxidativo causado aos lipídios pelo estresse oxidativo pode ser mensurado através do parâmetro de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (OAKES; VAN DER KRAAK, 2003).

As micotoxinas tem a capacidade de induzir o estresse oxidativo. A micotoxina DON exerce seu efeito prejudicial por desencadear processos de peroxidação lipídica e estresse oxidativo, por causar danos significativos as mitocôndrias e aos hepatócitos (AWAD et al., 2014). Por sua vez, a fumonisina atua aumentando a produção de ROS ao inibir o complexo I mitocondrial, o que resulta em estresse oxidativo (DOMIJAN; ABRAMOV, 2011). Esses mecanismos têm um impacto negativo na saúde e no funcionamento celular dos animais e podem ser associados a uma série de disfunções e distúrbio fisiológicos que afetam os animais. Portanto, é essencial compreender esses efeitos e implementar estratégias para proteção desses danos.

## 2.5 *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

*Saccharomyces cerevisiae* é um organismo unicelular pertencente aos fungos, essa levedura é utilizada para diversas pesquisas e usos industriais (PARAPOULI et al., 2020). A parede celular da levedura é composta por duas camadas, constituídas principalmente por polissacarídeos como b-glucanas, mananas e quitina. Essa composição pode variar dependendo de fatores como pH, temperatura e níveis de oxigenação, o que pode afetar algumas

propriedades funcionais da parede celular. O uso de leveduras apresenta um grande potencial na redução dos danos causados pelas micotoxinas (FOCHESATO et al., 2020).

Existem dois mecanismos pelos quais as leveduras podem remover as micotoxinas: adsorção e biotransformação. No caso da adsorção, componentes da parede celular, como peptidoglicanos, glucamananos e B-D-glucanos, adsorvem rapidamente, sem causar mudanças químicas no substrato. No entanto, essa adsorção pode ser reversível. Os oligossacarídeos como b 1-3 glucanos e proteínas mananas desempenham um papel importante como sítio de ligação para micotoxinas (LIU; XIE; WEI, 2022).

Por outro lado, a biotransformação é um processo permanente, resultando em metabólitos atóxicos. Nesse processo, proteínas extracelulares ou enzimas desempenham um papel importante na degradação das micotoxinas (LIU; XIE; WEI, 2022). A biotransformação pode envolver diferentes reações, como a redução de grupos carbonila cetona, modificação de grupos hidroxila fenólicos, hidrólise de anéis de lactona ou a formação de conexões com glutathione, desaminação ou descarboxilação (PIOTROWSKA, 2021). Esses processos bioquímicos contribuem para a transformação das micotoxinas em substância não tóxicas.

A *S. cerevisiae* também possui a capacidade de atuar como prébiotico benéfico para a saúde intestinal, graças aos mananoligossacarídeo (MOS) derivada de sua parede celular. A MOS pode se ligar às bactérias patogênicas, reduzindo sua colonização no intestino dos animais, conseqüentemente, melhorando a microbiota intestinal. Esse efeito resulta em uma melhora da saúde intestinal, além de promover a absorção de nutrientes e fortalecer o sistema imunológico dos animais (TENG; KIM, 2018).

### **3 ARTIGO 1: USO DE BLEND INATIVADOR DE MICOTOXINAS EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE CONTAMINADAS POR DEOXINIVALENOL E FUMONISINA**

#### **3.1 INTRODUÇÃO**

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por algumas espécies de fungos. Devido à sua estabilidade química, muitas micotoxinas conseguem sobreviver em diversas condições presentes nos alimentos. A produção desses metabólitos pode ocorrer tanto no campo como durante o período pós-colheita, transporte e armazenagem (AWUCHI et al., 2022). A ingestão de micotoxinas pode resultar em efeitos agudos ou crônicos e causar problemas como carcinogênese, mutagênese, teratogênese e estrogênese. Essas doenças causadas pela ingestão de micotoxinas são conhecidas como micotoxicoses (PEIVASTEHR-ROUDSARI et al., 2022).

Dentre as micotoxinas capazes de provocar micotoxicose nos animais, podemos citar a deoxinivalenol (DON) e a fumonisina (FUM), de importância na produção animal, ambas produzidas por fungos da espécie *Fusarium* spp. A DON já demonstrou prejudicar o desempenho das aves, diminuir o comprimento das vilosidades, afetar a absorção de nutrientes (SANTOS et al., 2021), comprometer a resposta imune (GUO et al., 2021) e induzir ao estresse oxidativo (RIAHI et al., 2021).

Por sua vez, as fumonisinas, devida à sua similaridade com a esfingosina e esfinganina, dificultam a síntese de esfingolipídios, acumulando metabólitos e desregulando as funções celulares, como proliferação, diferenciação e apoptose (LUMSANGKUL et al., 2019). A relação esfingosina/esfinganina é utilizado como biomarcador do fator de exposição às fumonisinas. Essa micotoxina também induz ao aumento do estresse oxidativo e prejudica a barreira intestinal, aumentando a permeabilidade intestinal (YUAN et al., 2019), e consequentemente, a exposição a bactérias patogênicas (LIU et al., 2023). Para

as espécies de aves e mamíferos a FB1 é considerada a mais tóxica das fumonisinas (GAO et al., 2023).

Estudos têm sido realizados para encontrar alternativas que diminuam os efeitos adversos das micotoxinas. Esses produtos interagem com as micotoxinas e dificultam sua absorção pelo trato gastrointestinal, tornando-as menos disponíveis para o organismo. Um adsorvente efetivo para as micotoxinas é baseado na parede celular de levedura, que demonstrou capacidade de adsorver diferentes grupos de micotoxinas (YIANNIKOURIS et al., 2021). Nesse contexto, a parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* tem demonstrado efeitos antimicotoxinas devido aos componentes mananoligossacarídeos (MOS) ou sua forma esterificada  $\beta$ -D-glucano (COLOVIĆ et al., 2019).

Bruinenberg e Castex (2022), relataram que a *S. cerevisiae* teve a capacidade de adsorver uma quantidade significativa da micotoxina DON in vitro, além de reduzir sua concentração no plasma sanguíneo. Chleicz e Slizewska (2020) também observaram a capacidade da *S. cerevisiae* de reduzir a concentração in vitro da Fumonisina B1 e B2.

Existem dois mecanismos pelos quais as leveduras podem remover as micotoxinas: adsorção e biotransformação. No caso da adsorção, componentes da parede celular, como peptideoglicanos, glucamananos e B-D-glucanos, adsorvem rapidamente, sem causar mudanças químicas no substrato. No entanto, essa adsorção pode ser reversível. Os oligossacarídeos como b 1-3 glucanos e proteínas mananas desempenham um papel importante como sítio de ligação para micotoxinas (LIU; XIE; WEI, 2022).

Por outro lado, a biotransformação é um processo permanente, resultando em metabólitos atóxicos. Nesse processo, proteínas extracelulares ou enzimas desempenham um papel importante na degradação das micotoxinas (LIU; XIE; WEI, 2022). A biotransformação pode envolver diferentes reações, como a redução de grupos carbonila cetona, modificação de grupos hidroxila fenólicos, hidrólise de anéis de lactona ou a formação de conexões com glutathiona, desaminação ou descarboxilação (PIOTROWSKA, 2021). Esses processos bioquímicos contribuem para a transformação das micotoxinas em substância não tóxicas.

Estudos realizados por Arif et al. (2020), constataram que a adição de *Saccharomyces cerevisiae* em rações contaminadas com micotoxinas resultou em melhor desempenho zootécnico, maior eficiência produtiva e aumento da imunidade das aves. A bioadsorção promovida pela parede de *S. cerevisiae* é influenciada pelo pH, a presença da bile e a temperatura, demonstrando ser capaz de sobreviver ao ambiente do trato gastrointestinal dos animais. Isso pode melhorar o desempenho ao reduzir a biodisponibilidade das micotoxinas no intestino e atuar como prebiótico (ARMANDO et al., 2012).

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar se a adição de lisado de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* é capaz de minimizar os efeitos negativos sobre o desempenho zootécnico e saúde de frangos de corte alimentados com rações contaminadas com Deoxinivalenol (DON) e Fumonisina B1 (FB1).

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Produto

O produto comercial utilizado para este estudo é composto por lisado de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* (86%), Fumonisina Esterase (10%) e Zeolita/Bentonita (4%).

### 3.2.2 Produção de micotoxinas

As micotoxinas utilizadas foram produzidas pela empresa Micotec, de Piracicaba – SP. Para a produção da Fumonisina B1, um isolado de *Fusarium verticillioides* foi cultivado em arroz. A fermentação foi realizada em frascos de Erlenmeyer com capacidade de 500 ml, aos quais foram adicionados 100 g de arroz. O arroz foi umedecido com água corrente (atividade de água >0,97) e autoclavado a 121 °C por 1 hora. O arroz autoclavado foi inoculado com 2 ml de

suspensão de conídios ( $1 \times 10^5$  conídios por ml). A suspensão de conídios foi obtida de colônias de *F. verticillioides* crescendo em ágar batata-dextrose por 15 dias a 25°C. Após a inoculação, os frascos foram mantidos estáticos por 28 dias a 25°C. Posteriormente, o fermento foi seco e moído para ser usado para contaminar artificialmente as rações. As concentrações de fumonisina e deoxinivalenol no material fermentado moído foram mensuradas usando cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa HPLC/MS/MS.

### 3.2.3 Animais e delineamento experimental

O protocolo experimental foi analisado e aprovado pela comissão de ética no uso de animais institucional (CEUA/UDESC – Protocolo 6577200720). Foram utilizados 450 pintainhos machos de um dia de vida da linhagem Cobb 500, que foram criadas no período de um a 42 dias de idade. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e sete repetições por tratamento, com 15 aves cada. As aves foram mantidas em boxes de 2 m<sup>2</sup>, sobre cama de maravalha e submetidas a um programa de luz em conformidade com o manual da linhagem.

Os tratamentos foram divididos da seguinte forma:

CN – Dieta controle negativo (sem contaminação);

CP – Dieta contaminada com 3 ppm de DON e 30 ppm de FB1 (controle positivo);

CP+D500 – Dieta contaminada com 3 ppm de DON e 30 ppm de FB1 + Produto inativador 500 mg/kg;

CP+D750 – Dieta contaminada com 3 ppm de DON e 30 ppm de FB1 + Produto inativador 750 mg/kg;

CP+D1000 – Dieta contaminada com 3 ppm de DON e 30 ppm de FB1 + Produto inativador 1000 mg/kg;

CN+D1000 – Dieta controle negativo + Produto inativador 1000 mg/kg.

As rações foram misturadas em um misturador tipo horizontal com capacidade para 150 kg e em seguida analisadas por cromatografia líquida com

detecção por espectrometria de massa (HPLC - MS / MS) para detecção das concentrações das micotoxinas.

A ração basal usada no presente estudo foi formulada a base de milho e farelo de soja, de acordo com as composições dos alimentos e exigências nutricionais descritas nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2017). Água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental, por meio de bebedouros tipo nipple e comedouros tipo tubular.

### **3.2.4 Performance**

As aves e as rações foram pesadas nos dias 1, 21, 35 e 42 do experimento com o uso de uma balança digital. De posse desses dados foram determinados o peso médio (PM) e o ganho de peso (GP), obtido pela seguinte fórmula: peso final menos o peso inicial do grupo. O consumo de ração (CR) (g/ave/dia) foi obtido por meio da diferença entre a ração fornecida no início e as sobras pesadas ao final de cada período. Já a conversão alimentar (CA) foi calculada pelo consumo médio de ração dividido pelo ganho de peso das aves.

### **3.2.5 Coleta de amostras**

Aos 42 dias, a coleta de sangue das aves foi realizada de forma manual, utilizando uma seringa de 1 ml para obter o sangue da veia ulnar. Esse sangue foi colocado em tubos sem anticoagulante para obtenção do soro. Em seguida, o material foi centrifugado a 3500 rpm por 10 minutos, separando o soro, que foi coletado e congelado a -20°C para as análises de esfingosina e esfinganina.

No mesmo dia, uma ave por unidade experimental (n = 5/ tratamento) foi eutanasiada, seguindo as normas de bem-estar animal e as diretrizes de prática de eutanásia segundo a Resolução Normativa CONCEA de 2018. Em seguida, o fígado foi coletado, homogeneizado em solução salina fisiológica, centrifugado a 2800 rpm por 10 min e o sobrenadante foi coletado e congelado a -20°C para as análises de marcadores de estresse oxidativo.

### **3.2.6 Histopatológico**

Amostras de jejuno foram coletadas e conservadas em frascos com solução de formaldeído a 10%. Lâminas com cortes histológicos foram confeccionadas, coradas com hematoxilina e eosina (H&E). Em microscópio de luz foi avaliado a estrutura morfológicas das porções intestinais coletadas. No fragmento de jejuno, o comprimento das vilosidades e profundidade de criptas foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Caruso e Demonte (2005). Foram capturadas imagens histológicas das lâminas com a utilização de uma microcâmara Digital (Electronic Eyepiece Camera Video), acoplada ao microscópio trinocular biológico (modelo TNB-41T-PL, OPTON) e um programa específico para captura de imagens histológicas, o software ImageJ. O comprimento dos vilos foi determinado usando uma linha reta desde a ponta das vilosidades até a porção superior das criptas. Para determinar a profundidade da cripta, outra linha foi traçada a partir da base da cripta até sua parte superior.

### **3.2.7 Estado oxidante do fígado**

Os níveis de radicais livres (ROS) foram determinados no fígado dos animais de acordo com a técnica descrita por Ali et al. (1992). As amostras foram diluídas 1:10 com Tris 10 mM (pH 7,4) e 5  $\mu$ L de diacetato de diclorofluoresceína (DCFH-DA). Os resultados foram expressos em U DCF/mg de proteína.

A peroxidação lipídica foi determinada como níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no soro de acordo com o método descrito por Jentzsch et al. (1996). Os resultados foram obtidos por espectrofotometria a 535 nm e expressos em nmol de malondialdeído (MDA)/ml de soro.

### 3.2.8 Relação esfingosina/esfinganina

A relação esfingosina/esfinganina no soro das aves foi utilizada como biomarcador de exposição as fumonisinas. Para isso, a concentração de esfinganina (Sa) e esfingosina (So) foi determinada por cromatografia líquida com detecção por fluorescência como descrito por Riley, Wang e Merrill (1994), utilizando como padrão interno a esfinganina C20.

### 3.2.9 Análise de micotoxinas na ração

Para análises de micotoxinas, as amostras de ração foram trituradas a < 0,85 mm e um grama do material triturado foi transferido para um tubo de ensaio de 50 ml. Foram adicionados 10 ml de água ultrapura e 10 ml de acetonitrila/ácido acético (CH<sub>3</sub>CN:CH<sub>3</sub>COOH) e o tubo de ensaio foi colocado em agitador mecânico por 10 min. Uma mistura de 4 g de MgSO<sub>4</sub> e 1 g de NaCl foi adicionada e o tubo foi agitado manualmente por 10 segundos. A solução foi então centrifugada por 15 min a 5.000 x g, a 25°C e 2,5 ml do sobrenadante foram transferidos para tubos de ensaio de vidro com tampa onde foram adicionados 2,5 ml de hexano. A solução foi agitada por 2h e então centrifugada a 1.000 x g, a 20 °C por 1 min. Da fase inferior (acetonitrila) foi retirado 1 mL e seco com fluxo de nitrogênio (N<sub>2</sub>) a 40 °C. A reconstituição foi realizada com 75 µL de metanol em banho ultrassônico por 10 segundos e 10 s em misturador de tubos de ensaio após a adição de 75 µL de água ultrapura. Após centrifugação por 10min a 14.000 x g 60 µL foram retirados e transferidos para frasco onde foram adicionados 140 µL de água ultrapura. Dez microlitros foram injetados no sistema cromatográfico.

A detecção e quantificação de micotoxinas foram realizadas com cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa em tandem (HPLC/MS/MS). A separação cromatográfica foi realizada usando Acquity UPLC System (Waters, Milford, Massachusetts, EUA) equipado com coluna Acquity UPLC BEH C18 de 100 x 2,1 mm, 1,7 µm, (Waters, Milford,

Massachusetts, EUA). A coluna foi mantida a 40°C e o volume de injeção foi de 10 µL. A fase móvel consistia em 0,1% de ácido fórmico em água (A) e 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila (B). A concentração de acetonitrila (B) aumentou gradualmente de 10% para 90% em 12 min, voltou às condições iniciais em 0,1 min e deixou-se estabilizar por 3 min. A fase móvel foi entregue a uma taxa de fluxo de 0,4 ml/min. O sistema LC foi acoplado a um espectrômetro de massa tandem Xevo TQS (Waters, Milford, Massachusetts, EUA), equipado com uma fonte de íons turbo-ion electrospray (ESI). O espectrômetro de massa foi operado em monitoramento de reação múltipla programado (MRM) no modo positivo.

A quantificação das micotoxinas foi realizada por meio de curvas de calibração pareadas por matriz, utilizando extratos das fases das dietas não contaminadas.

Os níveis de micotoxinas nas dietas (Tabela 1) ficaram com médias esperadas para este experimento, e mostra o potencial das dietas contaminadas para desafiar as aves.

*Tabela 1 - Médias obtidas para as concentrações (ppb) de Deoxinivalenol (DON) e Fumonisina B1 (FB1) nas rações utilizadas.*

<b>Tratamento</b>	<b>DON</b>	<b>FB1</b>
CN	ND	1200
CP	2843	26378
CP+D500	2713	27735
CP+D750	2761	33022
CP+D1000	2730	25291
CN+D1000	ND	1120

Tratamentos: CN – Controle negativo (ração sem contaminação); CP – Dieta contaminada (controle positivo); CP+D500 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 500 mg/kg; CP+D750 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 750 mg/kg; CP+D1000 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 1000 mg/kg; CN+D1000 – Dieta controle negativo+ Produto *S. cerevisiae* 1000 mg/kg. ND = Não detectado.

### 3.2.10 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade de distribuição (*Shapiro-Wilk*) e em seguida a 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, em que foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis (5%).

## 3.3 RESULTADOS

### 3.3.1 Performance

Observa-se na Tabela 2 que o período de 1-21 dias as aves que receberam rações contaminadas tiveram menor peso médio corporal (PM) e ganho de peso (GP) em relação às aves pertencentes ao CN e CN+D1000 ( $P < 0.001$ ). Já as piores conversões alimentares (CA) foram observadas nos frangos pertencentes aos tratamentos CP e CP+D500 em comparação ao submetidos às dietas CN e CN+D1000 ( $P < 0.001$ ). De 1-35 dias não foram verificadas diferenças para PM e GP entre as aves do grupo CN e dos grupos contaminados ( $P > 0.05$ ), porém as aves do grupo CN+D1000 apresentaram maiores PM e GP que aquelas dos grupos contaminados ( $P < 0.001$ ). As CA dos frangos mantiveram as respostas observadas no período 1-21 dias, com piores CA observadas nas aves dos tratamentos CP e CP+D500 em comparação às dos CN e CN+D1000 ( $P < 0.001$ ). Para o período total de 1-42 dias foi constatado os mesmos resultados de 1-35 para PM e GP, porém nessa fase de criação a CA das aves que receberam o tratamento CP + D1000 não diferiu das aves dos grupos CN e CN+D1000. Não houve diferença entre as aves dos tratamentos para consumo de ração em nenhum dos períodos analisados ( $P > 0.05$ ).

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 micotoxinas e *S. cerevisiae*.

Tratamento	1 a 21 dias			
	CR	PM	GP	CA
CN	1,40	0,998 A	0,951 A	1,47 B
CP	1,42	0,894 B	0,848 B	1,68 A
CP+D500	1,46	0,900 B	0,854 B	1,71 A
CP+D750	1,41	0,923 B	0,878 B	1,61 AB
CP+D1000	1,40	0,920 B	0,875 B	1,60 AB
CN+D1000	1,39	1,025 A	0,980 A	1,42 B
P-Value	0,351	< 0,001	< 0,001	< 0,001
CV (%)	3,82	3,29	3,47	5,89
Tratamento	1 a 35 dias			
	CR	PM	GP	CA
CN	3,78	2,53 AB	2,48 AB	1,52 B
CP	3,96	2,47 B	2,42 B	1,63 A
CP+D500	3,80	2,36 B	2,31 B	1,64 A
CP+D750	3,79	2,40 B	2,35 B	1,61 AB
CP+D1000	3,80	2,45 B	2,40 B	1,58 AB
CN+D1000	3,85	2,65 A	2,60 A	1,48 B
P-Value	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
CN	5,18	3,39 AB	3,34 AB	1,55 B
CP	5,46	3,30 B	3,25 B	1,68 A
CP+D500	5,25	3,20 B	3,16 B	1,67 A
CP+D750	5,37	3,27 B	3,22 B	1,67 A
CP+D1000	5,20	3,28 B	3,23 B	1,61 AB
CN+D1000	5,30	3,55 A	3,51 A	1,51 B
P-Value	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. Tratamentos: CN – Controle negativo (ração sem contaminação); CP – Dieta contaminada (controle positivo); CP+D500 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 500 mg/kg; CP+D750 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 750 mg/kg; CP+D1000 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 1000 mg/kg; CN+D1000 – Dieta controle negativo+ Produto *S. cerevisiae* 1000 mg/kg.

### 3.3.2 Estado oxidante do fígado e relação esfingosina/esfinganina

A relação esfingosina/esfinganina (So/Sa) foi similar nas amostras das aves de todos os tratamentos, com exceção para aquelas do tratamento controle negativo, cujas concentrações das enzimas foram inferiores à faixa de detecção do equipamento utilizado na análise (Tabela 3). Foi verificado um aumento de ROS no fígado das aves do CP em relação às dos demais tratamentos ( $P < 0,0001$ ), já para TBARS também se constatou um aumento nas aves no CP em relação às dos tratamentos CN, CP+D750, CP+D1000 e CN+D1000 ( $P=0,0016$ ).

*Tabela 3 - Valores médios obtidos para relação esfingosina/esfinganina (So/Sa) no soro, espécies reativas ao oxigênio (ROS, U DCF/mg proteína) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, mmol MDA/mg proteína) no fígado dos frangos de corte alimentados com micotoxinas e S. cerevisiae.*

<b>Tratamento</b>	<b>SA/SO</b>	<b>ROS</b>	<b>TBARS</b>
CN	ND	37.000 B	1,99 B
CP	1,33	108.000 A	8,34 A
CP+D500	1,73	42.000 B	6,92 AB
CP+D750	1,22	25.000 B	1,02 B
CP+D1000	1,34	42.000 B	1,47 B
CN+D1000	0,90	23.000 B	1,44 B
P-Value	0,154	<0,0001	0,0016
CV (%)	44,95	34,13	78,43

<sup>A, B</sup> Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). CV= coeficiente de variação ND= Não detectável. Tratamentos: CN – Controle negativo (ração sem contaminação); CP – Dieta contaminada (controle positivo); CP+D500 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 500 mg/kg; CP+D750 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 750 mg/kg; CP+D1000 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 1000 mg/kg; CN+D1000 – Dieta controle negativo+ Produto *S. cerevisiae* 1000 mg/kg.

### 3.3.3 Histopatológico

As aves dos tratamentos CN+D1000 e CP+D1000 tiveram a maior altura de vilosidade intestinal em relação aos demais tratamentos (Tabela 4), por outro lado, as aves do grupo CN foram as que tiveram os menores comprimentos de

vilosidades, diferenciando-se das dos demais tratamentos ( $P < 0,0001$ ). Já a maior profundidade de cripta foi constatada nas aves dos CN+D1000 e CP+D1000 em comparação às do CN ( $P = 0,0011$ ). Não houve diferença entre as aves dos tratamentos para a relação vilo/cripta ( $P > 0,05$ ).

*Tabela 4 - Tamanho de vilosidade ( $\mu\text{m}$ ), profundidade cripta ( $\mu\text{m}$ ) e relação vilo:cripta de frangos de corte de 42 dias alimentados com rações com micotoxinas e *S. cerevisiae*.*

<b>Tratamento</b>	<b>Vilosidade</b>	<b>Cripta</b>	<b>Relação vilo/cripta</b>
CN	1265 C	211,84 B	5,95
CP	1379 B	240,96 AB	6,18
CP+D500	1390 B	232,20 AB	6,24
CP+D750	1389 B	239,76 AB	5,72
CP+D1000	1795 A	279,08 A	6,22
CN+D1000	1732 A	277,66 A	6,16
P-Value	<0,0001	0,0011	0,202
CV (%)	4,85	14,89	16,06

<sup>A, B, C</sup> Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). CV = coeficiente de variação. Tratamentos: CN – Controle negativo (ração sem contaminação); CP – Dieta contaminada (controle positivo); CP+D500 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 500 mg/kg; CP+D750 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 750 mg/kg; CP+D1000 – Dieta contaminada + Produto *S. cerevisiae* 1000 mg/kg; CN+D1000 – Dieta controle negativo + Produto *S. cerevisiae* 1000 mg/kg.

### 3.4 DISCUSSÃO

As aves alimentadas com rações contaminadas com as micotoxinas tiveram menor peso corporal e ganho de peso, além de pior conversão alimentar. A diminuição da digestibilidade de matéria seca e energia ileal, assim como o impacto negativo no ganho de peso, relatos por Liu et al. (2020), indica que a presença de micotoxinas na dieta pode afetar a absorção de nutrientes comprometendo o desempenho dos animais. Esses efeitos podem ser resultados da necrose intestinal, alteração da permeabilidade e expressão de citocinas inflamatórias causadas pelas micotoxinas, que evidenciam o potencial

em causar danos ao epitélio intestinal, desencadeando inflamação e perturbação da homeostase imunológica (LI et al., 2020).

Nesse estudo, a adição de lisado de *S. cerevisiae* minimizou os efeitos adversos das micotoxinas na conversão alimentar, uma vez que, esse é um dos principais indicadores de desempenho considerados pelas agroindústrias. Em estudo realizado por Arif et al. (2020), foi observado que a adição da parede de levedura de *S. cerevisiae* também melhorou o desempenho e a eficiência produtiva em frangos de corte. A *S. cerevisiae* possui a capacidade de atuar como prébiotico benéfico para a saúde intestinal, graças aos mananoligossacarídeo (MOS) derivada de sua parede celular. A MOS pode se ligar às bactérias patogênicas, reduzindo sua colonização no intestino dos animais, conseqüentemente, melhorando a microbiota intestinal. Esse efeito resulta em uma melhora da saúde intestinal, além de promover a absorção de nutrientes e fortalecer o sistema imunológico dos animais resultando em um melhor desempenho (TENG; KIM, 2018).

As micotoxinas podem desencadear respostas severas de estresse oxidativo, sendo que diversos fatores influenciam a gravidade desses efeitos, tais como o tipo de micotoxina, o nível de contaminação e a duração de exposição, além de fatores relacionados à espécie animal, idade e combinação de diferentes micotoxinas (MAVROMMATIS et al., 2021). O estresse oxidativo ocorre quando a concentração de espécies reativas ao oxigênio (ROS) excede a capacidade antioxidante do organismo. Altas concentrações de ROS podem interromper a redox homeostase, iniciando o processo de peroxidação lipídica nas membranas, causando danos celulares e ao DNA (WANG et al., 2015).

Estudos conduzidos por Skiepkó et al. (2020), constataram que a DON afeta os hepatócitos e as células imunes do fígado, resultando em danos em mitocondriais e necrose dos hepatócitos, aumentando assim os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e indica que essa micotoxina produz radicais livres que induzem a peroxidação lipídica e o estresse oxidativo (AWAD et al., 2014).

A FB1 tem a capacidade de inibir o complexo I mitocondrial de transporte de elétrons, o que reduz a taxa de respiração mitocondrial e celular, resultando na despolarização da membrana e na elevada produção de ROS, induzindo o

estresse oxidativo (DOMIJAN; ABRAMOV, 2011). Portanto, o aumento de ROS e TBARS no fígado das aves expostas a micotoxinas encontrado no presente estudo pode ser atribuído aos danos causados às células. A presença elevada de ROS e TBARS no fígado de aves alimentadas com fumonisinas também foi relatada por Galli et al. (2020) e Sousa et al. (2020b).

A adição da parede da levedura *S. cerevisiae* demonstrou reduzir a concentração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no fígado das aves. Dazuk et al. (2020) relataram um aumento na atividade da enzima glutatona S-transferase (GST) em galinhas que receberam lisado de *S. cerevisiae*, uma enzima conhecida por sua capacidade antioxidante que protege o organismo contra os efeitos do estresse oxidativo, oferecendo proteção às células, especialmente do fígado, e demonstra a capacidade antioxidante da *S. cerevisiae*.

A relação Sa/So, usada como biomarcador da exposição às fumonisinas, foi semelhante nas amostras das aves de todos os tratamentos, com exceção para aquelas do grupo controle negativo, em que as concentrações das enzimas foram inferiores ao limite de detecção do equipamento utilizado na análise. Um estudo realizado por Cao et al. (2022), demonstrou que o distúrbio metabólico que resulta no aumento da relação Sa/So ocorre de forma dependente do tempo, causando danos na sobrevivência das células e levando à inflamação e apoptose. Esse fator dependente do tempo pode explicar os níveis semelhantes da relação Sa/So nas aves dos tratamentos, indicando que estudos adicionais com uma duração mais longa são necessários para identificar possíveis diferenças.

Devido a sua estrutura similar à esfinganina (Sa) e esfingosina (So), a fumonisina interfere nos esfingolipídios e tem a capacidade de inibir a síntese de ceramida (CerSs), que são enzimas responsáveis pela transferência de ácidos graxos dos acil-CoAs para Sa e So. Isso leva ao acúmulo de Sa nos tecidos, sangue e urina dos animais, progredindo para toxicidade e efeitos histopatológicos (RILEY; MERRILL, 2019). Os esfingolipídios desempenham um papel importante no crescimento, desenvolvimento, resposta ao ambiente e morte programada. Por ser o principal componente do sistema da membrana celular, eles contribuem para a estabilidade estrutural e o transporte de

moléculas através das membranas celulares. As Fumonisinhas têm efeitos significativos nas funções dos esfingolipídios, resultando em consequências negativas para o organismo animal (CHEN et al., 2020).

A análise da saúde intestinal dos frangos de corte demonstrou diferenças nas alturas das vilosidades nos tratamentos em que foram utilizados 1000 mg/kg do produto lisado de *S. cerevisiae*. As aves dos tratamentos CN+D1000 e CP+D1000 tiveram as maiores alturas de vilosidades intestinais e profundidades de criptas, que demonstram o efeito benéfico da *S. cerevisiae* por suas propriedades antimicotoxinas e de atuar como prebiótico pelo MOS presente na sua parede intestinal. A maior altura das vilosidades indica uma maior área de absorção de nutrientes e melhor desempenho pelo aproveitamento da dieta fornecida (KIM et al., 2019).

A exposição a micotoxinas, como DON e FB1, pode causar alterações significativas na saúde intestinal. A diminuição nos tamanhos de vilos, observada nos estudos de Bortoluzzi et al. (2016) e Sousa et al. (2020a), sugere um efeito inibitório sobre a proliferação celular, o que pode comprometer a renovação adequada do epitélio intestinal. A micotoxina DON causa toxicidade nas células proliferativas, que afeta a migração celular ao longo dos vilos, e causa alteração na morfologia intestinal, reduzindo a função da barreira intestinal pela ruptura das junções de oclusão (LUO et al., 2021).

A combinação de intoxicações por DON e FB1 pode agravar os danos intestinais, e promover uma resposta inflamatória mais intensa, com a secreção de citocinas pró-inflamatórias e promoção de piroptose, indicando uma interação sinérgica entre essas micotoxinas (MAO et al. 2023). O efeito das fumonisinhas pode ser observado na integridade das junções de oclusão das células epiteliais do intestino. A diminuição dos níveis de proteínas nas junções de oclusão causadas pela fumonisinha pode levar ao rompimento da barreira intestinal, aumentando a permeabilidade e facilitando a entrada de bactérias patogênicas, como a *Salmonella* (LIU et al., 2023).

Dessa forma, os dados evidenciam que a parede celular da *S. cerevisiae* desempenha um papel benéfico ao reduzir o estresse oxidativo e melhorar a performance das aves, além da sua capacidade de adsorção e

biotransformação, indicando seu potencial como uma estratégia eficaz para mitigar os impactos adversos das micotoxinas na produção avícola.

### 3.5 CONCLUSÃO

A adição do produto lisado de *S. cerevisiae*, nas doses de 750 e 1000 mg/kg mantém a conversão alimentar das aves alimentadas com dietas contaminadas com FUM e DON, além de melhorar o status oxidativo do fígado e os parâmetros de morfometria intestinal das aves. Portanto, demonstra ser capaz de diminuir os efeitos negativos dessas micotoxinas e pode ser utilizado adequadamente em dietas de frangos de corte.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um dos principais desafios na produção de aves é a contaminação da ração por micotoxinas, que afetam negativamente a saúde e o desempenho das aves, resultando em perdas significativas. Micotoxinas como DON e FUM comprometem a saúde intestinal, o sistema imunológico e o desempenho geral das aves, ao mesmo tempo que aumenta a susceptibilidade a doenças. Diante desse cenário, estratégias eficazes para mitigar esses efeitos são de extrema importância.

Esse estudo teve como objetivo avaliar o impacto do uso de um inativador de micotoxinas à base de *S. cerevisiae* sobre o desempenho, características morfológicas intestinais e variáveis bioquímicas de frangos de corte alimentados com ração contaminada com DON e FB1. Podemos observar que a contaminação da dieta com as micotoxinas DON e FB1 comprometeu a saúde e o desempenho das aves, no entanto, a adição do lisado de *S. cerevisiae* demonstrou benefícios substanciais.

Os resultados desse estudo indicam melhorias no desempenho das aves, como evidenciado pela melhoria na conversão alimentar. Além disso, observou-se uma redução no estresse oxidativo do fígado das aves que recebem o lisado de *S. cerevisiae*, demonstrando a capacidade antioxidante do produto. Outra descoberta foi a observação de maiores alturas de vilosidades intestinais das aves tratadas com o inativador de micotoxinas.

Concluimos, portanto, que os animais que receberam o produto obtiveram melhores ganhos em relação aos que não receberam. O uso de aditivos antimicotoxinas, como o lisado de *S. cerevisiae*, mostra-se uma estratégia promissora para minimizar os efeitos adversos das micotoxinas na produção avícola. Essas descobertas têm implicações significativas na indústria avícola, promovendo a saúde e o desempenho das aves e, por conseguinte, a lucratividade dos produtores. No entanto, novas pesquisas são necessárias para uma compreensão mais abrangente desses efeitos e para explorar completamente o potencial do lisado de *S. cerevisiae* como uma ferramenta eficaz na gestão de micotoxinas na produção avícola.

## REFERÊNCIAS

ABPA. **Relatório anual 2023**. 2023

ARIF, M. et al. The biodegradation role of *Saccharomyces cerevisiae* against harmful effects of mycotoxin contaminated diets on broiler performance, immunity status, and carcass characteristics. **Animals**, v. 10, n. 2, 1 fev. 2020.

ARMANDO, M. R. et al. Adsorption of ochratoxin A and zearalenone by potential probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains and its relation with cell wall thickness. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 2, p. 256–264, ago. 2012.

AWAD, W. A. et al. Single and combined effects of deoxynivalenol mycotoxin and a microbial feed additive on lymphocyte DNA damage and oxidative stress in broiler chickens. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, 31 jan. 2014.

AWUCHI, C. G. et al. Mycotoxins' Toxicological Mechanisms Involving Humans, Livestock and Their Associated Health Concerns: A Review. **Toxins**, 1 mar. 2022.

BENLASHER, E. et al. Comparative effects of fumonisins on sphingolipid metabolism and toxicity in ducks and turkeys. **Avian Diseases**, v. 56, n. 1, p. 120–127, mar. 2012.

BEZUIDENHOUT, S. C. et al. Structure Elucidation of the Fumonisins, Mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. **J. CHEM. SOC., CHEM. COMMUN.** 1988.

BORTOLUZZI, C. et al. Efficacy of yeast derived glucomannan or algae-based antioxidant or both as feed additives to ameliorate mycotoxicosis in heat stressed and unstressed broiler chickens. **Livestock Science**, v. 193, p. 20–25, 1 nov. 2016.

BRUINENBERG, P. G.; CASTEX, M. Evaluation of a yeast hydrolysate from a novel strain of *saccharomyces cerevisiae* for mycotoxin mitigation using in vitro and in vivo models. **Toxins**, v. 14, n. 1, 1 jan. 2022.

CAO, C. et al. Fumonisin B1 induces hepatotoxicity in mice through the activation of oxidative stress, apoptosis and fibrosis. **Chemosphere**, v. 296, 1 jun. 2022.

CHEN, J. et al. Sphinganine-analog mycotoxins (Sams): Chemical structures, bioactivities, and genetic controls. **Journal of Fungi**, 1 dez. 2020.

CHEN, J. et al. Research progress on fumonisin b1 contamination and toxicity: A review. **Molecules**, 1 set. 2021.

CHEN, S. S.; LI, Y. H.; LIN, M. F. Chronic exposure to the fusarium mycotoxin deoxynivalenol: Impact on performance, immune organ, and intestinal integrity of slow-growing chickens. **Toxins**, v. 9, n. 10, 20 out. 2017.

CHLEBICZ, A.; ŚLIŻEWSKA, K. In Vitro Detoxification of Aflatoxin B1, Deoxynivalenol, Fumonisin, T-2 Toxin and Zearalenone by Probiotic Bacteria from Genus Lactobacillus and Saccharomyces cerevisiae Yeast. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, n. 1, p. 289–301, 1 mar. 2020.

COLOVIĆ, R. et al. Decontamination of mycotoxin-contaminated feedstuffs and compound feed. **Toxins**, 25 out. 2019.

DAZUK, V. et al. Laying hens fed mycotoxin-contaminated feed produced by Fusarium fungi (T-2 toxin and fumonisin B1) and Saccharomyces cerevisiae lysate: Impacts on poultry health, productive efficiency, and egg quality. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, 1 dez. 2020.

DOMIJAN, A. M.; ABRAMOV, A. Y. Fumonisin B1 inhibits mitochondrial respiration and deregulates calcium homeostasis - Implication to mechanism of cell toxicity. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 43, n. 6, p. 897–904, jun. 2011.

FERNANDES, J. I. M. et al. Effect of adsorbents on diets with corn contaminated by mycotoxins on the productive performance and health of broilers. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 44, 22 dez. 2022.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos e mecanismo de lesão. **Rev Ass Med Brasil**. 1997.

FOCHESATO, A. S. et al. Culture medium and gastrointestinal environment positively influence the Saccharomyces cerevisiae RC016 cell wall polysaccharide profile and aflatoxin B1 bioadsorption. **LWT**, v. 126, 1 maio 2020.

GALLI, G. M. et al. Feed contaminated by fumonisin (Fusarium spp.) in chicks has a negative influence on oxidative stress and performance, and the inclusion of curcumin-loaded nanocapsules minimizes these effects. **Microbial Pathogenesis**, v. 148, 1 nov. 2020.

GAO, Z. et al. The natural occurrence, toxicity mechanisms and management strategies of Fumonisin B1 : A review. **Environmental Pollution**. Elsevier Ltd, 1 mar. 2023.

GELDERBLUM, W. C. A. et al. Fumonisin--novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by Fusarium moniliforme. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 7, p. 1806–1811, 1988.

- GROFF-URAYAMA, P. M. et al. Use of different adsorbents in broiler diets naturally contaminated by mycotoxins. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 44, 2022.
- GUERRE, P. Mycotoxin and Gut Microbiota Interactions. **Toxins**, 1 dez. 2020.
- GUO, F. et al. Study on the interactive effect of deoxynivalenol and *Clostridium perfringens* on the jejunal health of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 100, n. 3, 1 mar. 2021.
- HOLANDA, D. M.; KIM, S. W. Efficacy of mycotoxin detoxifiers on health and growth of newly-weaned pigs under chronic dietary challenge of deoxynivalenol. **Toxins**, v. 12, n. 5, 1 maio 2020.
- JENTZSCH, A. M. et al. Improved analysis of malondialdehyde in body fluids. **Free Radical Biology & Medicine**. 1996.
- KEPIŃSKA-PACELIK, J.; BIEL, W. Alimentary risk of mycotoxins for humans and animals. **Toxins**, 1 nov. 2021.
- KIM, S. W. et al. Efficacy of a yeast cellwall extract to mitigate the effect of naturally co-occurring mycotoxins contaminating feed ingredients fed to young pigs: Impact on gut health, microbiome, and growth. **Toxins**, v. 11, n. 11, 31 out. 2019.
- LAURAIN, J. et al. Fumonisin b1 accumulates in chicken tissues over time and this accumulation was reduced by feeding algo-clay. **Toxins**, v. 13, n. 10, 1 out. 2021.
- LI, X. et al. Fumonisin B1 exposure triggers intestinal tract injury via activating nuclear xenobiotic receptors and attracting inflammation response. **Environmental Pollution**, v. 267, 1 dez. 2020.
- LIU, J. D. et al. The impact of deoxynivalenol, fumonisins, and their combination on performance, nutrient, and energy digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 99, n. 1, p. 272–279, 1 jan. 2020.
- LIU, J. D. et al. Short-term exposure to fumonisins and deoxynivalenol, on broiler growth performance and cecal *Salmonella* load during experimental *Salmonella* Enteritidis infection. **Poultry Science**, v. 102, n. 6, 1 jun. 2023.
- LIU, L.; XIE, M.; WEI, D. Biological Detoxification of Mycotoxins: Current Status and Future Advances. **International Journal of Molecular Sciences**. MDPI, 1 fev. 2022.
- LUMSANGKUL, C. et al. Developmental toxicity of mycotoxin fumonisin B 1 in animal embryogenesis: An overview. **Toxins**, v. 11, n. 2, 1 fev. 2019.

LUO, S. et al. Comparative sensitivity of proliferative and differentiated intestinal epithelial cells to the food contaminant deoxynivalenol. **Environmental Pollution**, v. 277, 2021.

LYAGIN, I.; EFREMENKO, E. Enzymes for detoxification of various mycotoxins: Origins and mechanisms of catalytic action. **Molecules**, 2019.

MAHFOUD, R. et al. pH-dependent interaction of fumonisin B1 with cholesterol: Physicochemical and molecular modeling studies at the air-water interface. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 2, p. 327–331, 16 jan. 2002.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P. **Mycotoxins and Mycotoxicosis in Swine**. 1. ed. 2007.

MAO, X. et al. The combined effect of deoxynivalenol and Fumonisin B1 on small intestinal inflammation mediated by pyroptosis in vivo and in vitro. **Toxicology Letters**, v. 372, p. 25–35, 1 jan. 2023.

MAVROMMATIS, A. et al. Impact of mycotoxins on animals' oxidative status. **Antioxidants**, 1 fev. 2021.

MISHRA, B.; JHA, R. Oxidative stress in the poultry gut: Potential challenges and interventions. **Frontiers in Veterinary Science**. Frontiers Media S., 2019.

OAKES, K. D.; VAN DER KRAAK, G. J. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. **Aquatic Toxicology**, v. 63, n. 4, p. 447–463, 29 maio 2003.

PARAPOULI, M. et al. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. **AIMS Microbiology**, 2020.

PEIVASTEHR-ROUDSARI, L. et al. Mycotoxins: Impact on Health and Strategies for Prevention and Detoxification in the Food Chain. **Food Reviews International**, 2022.

PEREIRA, C. S.; CUNHA, S. C.; FERNANDES, J. O. Prevalent mycotoxins in animal feed: Occurrence and analytical methods. **Toxins**, 1 maio 2019.

PINOTTI, L. et al. Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain: A focus on Cereal Byproducts. **Toxins**, 1 fev. 2016.

PIOTROWSKA, M. Microbiological decontamination of mycotoxins: Opportunities and limitations. **Toxins**, 1 nov. 2021.

QU, L. et al. Toxic Mechanism and Biological Detoxification of Fumonisin. **Toxins**, 1 mar. 2022.

RIAHI, I. et al. Biomarkers of Deoxynivalenol Toxicity in Chickens with Special Emphasis on Metabolic and Welfare Parameters. **Toxins**, 1 mar. 2021.

RILEY, R. T.; MERRILL, A. H. Ceramide synthase inhibition by fumonisins: A perfect storm of perturbed sphingolipid metabolism, signaling, and disease. **Journal of Lipid Research**. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc, 2019.

RILEY, R. T.; WANG, E.; MERRILL, A. H. Liquid Chromatographic Determination of Sphingamine and Sphingosine: Use of the Free Sphinganine-to-Sphingosine Ratio as a Biomarker for Consumption of Fumonisins. **Journal of aoac international**. 1994.

ROCK, C. L. et al. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients. **Journal of the american dietetic association**, v. 96, n. 7, p. 693–702, jul. 1996.

SANTOS, R. R. et al. Susceptibility of broiler chickens to deoxynivalenol exposure via artificial or natural dietary contamination. **Animals**, v. 11, n. 4, 1 abr. 2021.

SHANMUGASUNDARAM, R. et al. Subclinical doses of dietary fumonisins and deoxynivalenol cause cecal microbiota dysbiosis in broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023.

SKIEPKO, N. et al. Effects of deoxynivalenol and zearalenone on the histology and ultrastructure of pig liver. **Toxins**, v. 12, n. 7, 1 jul. 2020.

SOUSA, M. C. S. et al. Fumonisin-(*Fusarium verticillioides*)-contaminated feed causes hepatic oxidative stress and negatively affects broiler performance in the early stage: Does supplementation with açai flour residues (*Euterpe oleracea*) minimize these problems? **Microbial Pathogenesis**, v. 146, 1 set. 2020a.

SOUSA, M. C. S. et al. Pathogenetic effects of feed intake containing of fumonisin (*Fusarium verticillioides*) in early broiler chicks and consequences on weight gain. **Microbial Pathogenesis**, v. 147, 1 out. 2020b.

TARDIEU, D. et al. Fumonisin B1, B2 and B3 in muscle and liver of broiler chickens and Turkey poults fed with diets containing fusariotoxins at the EU maximum tolerable level. **Toxins**, v. 11, n. 10, 11 out. 2019.

TENG, P. Y.; KIM, W. K. Review: Roles of prebiotics in intestinal ecosystem of broilers. **Frontiers in Veterinary Science**, 30 out. 2018.

TIBOLA, C. S.; FERNANDES, J. M. C. **Micotoxinas no Trigo: estratégias de manejo para minimizar a contaminação**. Brasília, DF. 2020.

- WANG, L. et al. Occurrence and quantitative risk assessment of twelve mycotoxins in eggs and chicken tissues in China. **Toxins**, v. 10, n. 11, 16 nov. 2018.
- WANG, X. et al. Fumonisin: Oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro. **Archives of Toxicology**, 29 set. 2015.
- WEAVER, A. C. et al. Meta-analysis of the effects of mycotoxins and yeast cell wall extract supplementation on the performance, livability, and environmental sustainability of broiler production. **Poultry Science**, v. 101, n. 9, 1 set. 2022.
- WOLF, C. E.; BULLERMAN, L. B. Heat and pH Alter the Concentration of Deoxynivalenol in an Aqueous Environment. **Journal of Food Protection**. 1998.
- WU, L. et al. Growth performance, serum biochemical profile, jejunal morphology, and the expression of nutrients transporter genes in deoxynivalenol (DON)- challenged growing pigs. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, 12 dez. 2015.
- YIANNIKOURIS, A. et al. Saccharomyces cerevisiae Cell Wall-Based Adsorbent Reduces Aflatoxin B1 Absorption in Rats. **Toxins**, v. 13, n. 3, 1 mar. 2021.
- YUAN, Q. et al. Fumonisin B1 induces oxidative stress and breaks barrier functions in pig iliac endothelium cells. **Toxins**, v. 11, n. 7, 1 jul. 2019.
- ZHAI, X. et al. Possible Toxic Mechanisms of Deoxynivalenol (DON) Exposure to Intestinal Barrier Damage and Dysbiosis of the Gut Microbiota in Laying Hens. **Toxins**, v. 14, n. 10, 1 out. 2022.

## ANEXO A – COMPROVANTE DO CEUA



**UDESC**  
UNIVERSIDADE  
DO ESTADO DE  
SANTA CATARINA

**LAGES**  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
AGROVETERINÁRIAS

Universidade do Estado de Santa Catarina

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Utilização de um adsorvente composto por parede de levedura e de um composto à base de silimarina em rações para frangos de corte contaminadas com micotoxinas.", protocolada sob o CEUA nº 6577200720 (00 001204), sob a responsabilidade de **Marcel Manente Boiago** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 14/08/2020.

We certify that the proposal "The use of an adsorbent composed of a yeast wall and a compound based on silymarin in diets for broilers contaminated with mycotoxins. ", utilizing 525 Birds (525 males), protocol number CEUA 6577200720 (00 001204), under the responsibility of **Marcel Manente Boiago** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 08/14/2020.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 08/2020 a 10/2020 – Área: Zootecnia

Origem:	Animais provenientes de estabelecimentos comerciais		
Espécie:	Aves	sexo: Machos	idade: 1 a 42 dias N: 525
Linhagem:	Ross	Peso: 45 a 3500 g	

Lages, 17 de julho de 2023

José Cristani  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Pedro Volkmer de Castilhos  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina