

Micotoxicoses em cães e gatos: existem níveis seguros de micotoxinas?

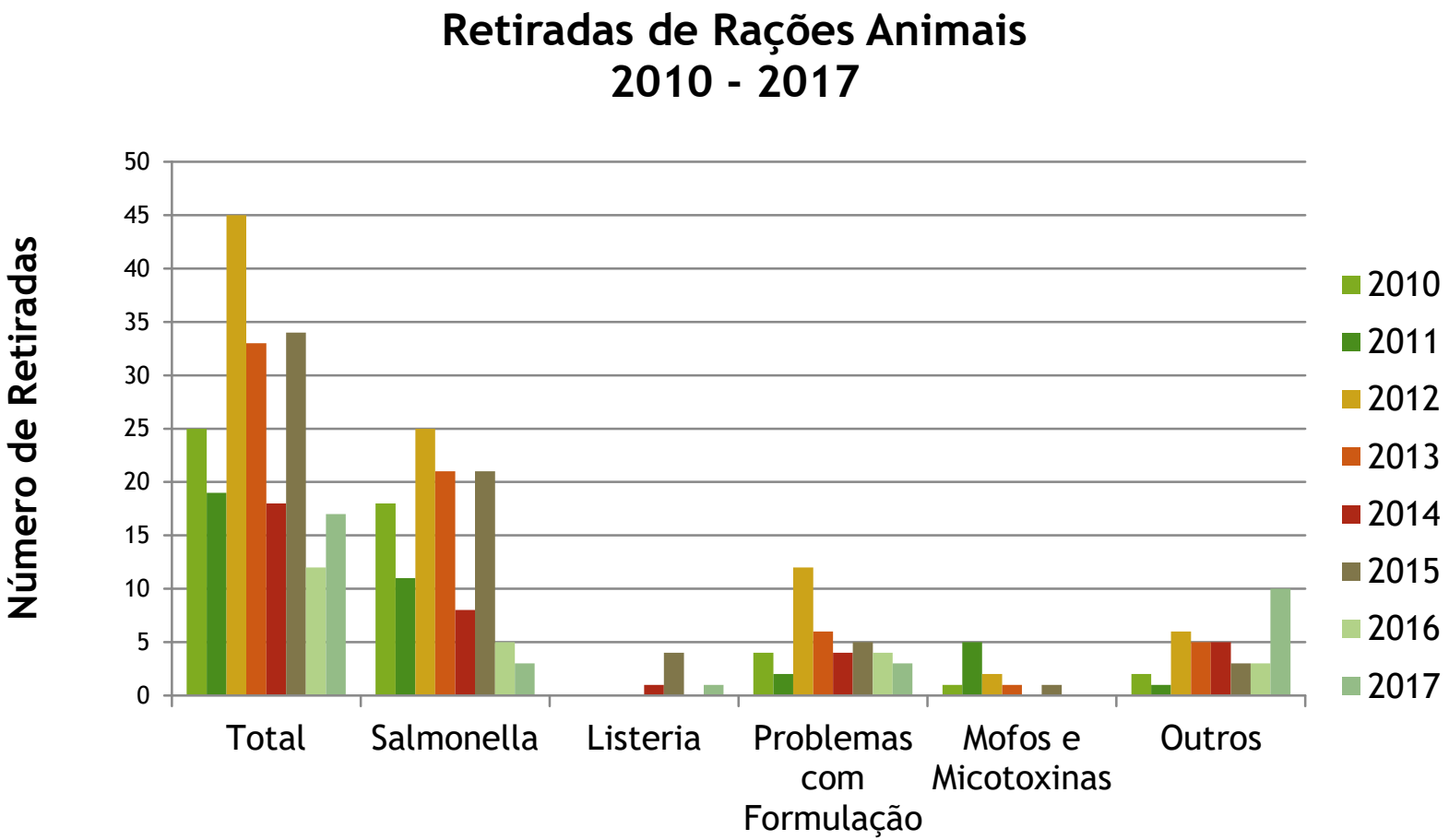
Andreia Bianchini, PhD
Professora Associada
Universidade de Nebraska - Lincoln

Segurança na Produção de Rações

- Problemas com a saúde do animal
  - Baixa reprodução e performance
  - Supressão do crescimento e sistema imune
  - Morte
- Perdas econômicas
  - Perdas e paradas na produção
  - Custo de reparos e modificações
  - Custo de reprocesso
  - Perda de negócios
  - Recall de produto
  - Responsabilidade jurídica
- Danos emocionais
  - Proprietários dos animais, especialmente de estimação



Retiradas de Rações Animais



Fonte: FDA website, Recalls archives

Surtos e Retiradas de Rações Animais

- Diamond Pet Foods, South Carolina - 2005
  - Retirada de 19 variedades de rações para cães e gatos
  - Estimativa de mortes: 100 cães
  - Fonte de contaminação:
    - Milho contaminado com aflatoxinas



Surtos Causados por Rações Animais

Ano/Localidade	Magnitude	Dieta	Nível de Micotoxina	Referência
1951/EUA	71 casos em cães, com várias mortes	Ração comercial produzida com milho contaminado	Desconhecido	Bailey et al., 1959
1986/Georgia (EUA)	20 casos em cães, com 9 mortes	Ração contaminada (farinha de milho e soja, gordura e suplemento mineral)	Aflatoxina B_1 465 µg/Kg Aflatoxina B_2 46 µg/Kg	Liggett et al., 1986
1987/Germany	Morte de 6 filhotes de cães	Leite em pó para filhotes	Ocratoxina A 6.8 µg/Kg	Gareis et al., 1987
1987/Pretoria (África do Sul)	Morte em 10 cães	Ração commercial contaminada	Aflatoxinas 100-300 µg/Kg	Bastianello, 1987
1991/Austria	3 casos em pássaros	Diversos tipos de rações comerciais	Aflatoxina B_1 20 µg/Kg Nivalenol 2 mg/Kg DON 0.3 mg/Kg	Böhm e Hochleithner, 1991
2002/África do Sul	2 casos em cães (vômito e tremores)	Arroz mofado	Penitrem A 2.6 mg/Kg Roquefortina 34 mg/Kg	Naude et al., 2002
2005/EUA	Morte de 100 cães	19 formulações diferentes de rações comerciais	Aflatoxinas 223-579 µg/Kg	Stenske et al., 2006; Newman et al., 2007
2006/Korea	Morte de 3 cães	Nefrotoxinas fúngicas na dieta	Desconhecido	Jeong et al., 2006
2011/Africa do Sul	Morte de 220 cães (estimativa)	Rações de baixo custo	Aflatoxinas (níveis de até 4946 µg/kg)	Arnot et al., 2012

Efeitos Clínicos de Micotoxinas



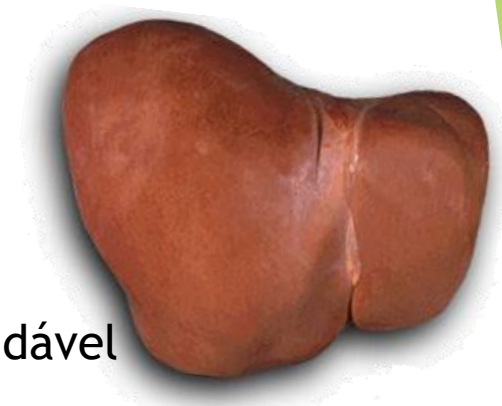
Aflatoxinas

- Principal efeito clínico: danos hepáticos
- Aflatoxina B_1 é a mais tóxica e carcinogênica
- Efeitos agudos (>0.5–1 mg aflatoxina/kg peso corporal (PC))
  - Hemorragia interna
  - Fígado dilatado
  - Coagulação intravascular disseminada
  - Morte em um período de dias

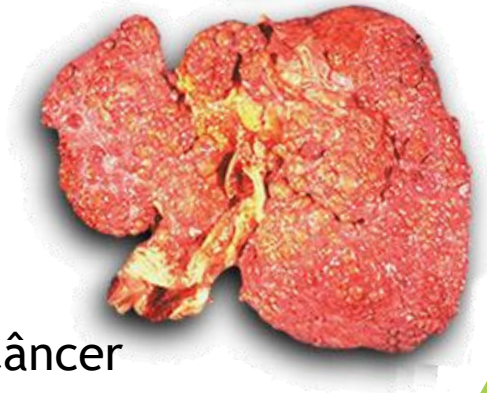


Aflatoxinas

- Efeitos sub-agudos (0.5–1 mg aflatoxin/kg pet food)
  - Anorexia
  - Letargia
  - Icterícia
  - Coagulação intravascular
  - Morte em 2-3 semanas
- Efeitos crônicos (<1 mg aflatoxin B1/kg feed)
  - Hepatocarcinogênico
  - Mutação celular



Saudável



Câncer

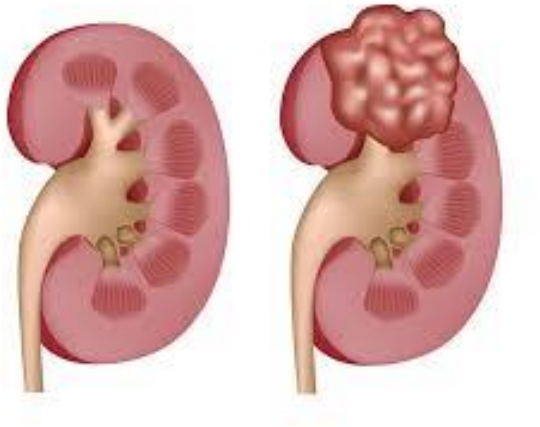
Ocratoxinas

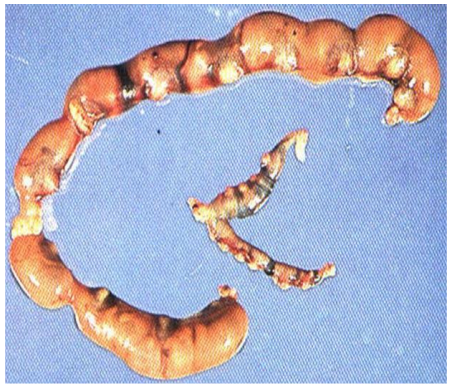
- Principal efeito clínico: danos renais
  - Interrompe a síntese de proteínas e outras vias metabólicas nas células dos túbulos proximais
  - Degeneração dos túbulos proximais e fibrose intersticial
- Ocratoxina A é a mais prevalente
- Ocratoxina C é a mais toxica
- Efeitos agudos:
  - 0.2 mg OTA/kg PC por 2 semanas ou dose única de 7.8 mg OTA/kg PC
  - Anorexia, perda de peso
  - Vômito, diarréia com sangue
  - Febre, desidratação
  - Prostração
  - Morte

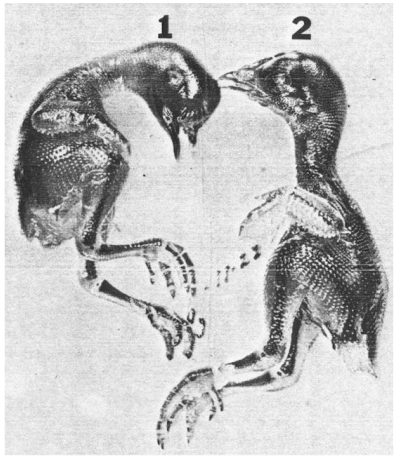


Ocratoxinas

- Efeitos crônicos
  - Tumores renais em modelos animais
  - Mecanismo de ação carcinogênica não é bem definido
- Outros efeitos
  - Embriotóxica
  - Teratogênica







Zearalenona

- Considerada como um desregulador endócrino
  - Hiperestrogenismo e problemas reprodutivos, especialmente em suínos
  - ~1 mg/kg ração pode:
    - Causar infertilidade
    - Afetar a ovulação, concepção e implantação
    - Influenciar o desenvolvimento e a viabilidade do feto

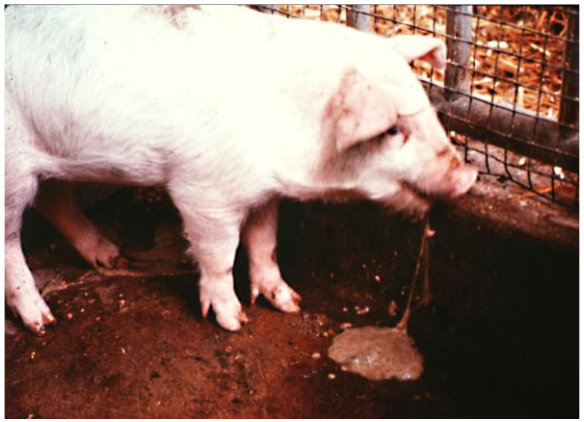


Zearalenona

- Efeitos agudos
  - Cães expostos a 5 mg zearalenona/kg PC/dia por 13 semanas:
    - Macho: espermatogênesis interrompida
    - Fêmea: Número reduzido de corpos lúteos
- Efeitos crônicos
  - Cachorras expostas a 200 µg zearalenona/kg PC/dia por 7 dias:
    - Danos celulares nos ovários
    - Edema e hyperplasia nos ovidutos e útero
  - Cães expostos a 25-50 µg zearalenona/kg PC/dia por 50 dias:
    - Redução no número de anticorpos séricos e glóbulos brancos no sangue

Desoxinivalenol

- Parte de uma classe de micotoxinas inibidoras da síntese protéica e de DNA
  - Interfere com as atividades celulares metabólicas
  - Leva a morte celular
  - Células do sistema immune e gastrointestinal são as mais afetadas
- Sinais clínicos típicos:
  - Falta de apetite
  - Vômito, diarréia
  - Hemorragia gastrointestinal
  - Supressão do sistema imunológico
  - Ataxia



Desoxinivalenol

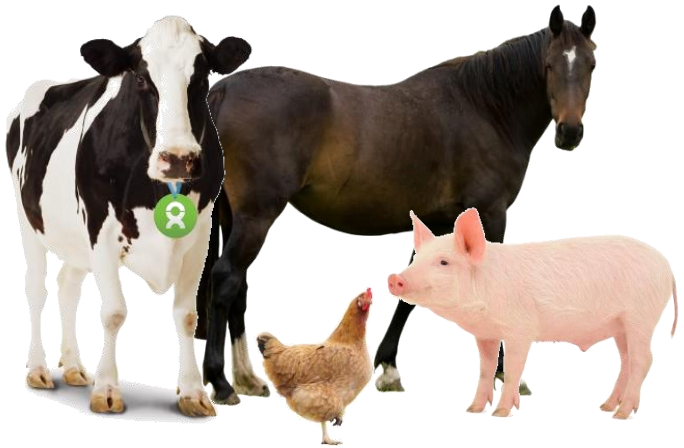
- Efeitos tóxicos
  - Cães e gatos expostos a 4.5 mg DON/kg ração por 2 semanas:
    - Redução significativa no consumo de ração
  - Cães e gatos expostos a 8.0 mg DON/kg ração por 2 semanas:
    - Vômito
  - Gatos mais resistentes que cães





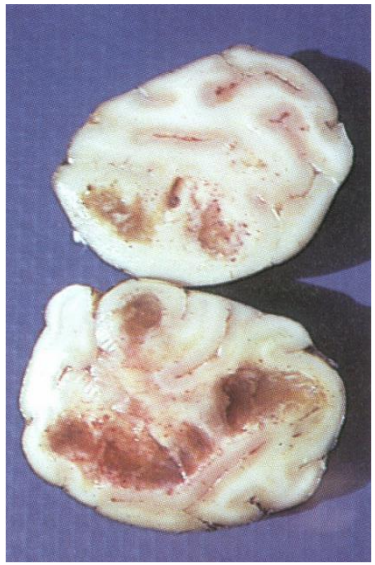
Fumonisinas

- Fumonisina B_1 representa 70% das fumonisinas em alimentos
- Grandes diferenças na susceptibilidade entre espécies
  - Mal absorvidas no intestino
  - Inativadas pela flora microbiana intestinal
- Quando absorvidas:
  - Interferen com o metabolismo dos esfingolipídeos
    - Dano celular, apoptose
    - Necrose
  - Fígado e rins
    - Sensíveis a toxicidade aguda
  - Sistema imunológico
    - Afetado por exposições crônicas



Fumonisinas

- Efeitos tóxicos
  - Coelhos expostos a 1.75 mg FB1/kg PC/dia:
    - Lesões hepáticas e renais
    - Leucoencefalomalacia, hemorragia cerebral
    - Morte
  - Equinos expostos a 5 mg FB1/kg ração:
    - Leucoencefalomalacia
  - Ratos expostos a 32–49 mg FB1/kg ração por 3 semanas:
    - Lesões hepáticas e renais
  - Aves expostas a 200 mg FB1/kg ração por 21 dias:
    - Redução no consumo de ração
    - Redução no ganho de peso



Níveis Seguros de Micotoxinas?



Níveis Seguros de Micotoxinas?

Ingestão Diária Aceitável (IDA)
(µg toxina/ PC em Kg)

÷

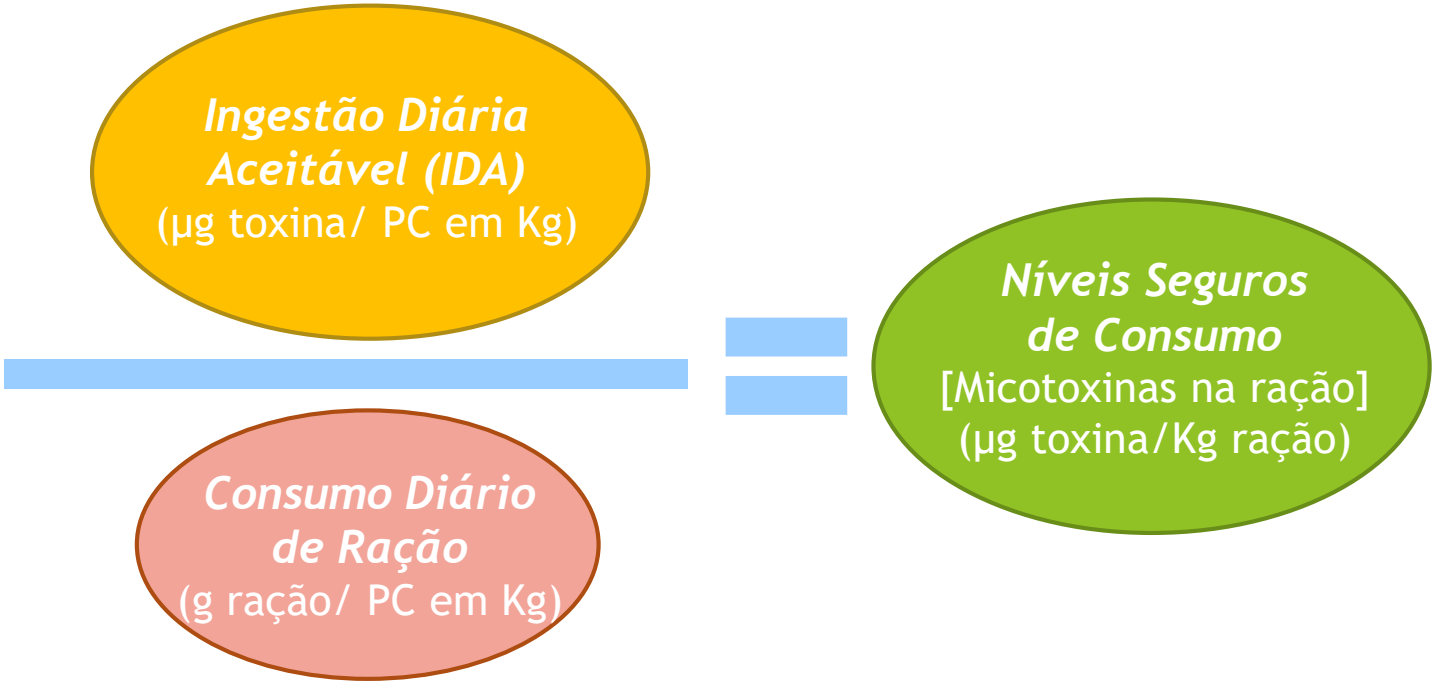
Consumo Diário de Ração
(g ração/ PC em Kg)

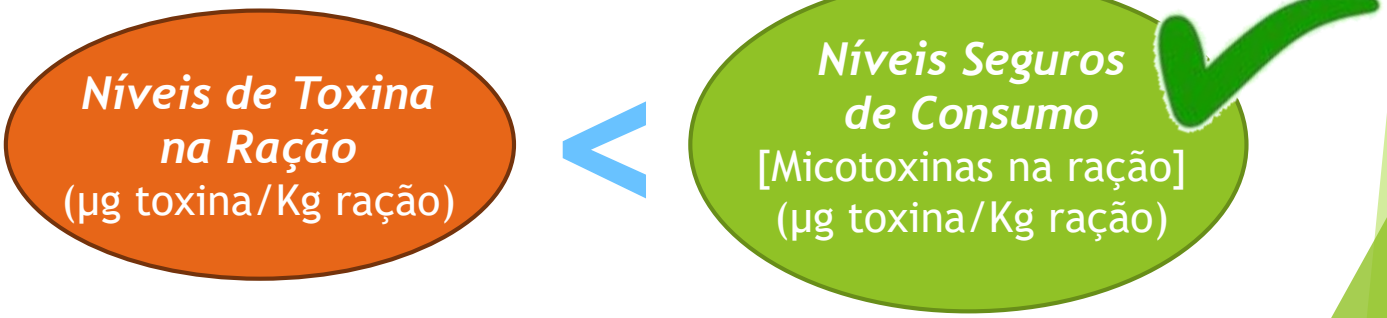
=

Níveis Seguros de Consumo
[Micotoxinas na ração]
(µg toxina/Kg ração)



Níveis Seguros de Micotoxinas?





Níveis Seguros de Micotoxinas?

Ingestão Diária Aceitável (IDA)
(µg toxina/ PC em Kg)

÷

Consumo Diário de Ração
(g ração/ PC em Kg)

=

Níveis Seguros de Consumo
[Micotoxinas na ração]
(µg toxina/Kg ração)

Níveis de Toxina na Ração
(µg toxina/Kg ração)

>

Níveis Seguros de Consumo
[Micotoxinas na ração]
(µg toxina/Kg ração)

Níveis Seguros de Micotoxinas?

Ingestão Diária Aceitável (IDA)
(µg toxina/ PC em Kg)

÷

Consumo Diário de Ração
(g ração/ PC em Kg)

=

Níveis Seguros de Consumo
[Micotoxinas na ração]
(µg toxina/Kg ração)



Ingestão Diária Aceitável

Informação toxicológica ajuda a determinar o risco relativo associado com a exposição às micotoxinas.

A partir de relativamente curtos testes de toxicidade se pode determinar...

DL 50

- ✓ **Dose letal mediana**
- ✓ Indicador de resposta aguda

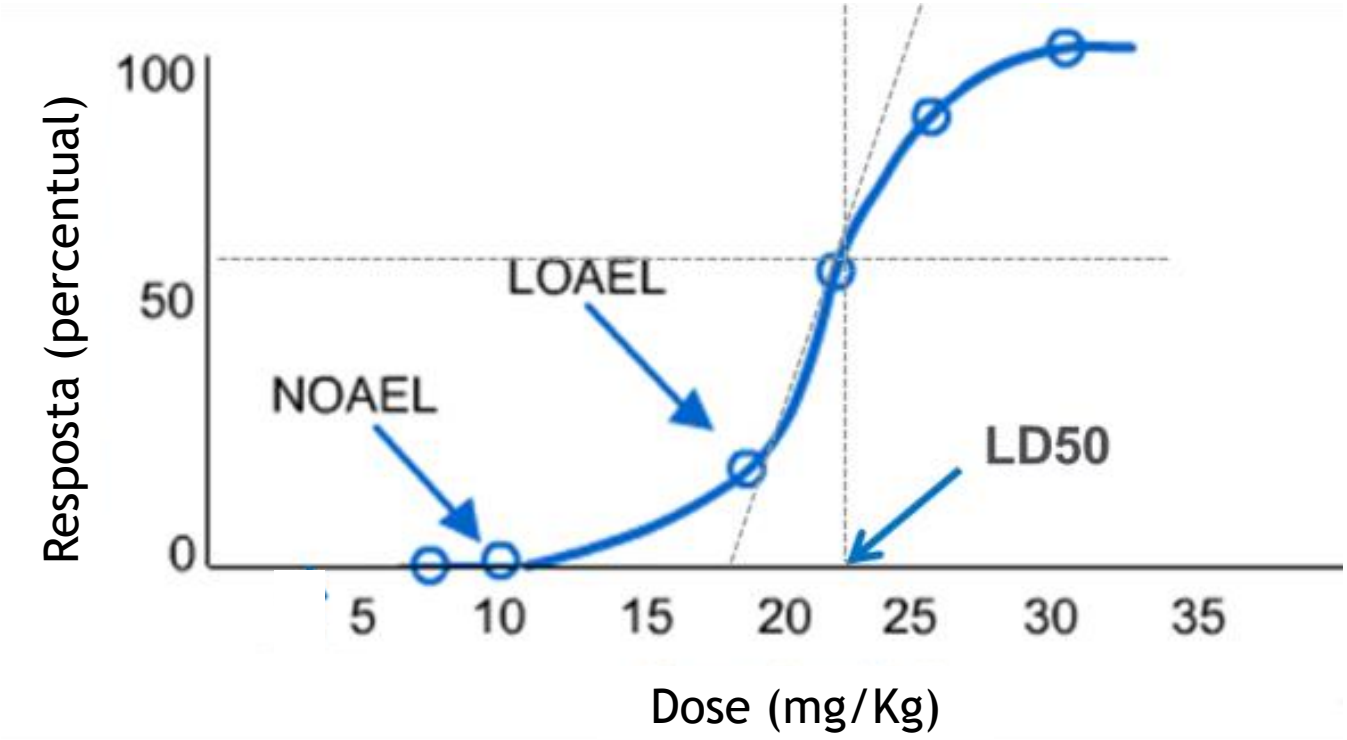
Toxicidade Sub-Crônica

- ✓ Exposição: 90 dias
- ✓ **Nível sem efeitos adversos observados** (NOAEL)
- ✓ Efeitos de doses acima do NOAEL

Toxicidade Crônica

- ✓ Exposição: tempo de vida do animal
- ✓ Doses abaixo do NOAEL
- ✓ Efeitos longo prazo
- ✓ Uma dose deve causar sinais leves de toxicidade
- ✓ LOAEL: Resposta fisiológica leve ou **nível mínimo com efeitos adversos observáveis**

Ingestão Diária Aceitável



Ingestão Diária Aceitável

Micotoxina (FS)	Ingestão Diária Aceitável	
	(ug/ Kg PC)	Referência
Aflatoxina (10)	0.12 µg/kg PC	Boermans e Leung, 2007 (Cães)
Ocratoxina (500)	0.014 µg/kg PC	WHO, 2008 (Humanos)
Zearalenona (80)	0.5 µg/kg PC	WHO, 2000 (Humanos)
Desoxinivalenol (100)	1 µg/kg PC	WHO, 2001 (Humanos)
Fumonisina (100)	2 µg/kg PC	WHO, 2001 (Humanos)

Níveis Seguros de Micotoxinas?

Ingestão Diária Aceitável (IDA)
(µg toxina/ PC em Kg)

Consumo Diário de Ração
(g ração/ PC em Kg)

20 g / Kg peso corporal

=

Níveis Seguros de Consumo
[Micotoxinas na ração]
(µg toxina/Kg ração)

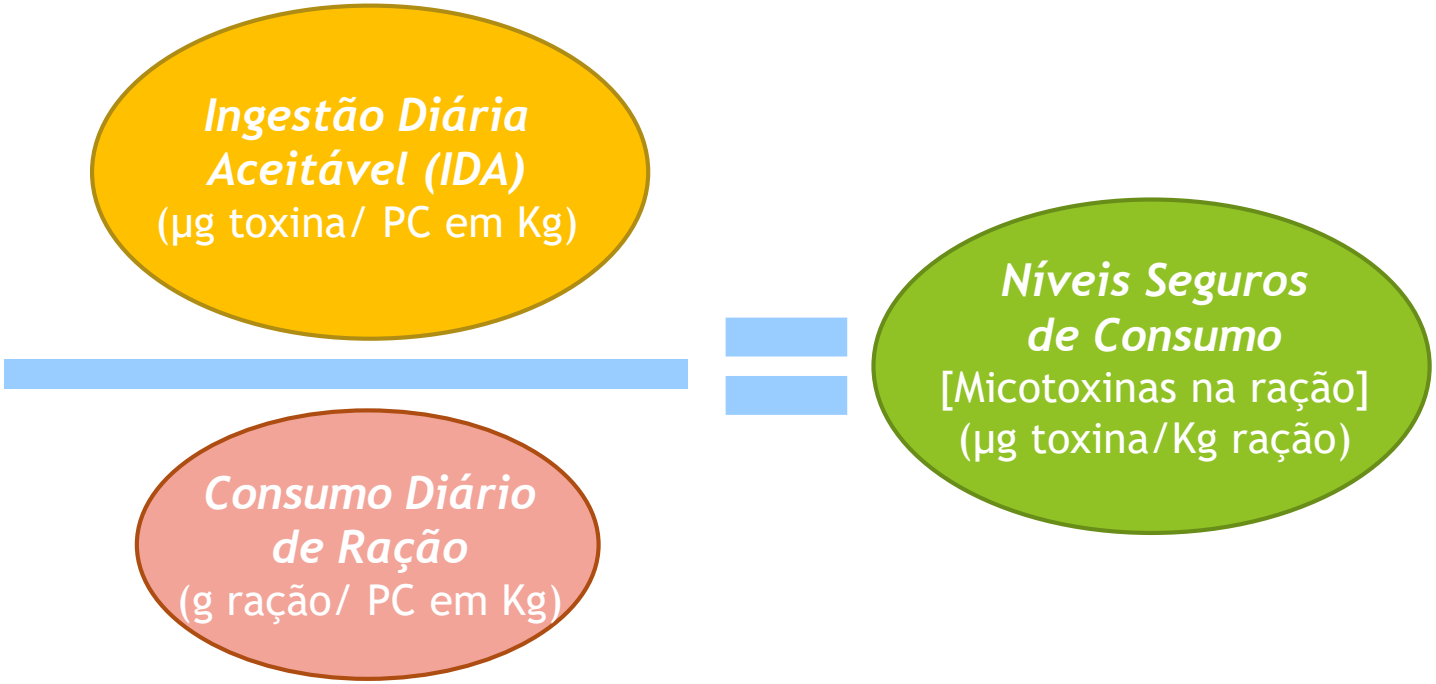


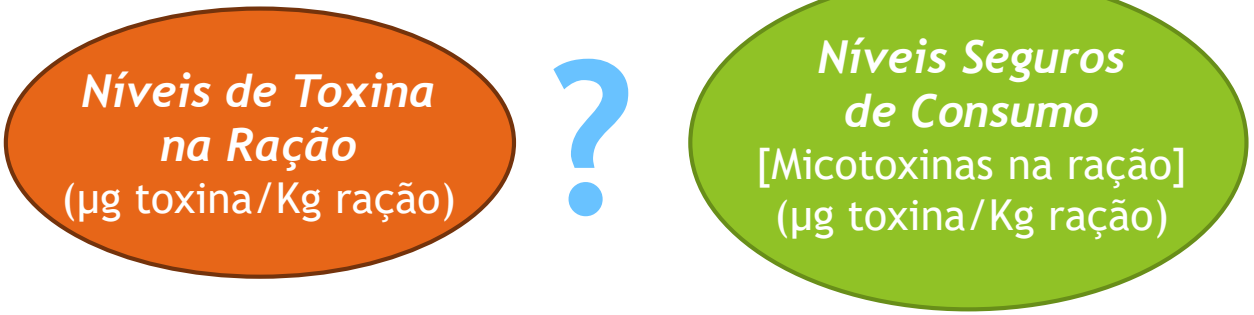
Ingestão Diária Aceitável

Micotoxina (FS)	Ingestão Diária Aceitável		Níveis Seguros de Consumo*
	Valor	Referência	Valor
Aflatoxina (10)	0.12 µg/kg PC	Boermans e Leung, 2007 (Cães)	6 µg/kg ração
Ocratoxina (500)	0.014 µg/kg PC	WHO, 2008 (Humanos)	0.7 µg/kg ração
Zearalenona (80)	0.5 µg/kg PC	WHO, 2000 (Humanos)	25 µg/kg ração
Desoxinivalenol (100)	1 µg/kg PC	WHO, 2001 (Humanos)	50 µg/kg ração
Fumonisina (100)	2 µg/kg PC	WHO, 2001 (Humanos)	100 µg/kg ração

Esses valores foram calculados somente para ilustrar o processo de determinação da ingesta diária aceitável.

Níveis Seguros de Micotoxinas?





Níveis Seguros de Micotoxinas?

Níveis de Toxina nos Ingredientes

+/−



Efeitos do Processamento

=

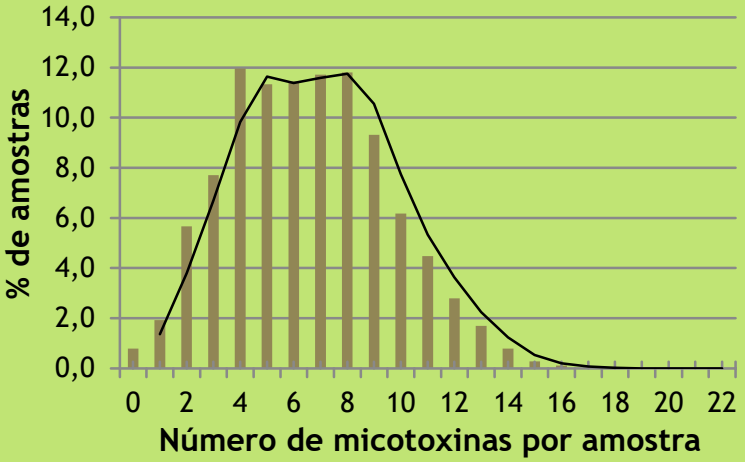
Níveis de Toxina na Ração
(µg toxina/Kg ração)



Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Milho: 2012-2015

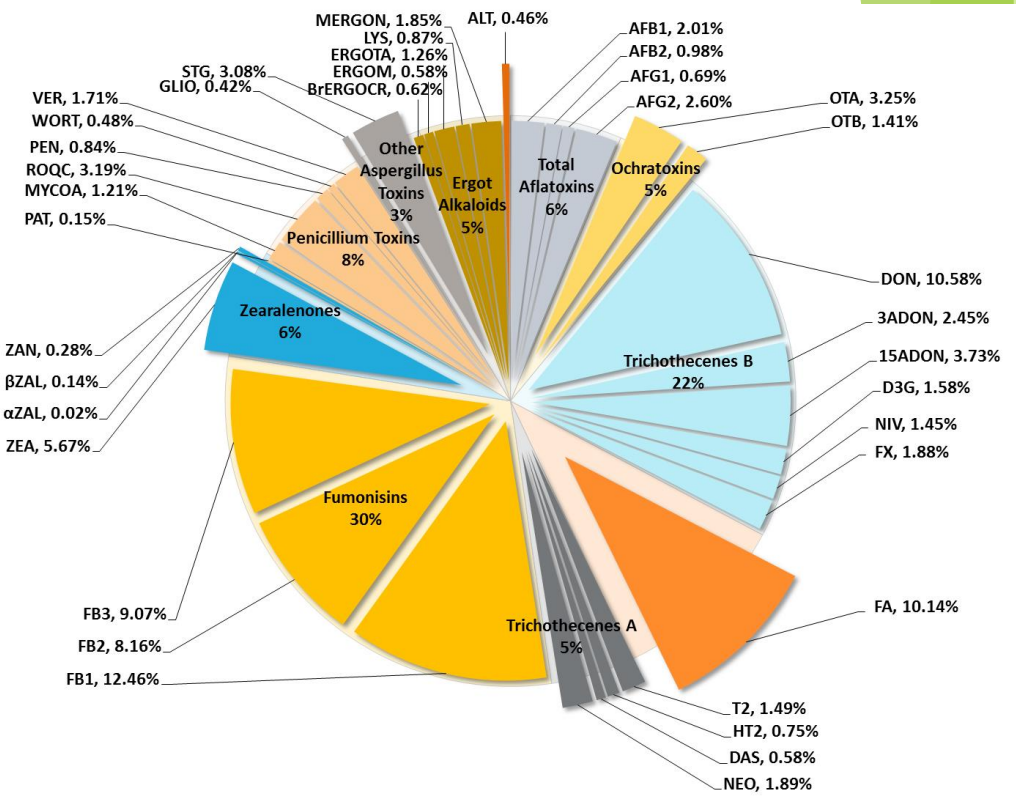
Número de Amostras: **2543**
Em média: **~6.6 toxinas por amostra**
99.2% das amostras apresentou ao menos 1 micotoxina



# Micotoxinas	# Amostras	%
0	20	0.8
1 to 2	193	7.6
3 to 5	788	31.0
6 to 8	889	35.0
9 to 11	508	20.0
12 to 15	141	5.5
over 16	4	0.1

86.0%

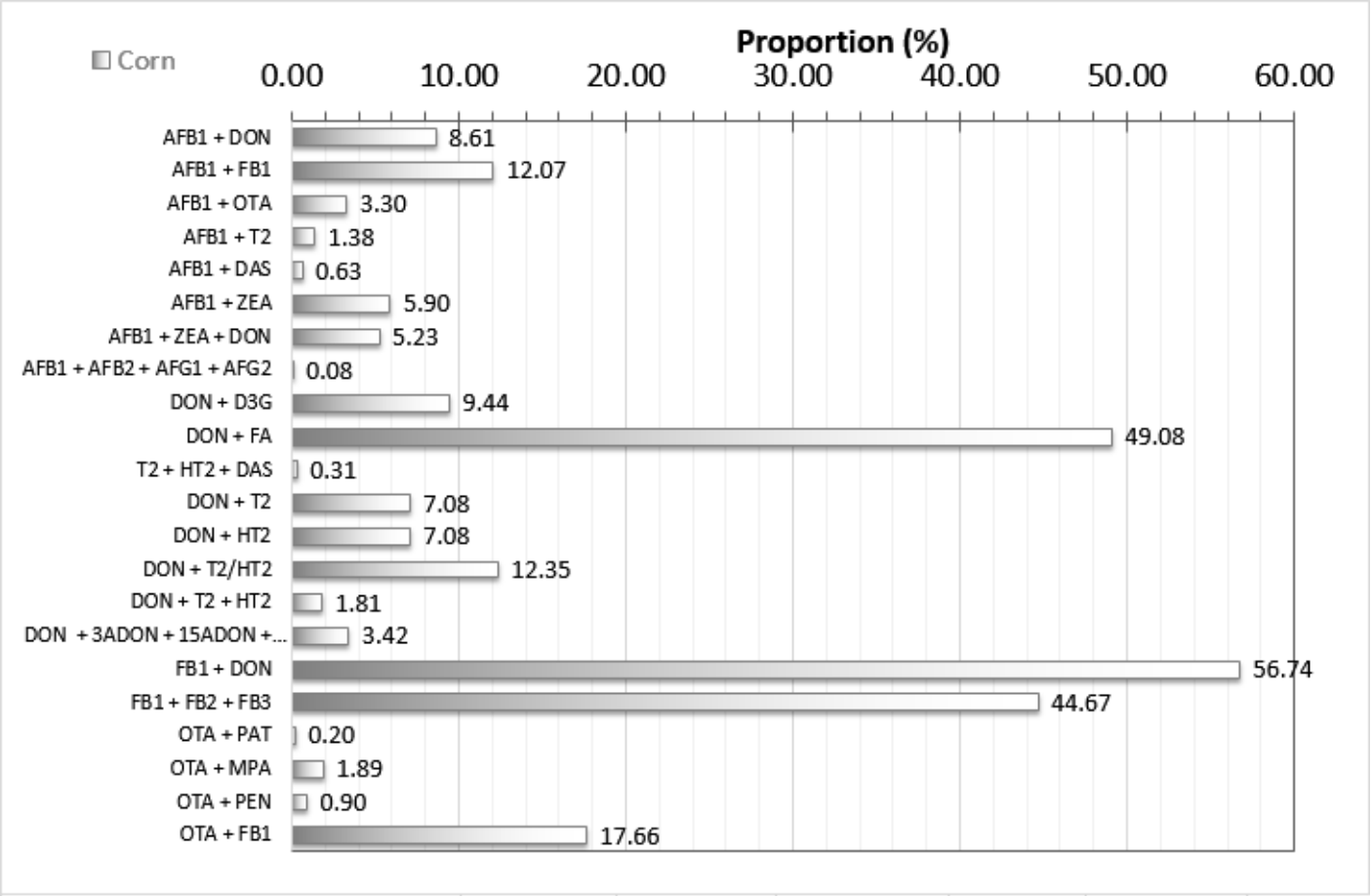
Prevalência de Micotoxinas baseada em sua ocorrência relativa (%)



Cortesia A. Yiannikouris

Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Milho: 2012-2015



Cortesia A. Yiannikouris

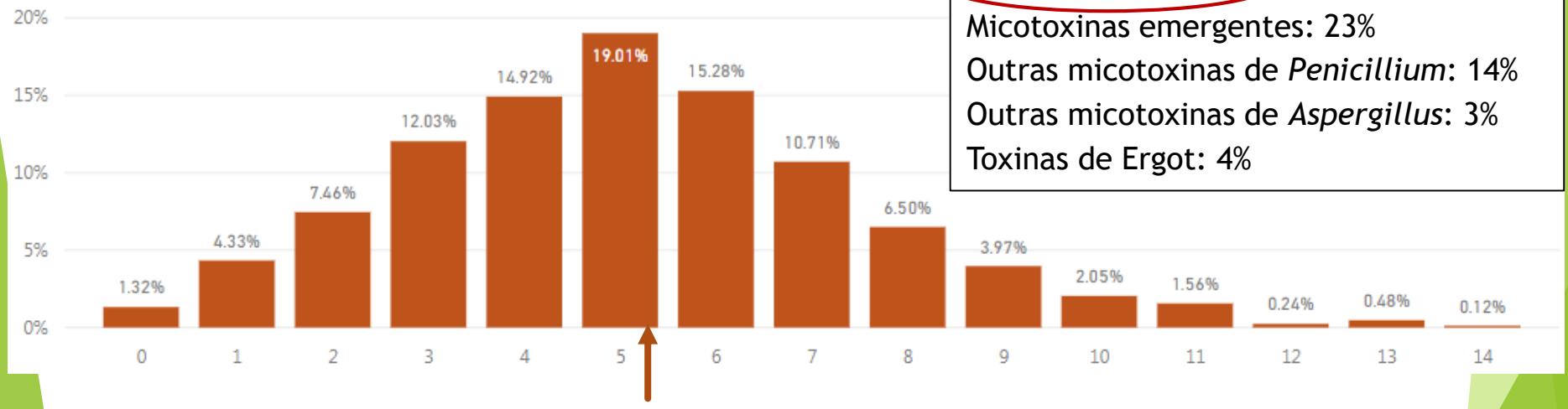
Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Milho: 2017/2018

Ocorrência de Micotoxinas

Aflatoxina B_1: 6%
Aflatoxinas: 9%
Ocratoxinas/Citrinina: 3%
Tricotecenos (Tipo B): 72%
Tricotecenos (Tipo A): 17%
Fumonisinas: 81%
Zearalenona: 10%
Ácido fusárico: 80%
Micotoxinas emergentes: 23%
Outras micotoxinas de *Penicillium*: 14%
Outras micotoxinas de *Aspergillus*: 3%
Toxinas de Ergot: 4%

Número de Micotoxinas por Amostra



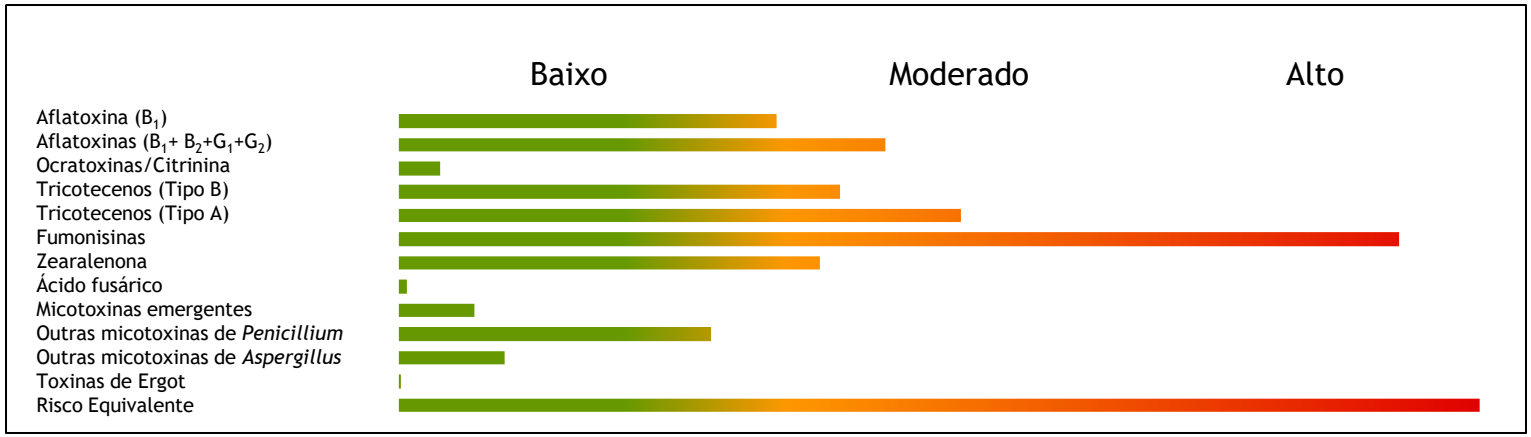
Abril, 2017 a Abril, 2018; Número de amostras = 831
Analizadas por Alltech 37+

Cortesia A. Yiannikouris

Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Milho: 2017/2018

Micotoxinas	Nível, ppb	Baixo	Moderado	Alto
Aflatoxina (B_1)	7	5	10	20
Aflatoxinas (B_1+ B_2+G_1+G_2)	9	5	10	20
Ocratoxinas/Citrinina	2	10	25	50
Tricotecenos (Tipo B)	613	500	1000	1500
Tricotecenos (Tipo A)	52	25	50	100
Fumonisinas	3692	1000	2000	4000
Zearalenona	39	25	50	100
Ácido fusárico	29	1000	2000	3000
Micotoxinas emergentes	215	1000	2000	3000
Outras toxinas de *Penicillium*	29	25	50	100
Outras toxinas de *Aspergillus*	8	20	40	80
Toxinas de Ergot	2	200	350	500



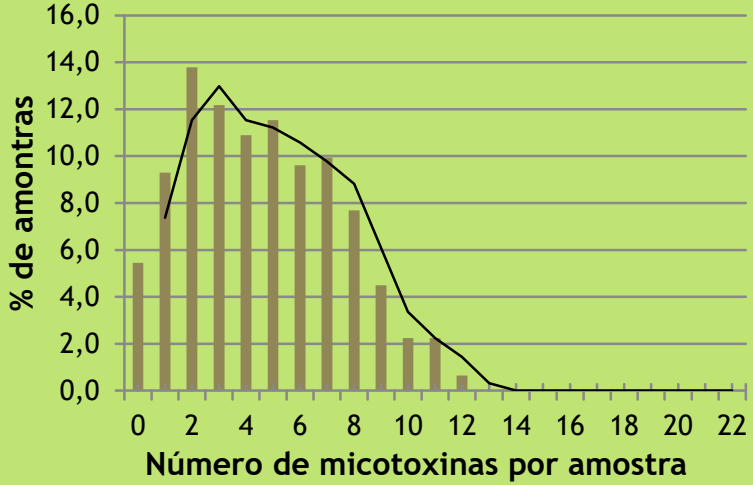
Cortesia A. Yiannikouris

Abril, 2017 a Abril, 2018; Número de amostras = 831
Analizadas por Alltech 37+

Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Soja: 2012-2015

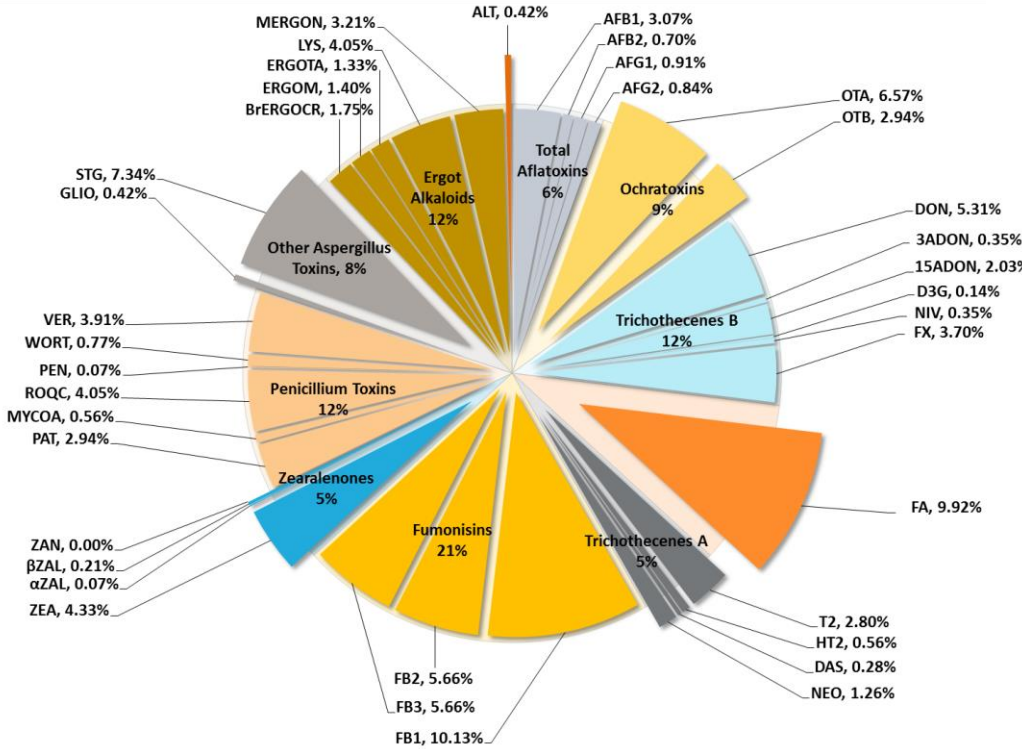
Número de Amostras: **312**
Em média: **~4.6 toxinas por amostra**
94.6% das amostras apresentou ao menos 1 micotoxina



# Micotoxinas	# Amostras	%
0	17	5.4
1 to 2	72	23.1
3 to 5	108	34.6
6 to 8	85	27.2
9 to 11	28	9.0
12 to 15	2	0.6
over 16	0	0.1

70.8%

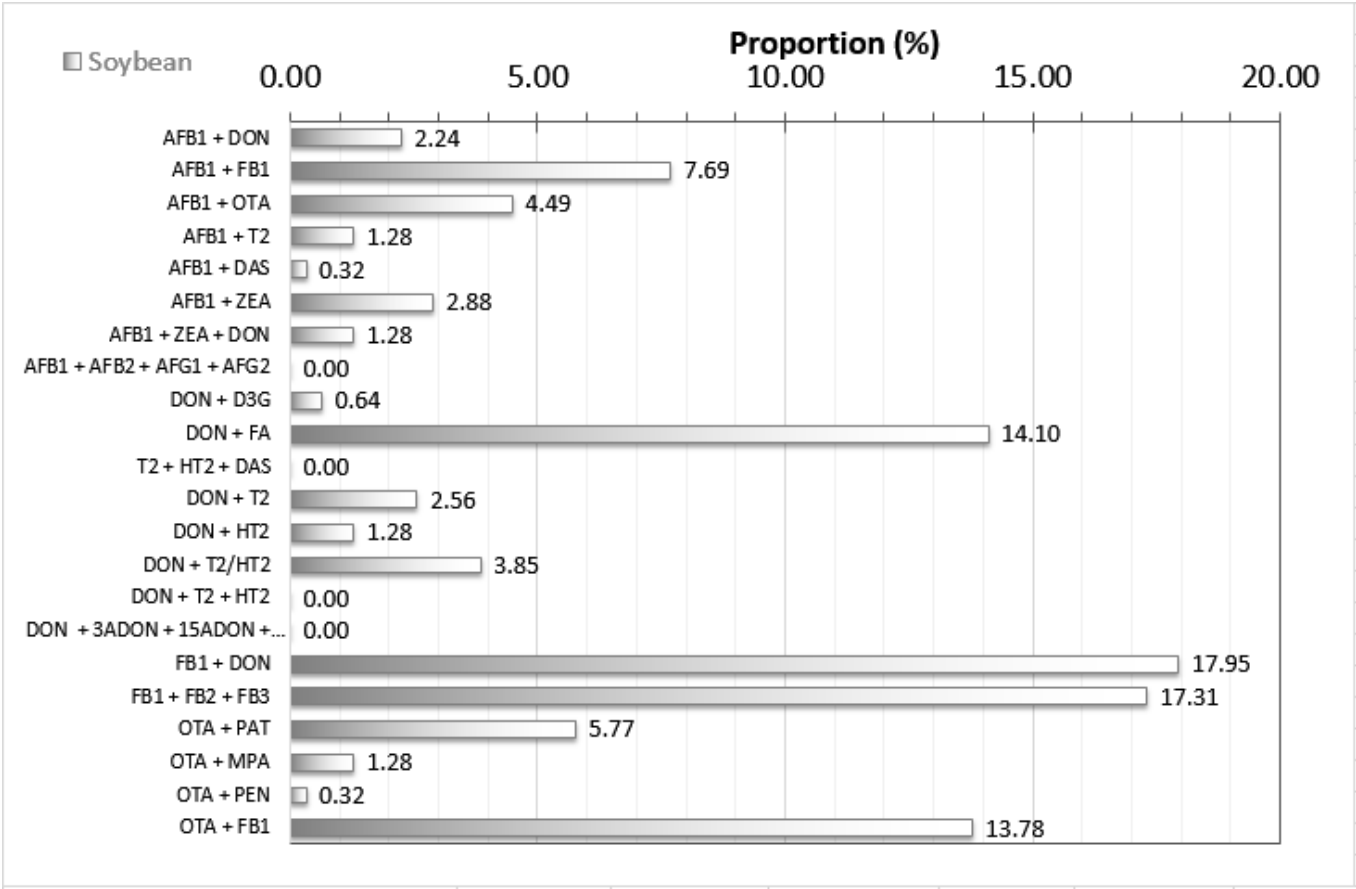
Prevalência de Micotoxinas baseada em sua ocorrência relativa (%)



Cortesia A. Yiannikouris

Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Soja: 2012-2015



Cortesia A. Yiannikouris

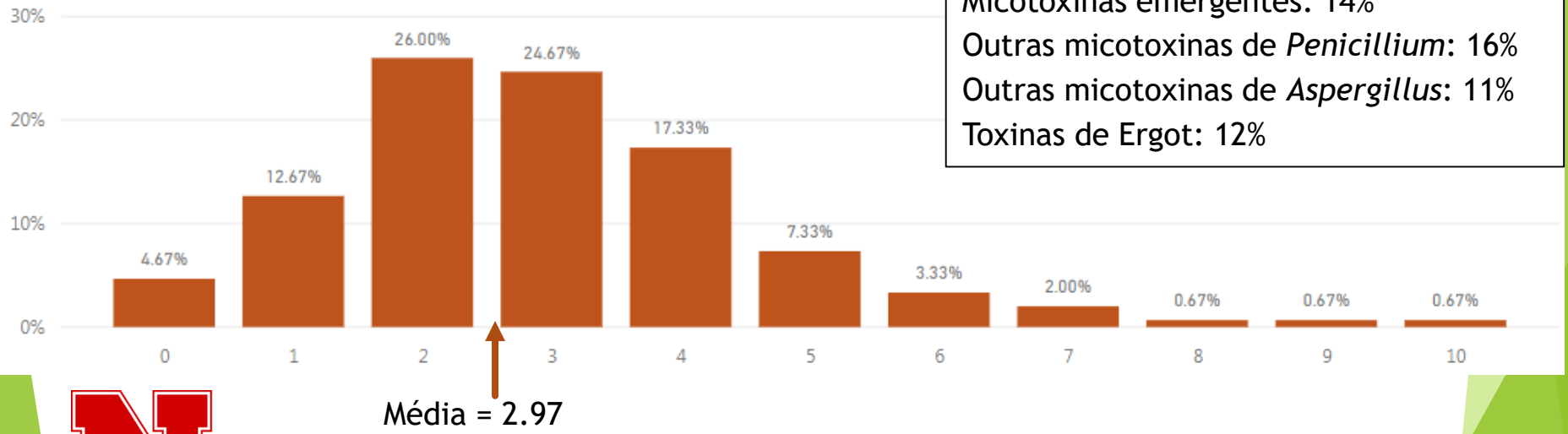
Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Soja/Farinha de Soja: 2017/2018

Ocorrência de Micotoxinas

Aflatoxina B_1: 3%
Aflatoxinas: 16%
Ocratoxinas/Citrinina: 13%
Tricotecenos (Tipo B): 24%
Tricotecenos (Tipo A): 44%
Fumonisinas: 49%
Zearalenona: 8%
Ácido fusárico: 45%
Micotoxinas emergentes: 14%
Outras micotoxinas de *Penicillium*: 16%
Outras micotoxinas de *Aspergillus*: 11%
Toxinas de Ergot: 12%

Número de Micotoxinas por Amostra



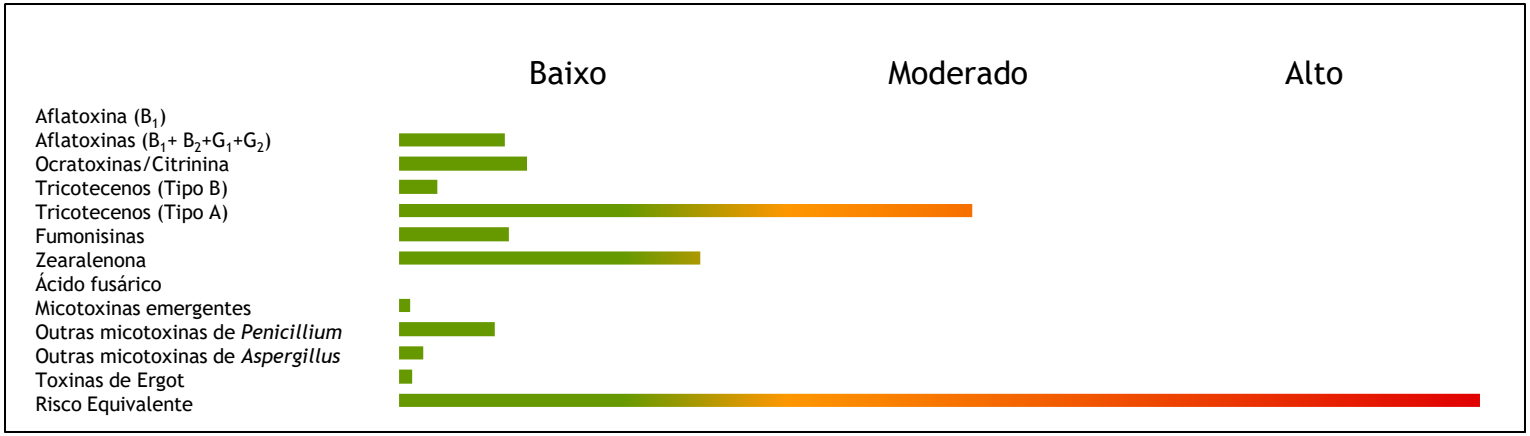
Cortesia A. Yiannikouris

Abril, 2017 a Abril, 2018; Número de amostras = 150
Analizadas por Alltech 37+

Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Soja/Farinha de Soja: 2017/2018

Micotoxinas	Nível, ppb	Baixo	Moderado	Alto
Aflatoxina (B_1)	-	5	10	20
Aflatoxinas (B_1+ B_2+G_1+G_2)	2	5	10	20
Ocratoxinas/Citrinina	6	10	25	50
Tricotecenos (Tipo B)	56	500	1000	1500
Tricotecenos (Tipo A)	53	25	50	100
Fumonisinas	413	1000	2000	4000
Zearalenona	28	25	50	100
Ácido fusárico	1	1000	2000	3000
Micotoxinas emergentes	37	1000	2000	3000
Outras toxinas de *Penicillium*	9	25	50	100
Outras toxinas de *Aspergillus*	2	20	40	80
Toxinas de Ergot	7	200	350	500



Cortesia A. Yiannikouris

Abril, 2017 a Abril, 2018; Número de amostras = 150
Analizadas por Alltech 37+

Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

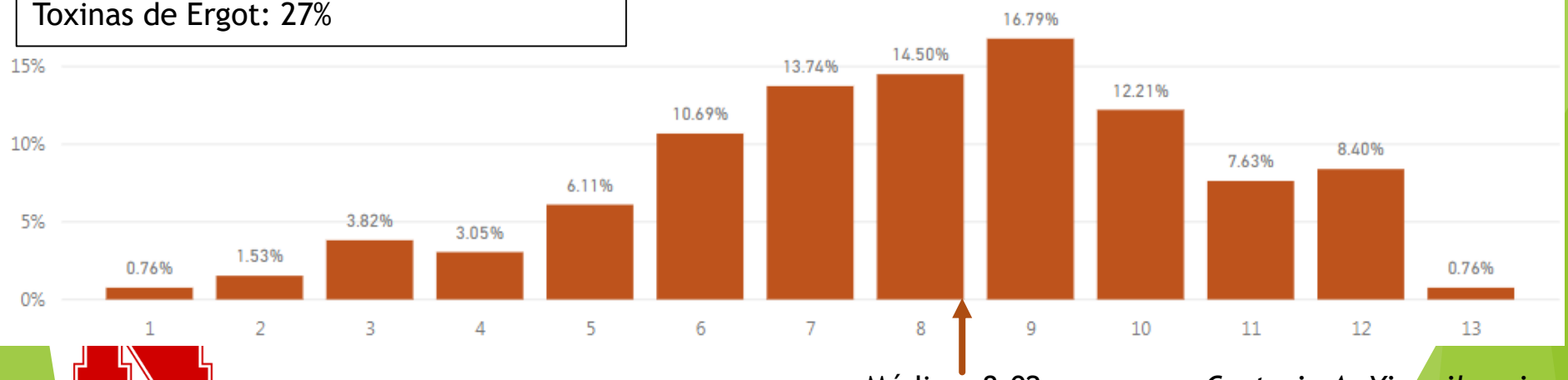
Ocorrência de Micotoxinas

Aflatoxina B_1: 3%
Aflatoxinas: 11%
Ocratoxinas/Citrinina: 9%
Tricotecenos (Tipo B): 95%
Tricotecenos (Tipo A): 57%
Fumonisinas: 91%
Zearalenona: 17%
Ácido fusárico: 93%
Micotoxinas emergentes: 23%
Outras micotoxinas de *Penicillium*: 45%
Outras micotoxinas de *Aspergillus*: 7%
Toxinas de Ergot: 27%

DDGS: 2017/2018

Abril, 2017 a Abril, 2018; Número de amostras = 131
Analizadas por Alltech 37+

Número de Micotoxinas por Amostra

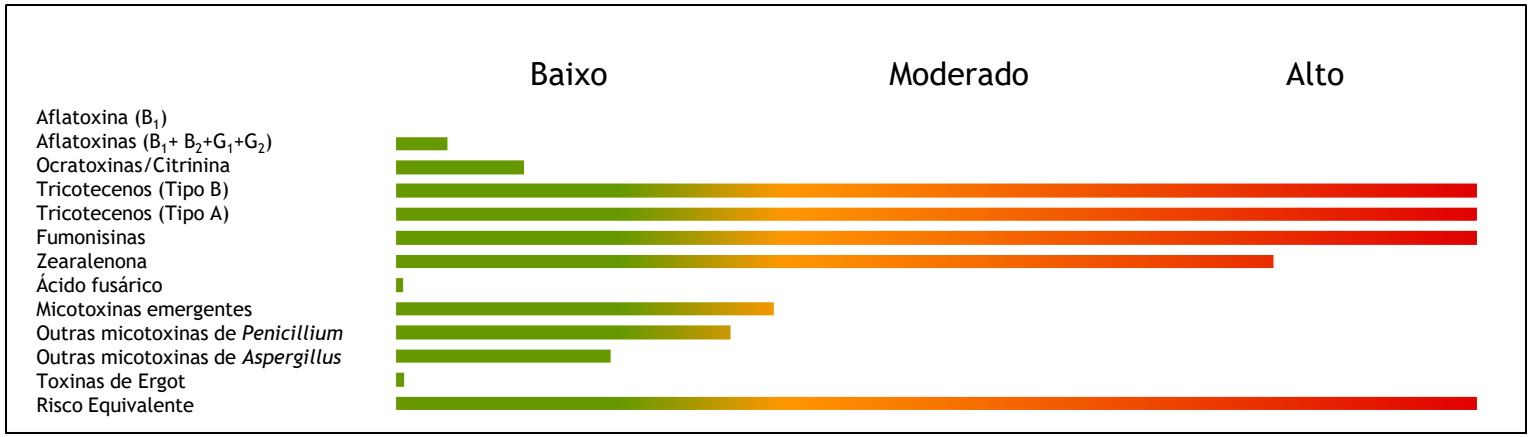


Cortesia A. Yiannikouris

Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

DDGS: 2017/2018

Micotoxinas	Nível, ppb	Baixo	Moderado	Alto
Aflatoxina (B_1)	-	5	10	20
Aflatoxinas (B_1+ B_2+G_1+G_2)	1	5	10	20
Ocratoxinas/Citrinina	6	10	25	50
Tricotecenos (Tipo B)	2912	500	1000	1500
Tricotecenos (Tipo A)	148	25	50	100
Fumonisinas	7404	1000	2000	4000
Zearalenona	81	25	50	100
Ácido fusárico	26	1000	2000	3000
Micotoxinas emergentes	1050	1000	2000	3000
Outras toxinas de *Penicillium*	31	25	50	100
Outras toxinas de *Aspergillus*	16	20	40	80
Toxinas de Ergot	5	200	350	500



Cortesia A. Yiannikouris

Abril, 2017 a Abril, 2018; Número de amostras = 131
Analizadas por Alltech 37+

Ocorrência de Micotoxinas em Ingredientes

Tabela 1: Porcentagem de Amostras Contaminadas por Grupos de Micotoxinas

Ingrediente	arroz	feijao	glutem milho	milho brasil	milho mundo	polpa beterraba	soja brasil	soja mundo	sorgo mundo	trigo mundo
Micotoxinas/Amostras	21,00	4,00	32,00	143,00	1.726,00	14,00	6,00	284,00	29,00	516,00
Afaltoxina B1	10,00	-	9,00	3,00	6,00	29,00	-	11,00	7,00	3,00
Aflatoxinas Total	29,00	50,00	25,00	4,00	11,00	36,00	17,00	20,00	14,00	6,00
Ocratoxinas	10,00	-	25,00	16,00	8,00	7,00	-	14,00	24,00	13,00
Tricotecenos B	52,00	100,00	81,00	28,00	63,00	50,00	-	36,00	21,00	50,00
Acido Fusarico	52,00	25,00	91,00	66,00	71,00	64,00	83,00	54,00	52,00	16,00
Tricotecenos A	19,00	25,00	28,00	7,00	11,00	7,00	50,00	33,00	3,00	9,00
Fumonisinas	52,00	-	78,00	85,00	73,00	36,00	33,00	30,00	31,00	32,00
Zearalenona	24,00	-	59,00	19,00	25,00	43,00	-	24,00	7,00	18,00
Outros Penicilliums	5,00	50,00	31,00	6,00	20,00	36,00	-	18,00	14,00	18,00
Outros Aspergillus	10,00	-	-	2,00	4,00	21,00	-	8,00	7,00	4,00
Toxinas de ergot	19,00	25,00	28,00	10,00	20,00	43,00	17,00	19,00	10,00	16,00

Tabela 2: Niveis de Micotoxinas por Amostra (ppb)

Ingrediente micotoxinas	arroz	feijão	glutem milho	milho brasil	milho mundo	polpa beterraba	soja brasil	soja mundo	sorgo mundo	trigo mundo
Aflatoxina B1	13,50	-	20,70	7,00	30,60	17,60	-	9,00	20,20	4,50
Aflatoxinas totais	22,00	14,20	18,30	6,00	23,00	15,30	2,60	10,00	12,60	4,10
ocratoxinas	18,60	-	6,60	45,00	11,80	1,60	-	20,00	13,00	4,20
Tricotecenos B	618,00	431,10	2.057,00	141,00	767,60	1.068,60	-	376,00	373,60	923,20
Acido Fusarico	79,60	7,30	931,80	339,00	225,50	62,90	169,00	196,00	385,20	147,60
Tricotecenos A	47,60	68,40	319,00	21,00	69,10	15,30	84,10	47,00	4,00	45,40
Fumonisina	440,10	-	3.870,00	4.266,00	2.369,80	1.729,20	404,50	973,00	232,20	819,70
Zearalenonas	281,90	-	519,20	69,00	153,80	166,80	-	111,00	63,40	108,40
Micotoxinas Penicillium	251,70	18,70	47,00	107,00	51,20	34,00	-	13,00	124,20	37,30
Micotoxins Aspergillus	12,00	-	-	9,00	63,60	20,50	-	79,00	117,90	197,40
Toxinas de Ergot	25,80	2,30	21,60	21,00	22,40	20,90	13,60	21,00	14,20	62,00

Cortesia Alltech do Brasil

Efeitos do Processamento

- Limpeza de grãos:
  - Remoção de grãos mofados e quebrados
  - Remoção de grãos afetados por fusariose em trigo e cevada

    ↓ DON: 5.5 – 19%
  - Limpeza no milho: ↓ Fumonisina entre 26 e 69%
  - Limpeza no trigo: ↓ DON entre 0 e 78%
  - Retirada de grãos, sementes ou nozes mofados:

    ↓ Aflatoxin: 40-80%



Efeitos do Processamento

- Seleção de grãos:
  - Uso de um classificador de alta velocidade por duplo comprimento de onda (750 e 1200 nm)

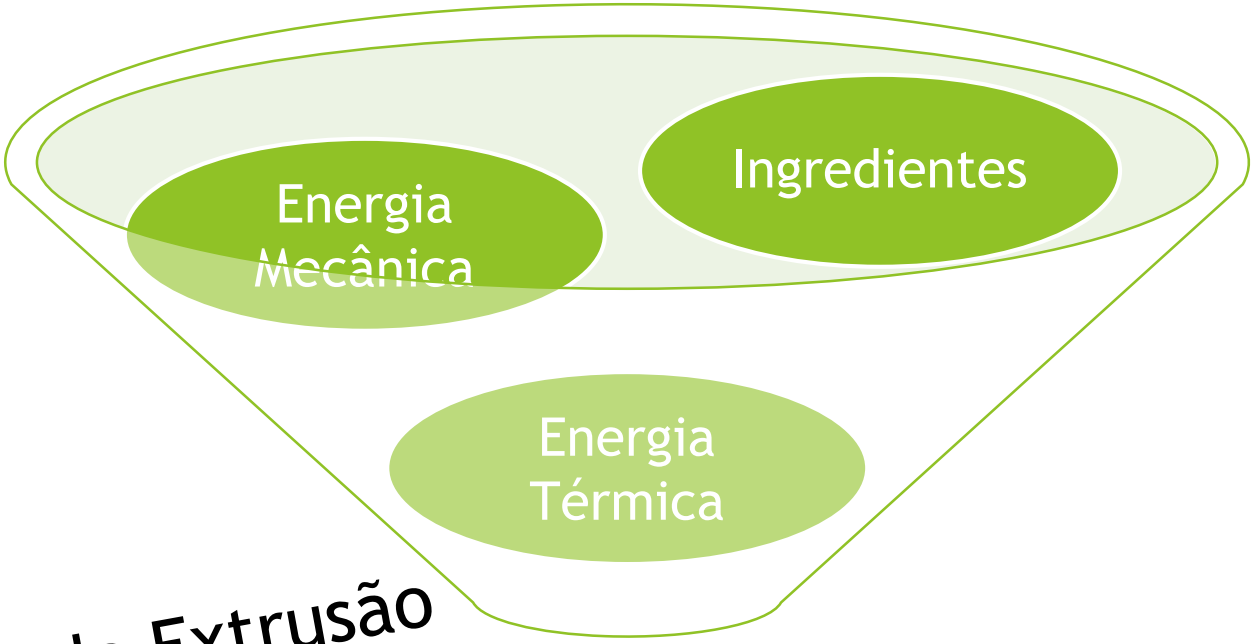
Milho	Fração Removida	Redução de Micotoxinas após a Classificação %	
		Aflatoxina	Fumonisina
Previamente limpo	LT	83.2	82.0
	HT	84.1	91.9
Sem limpeza	LT	79.1	80.8
	HT	77.4	90.7

LT, low threshold (classificador configurado para remover 5% da amostra de grãos)

HT, high threshold (classificador configurado para remover 10% da amostra de grãos)

Pearson *et al.*, 2004

Efeitos do Processamento

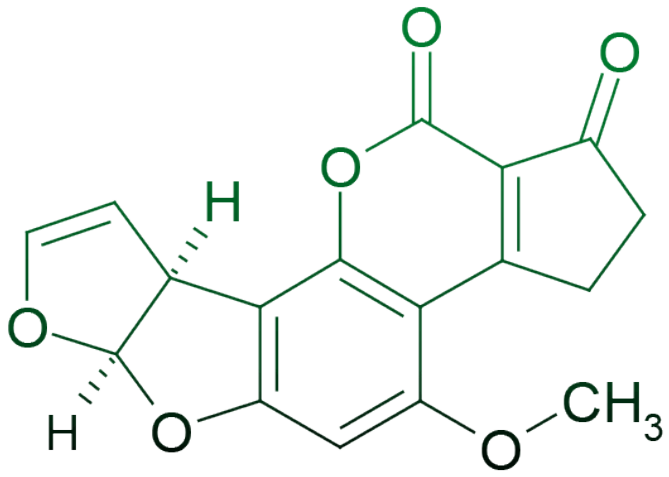


Processo de Extrusão

Temperatura: 107-163˚C
Pressão: 50 psi
Modificações fisico-químicas
Expansão do produto

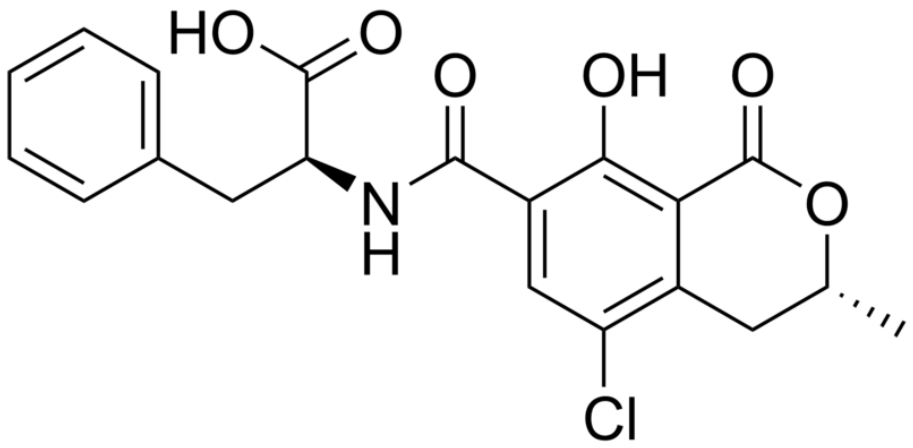
Efeitos do Processamento

- Extrusão - Aflatoxinas:
  - Dependente da presença/ausência:
    - Aditivos
    - Conteúdo de umidade
    - Temperatura
  - Redução de 50-80%
  - Adição de amônia (hidroxido ou carbonato): >95% ↓ Aflatoxina



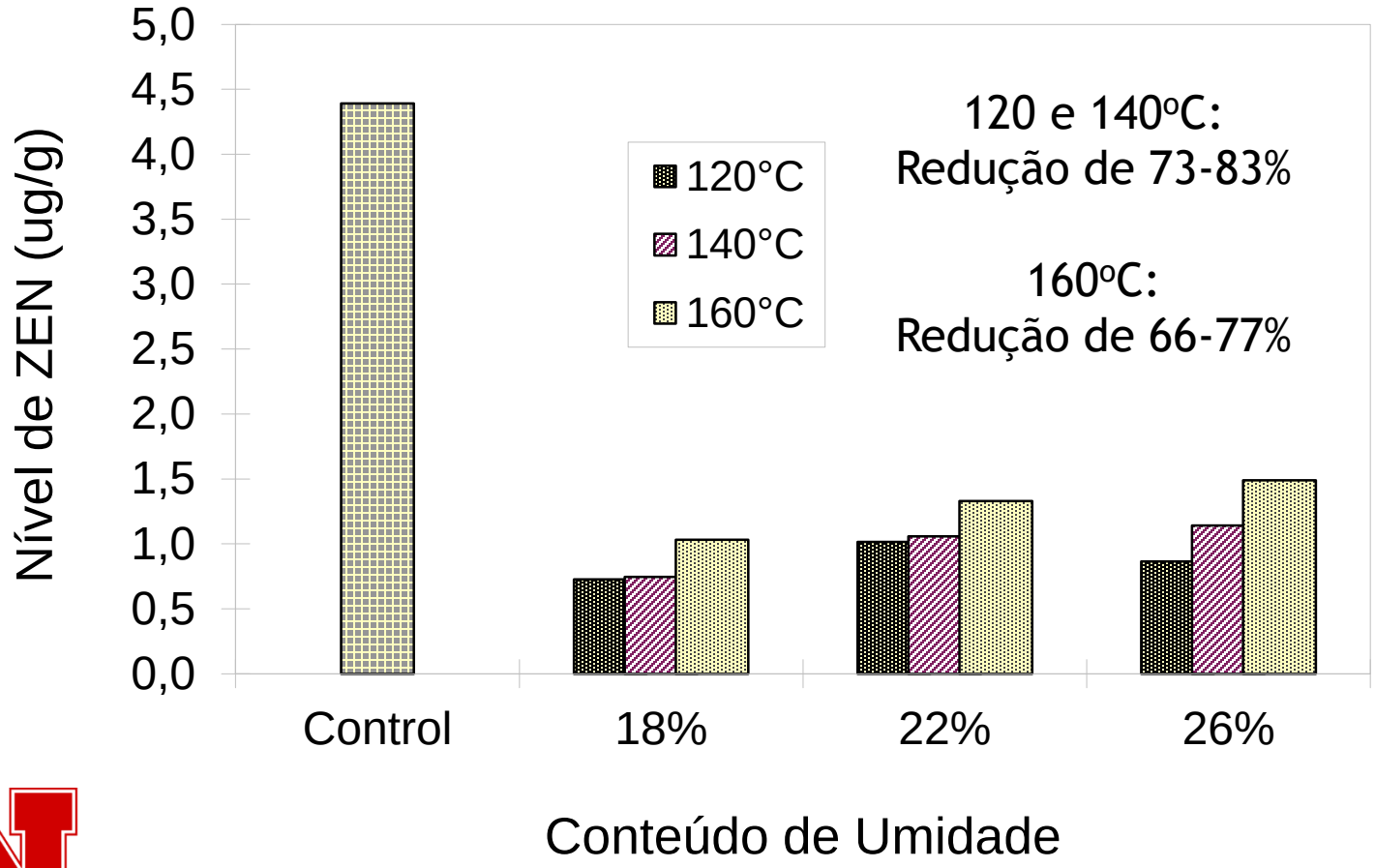
Efeitos do Processamento

- Extrusão - Ocratoxinas:
  - Redução em farinha integral depende:
    - Da temperatura
    - Do conteúdo de umidade
    - Do tempo de residência
    - Redução maxima de 40%



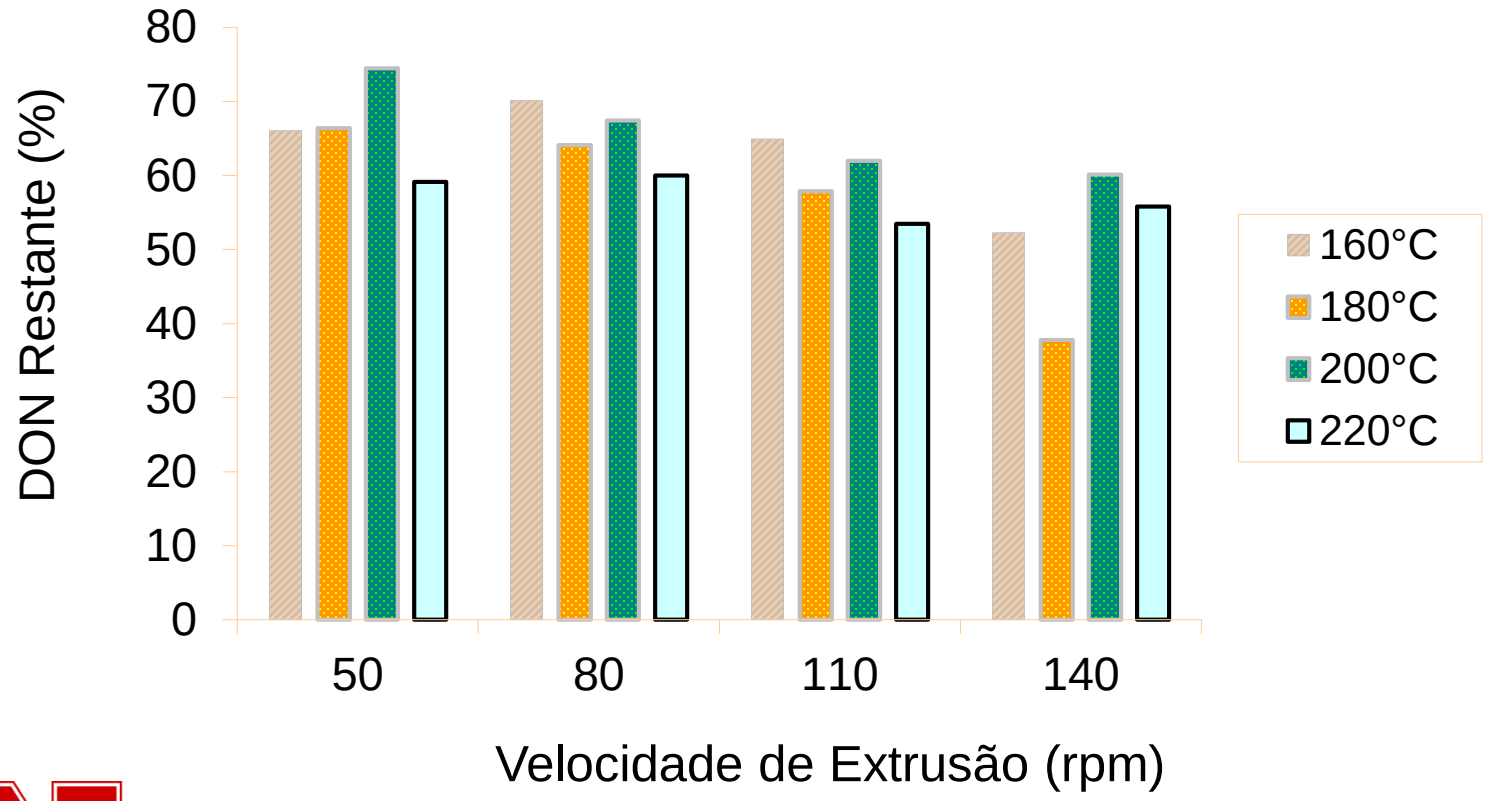
Efeitos do Processamento

- Extrusão - Zearalenona:



Efeitos do Processamento

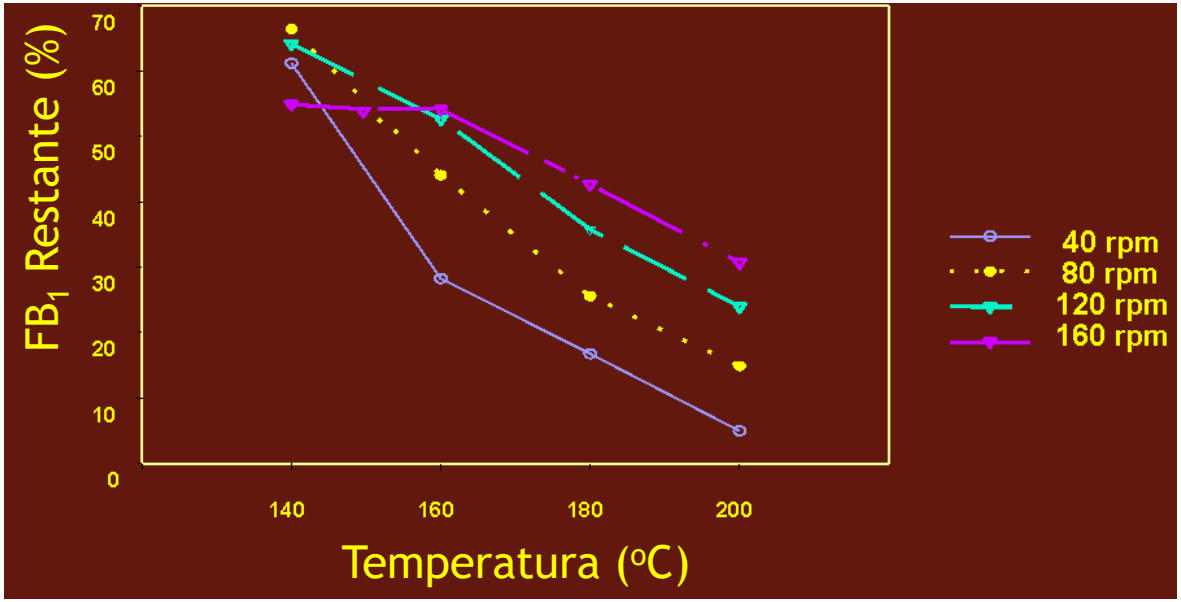
- Extrusão – Desoxinivalenol:



Efeitos do Processamento

- Extrusão – Fumonisinas:

  Milho tipo canjica spiked com 5 mg/Kg e processado em uma extrusora de rosca dupla:

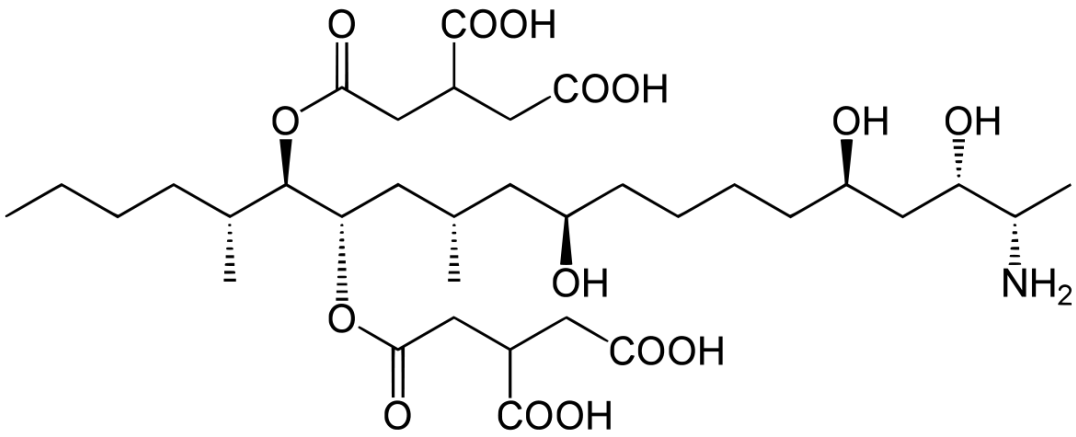


Reduções: 34-95%
Produto aceitável: 46-76%

(Katta *et al.*, 1999)

Efeitos do Processamento

- Extrusão - Fumonisinas:
  - Redução em presença de:
    - Glicose: 45 – 67%
    - Frutose: 32 – 53%
    - Sacarose: 26 – 43%
  - Redução por glucose é dependente:
    - Parâmetros de extrusão
    - Concentração de açúcar



Efeitos do Processamento

- Extrusão – Em resumo:

Micotoxina	***Redução***
Aflatoxina	
– 140 - 185°C	→ 33-38%
– >185°C	→ 66%
Zearalenona (120 – 160°C)	→ 70%
Desoxinivalenol (120°C)	→ 11-27%
Fumonisina (160 - 200°C)	→ 46-76%
Fumonisina (160°C, Glicose)	→ 93%

Temperatura e tipo de rosca são importantes!!!

Efeitos do Processamento

- Extrusão – Destino das micotoxinas:

Redução na extração durante análises

Destruídas durante o processo

Modificadas para formar derivativos



Redução dos Níveis de Micotoxinas

Redução da Toxicidade???

Efeitos do Processamento

Reduction of Fumonisin B_1 in Corn Grits by Single-Screw Extrusion

Journal of Food Protection, Vol. 71, No. 10, 2008, Pages 2036–2041

Reduced Toxicity of Fumonisin B_1 in Corn Grits by Single-Screw Extrusion

Reduction of Fumonisin B_1 in Corn Grits by Twin-Screw Extrusion

Lauren S. Jackson, Joseph Jablonski, Lloyd B. Bullerman, Andreia Bianchini, Milford A. Hanna, Kenneth A. Voss,

Extrusion cooking with glucose supplementation of fumonisin-contaminated corn grits protects against nephrotoxicity and disrupted sphingolipid metabolism in rats

Kenneth A. Voss[1], Ronald T. Riley[1], Lauren S. Jackson[2], Joseph E. Jablonski[2], Andreia Bianchini[3], Lloyd B. Bullerman[3], Milford A. Hanna[3] and

Níveis Seguros de Micotoxinas?

Níveis de Toxina nos Ingredientes

+/−



Efeitos do Processamento

=

Níveis de Toxina na Ração
(µg toxina/Kg ração)



Ocorrência de Micotoxinas em Rações Pet

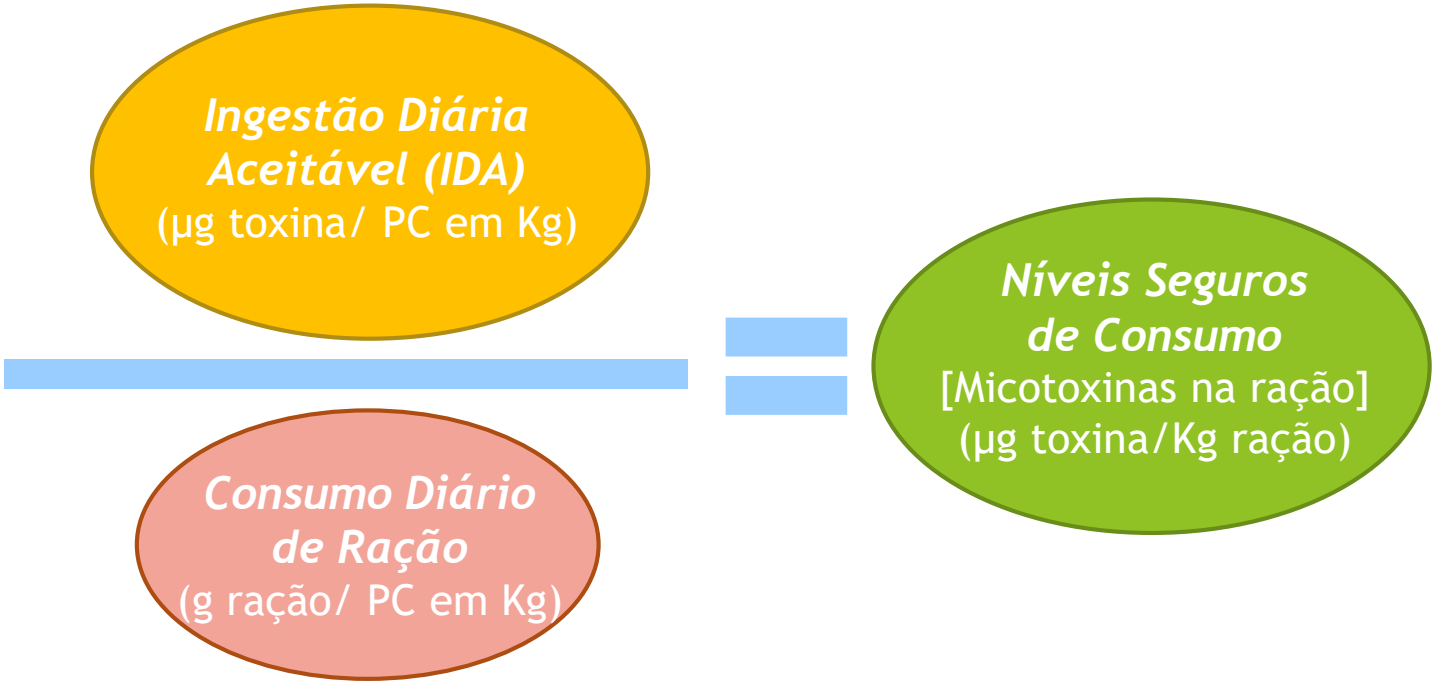
Local	Produto	# Amostras	Ocorrência	Nível Máximo	Referência
Slough (UK)	Raçõoes para cães, gatos, pássaros	100	AFLA B_1 2% OTA 10% FUM 30%	AFLA B_1 370 µg/Kg OTA 7 µg/Kg FUM 690 µg/Kg	Scudamore et al., 1997
Texas (EUA)	Raçõoes para pássaros	142	AFLA 17% (>100 µg/Kg)	AFLA 2780 µg/Kg	Henke et al., 2001
Mexico	Raçõoes para cães e gatos	35	AFLA B_1 88%	AFLA B_1 46.1 µg/Kg AFLAs 72.4 µg/Kg	Sharma e Marquez, 2001
Brasil	Raçõoes para cães, gatos, pássaros	100	AFLA 12%	AFLA B_1 256 µg/Kg	Maia e Siqueira, 2002
Turquia	Raçõoes para cães	18	AFLA 17%	AFLAs 20 µg/Kg	Gunsen e Yaroghu, 2002
Portugal	Raçõoes para cães, gatos, pássaros	60	OTA 8.3% DON 5% FUM 5%	OTA 3.6 µg/Kg DON 130 µg/Kg FUM 24 µg/Kg	Martins et al., 2003
Austria e Polônia	Raçõoes para cães e gatos	40	OTA 47%	OTA 13.1 µg/Kg	Puhringer et al., 2003
Polônia	Raçõoes para animais de estimação		ZEA 86%	ZEA: Rações 299.5 µg/Kg Dietas terapêuticas 158 µg/Kg	Zwierzchowski et al., 2004

Ocorrência de Micotoxinas em Rações Pet

Local	Produto	# Amostras	Ocorrência	Nível Máximo	Referência
Brasil	Raçõoes para cães, gatos, pássaros, hamsters, cavalos, coelhos	123	100% das amostras apresentou uma ou mais micotoxinas (AFLA, OTA, FUM, ZEA)	AFLAs >50 µg/Kg ZEA >50 µg/Kg FUM 690 µg/Kg	Scussel et al., 2006
África do Sul	Raçõoes para cães associadas com um surto	60	AFLAs 87% FUM 98% OTA 68% ZEA 96%	AFLA >20 µg/Kg FUM 4653.8 µg/Kg OTA >20 µg/Kg ZEA >1000 µg/Kg	Mwanza et al., 2011
Brasil	Raçõoes (comum) para cães	87		AFLAs (Média) 1.29 µg/Kg FUM 272 µg/Kg ZEA 52.6 µg/Kg	Teixeira et al., 2017



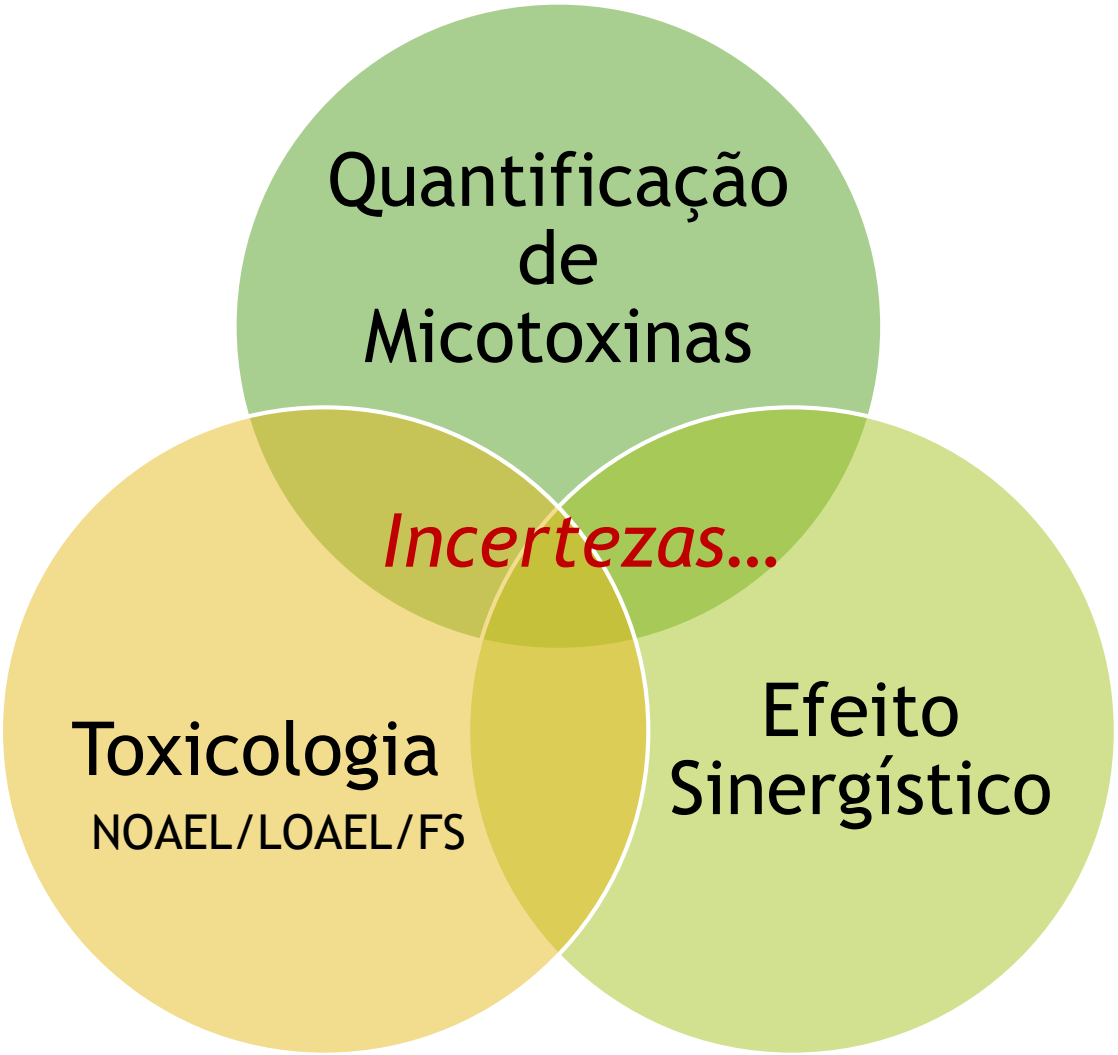
Níveis Seguros de Micotoxinas?



Se Podemos Complicar....

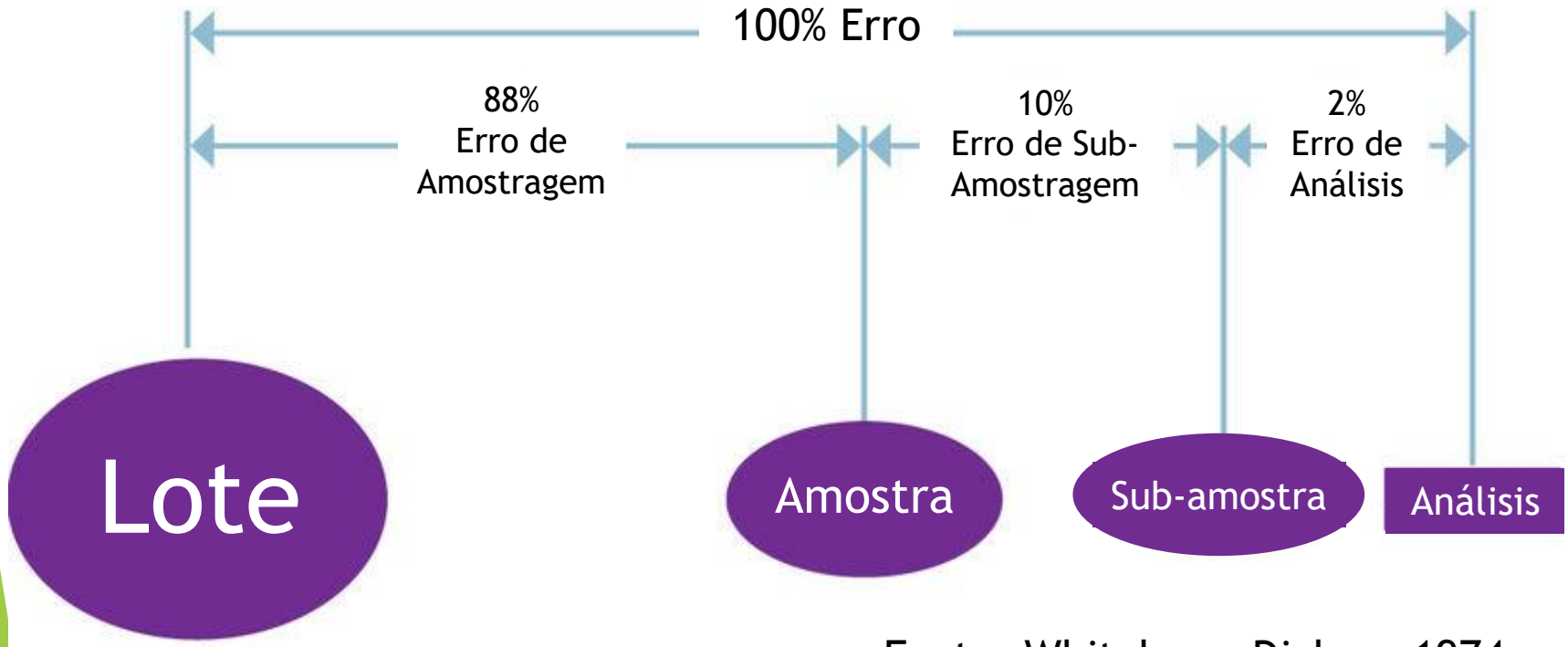


Se podemos complicar....



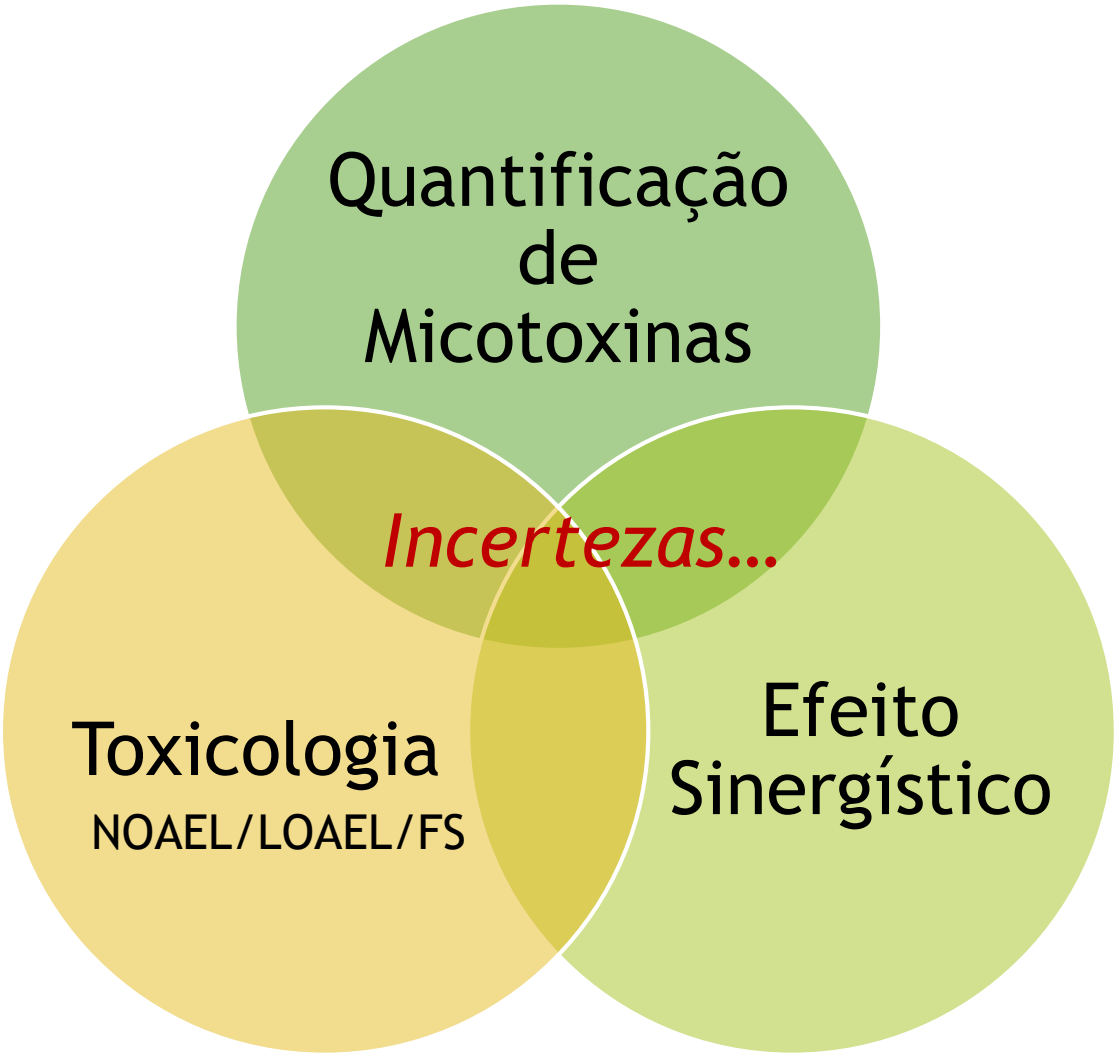
Se podemos complicar....

- Incertezas relacionadas com a quantificação de micotoxinas:



Fonte: Whitaker e Dicken, 1974

Se podemos complicar....

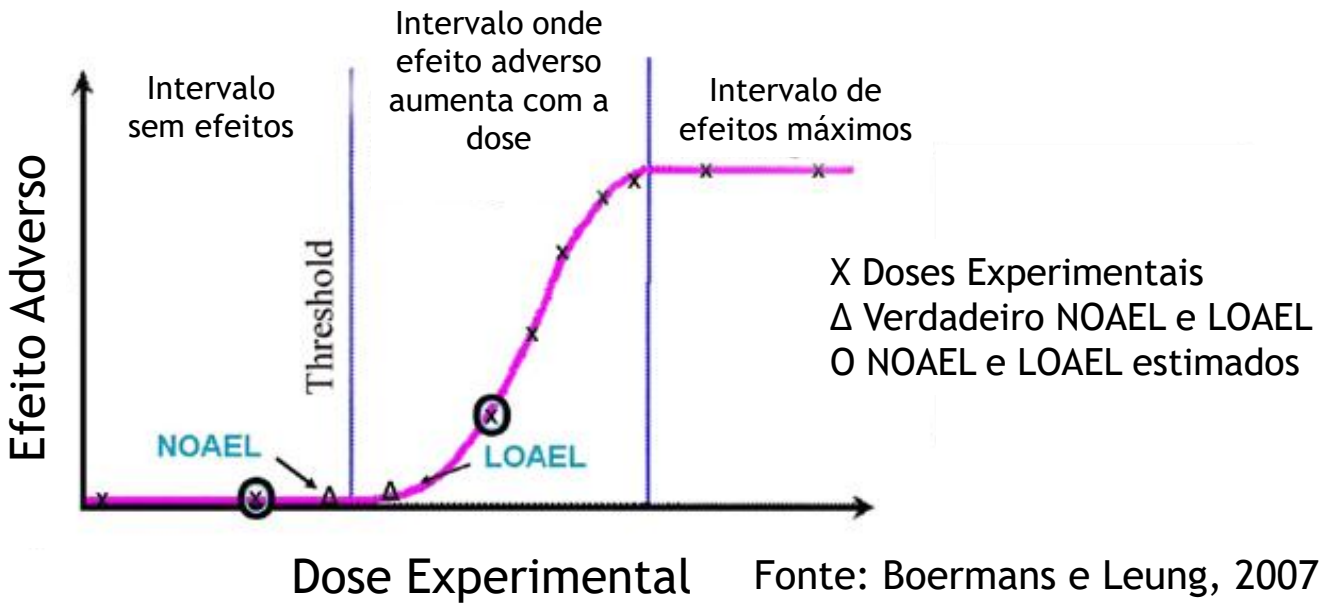


Se podemos complicar....

- Incertezas relacionadas com dados toxicológicos:

"As menores doses experimentais capazes de causar um efeito tóxico podem ser muito superiores ao limiar que causaria efeitos adversos – superestimando o verdadeiro LOAEL."

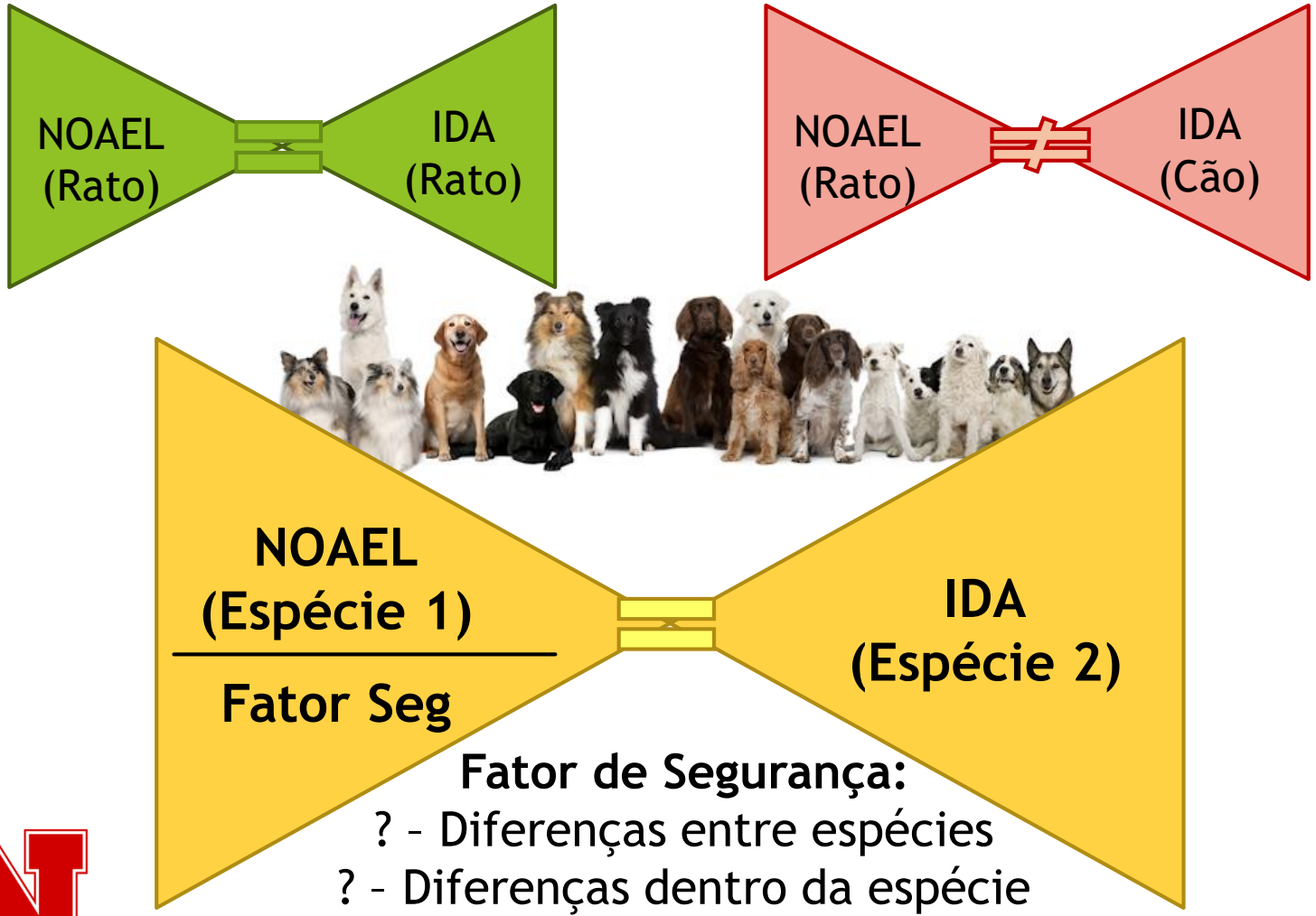
"Doses experimentais que não causam efeitos adversos podem ser muito inferiors a dose limiar – subestimando o verdadeiro NOAEL."



Fonte: Boermans e Leung, 2007

Se podemos complicar....

- Incertezas relacionadas com dados toxicológicos:



Se podemos complicar....

- Incertezas relacionadas com dados toxicológicos:
  - Animais de estimação não são utilizados para experimentos o que requer o uso de um fator de segurança

Parâmetro		Fator de Segurança	
De	Para	Humanos	Pets
Média	Indivíduos sensíveis	10	5
Animais de Laboratório	Humanos ou Pets	10	10
LOAEL	NOAEL	10	5
Sub-crônico	Crônico	10	5
DL50	NOEL		1000

Modificada de Boermans e Leung, 2007

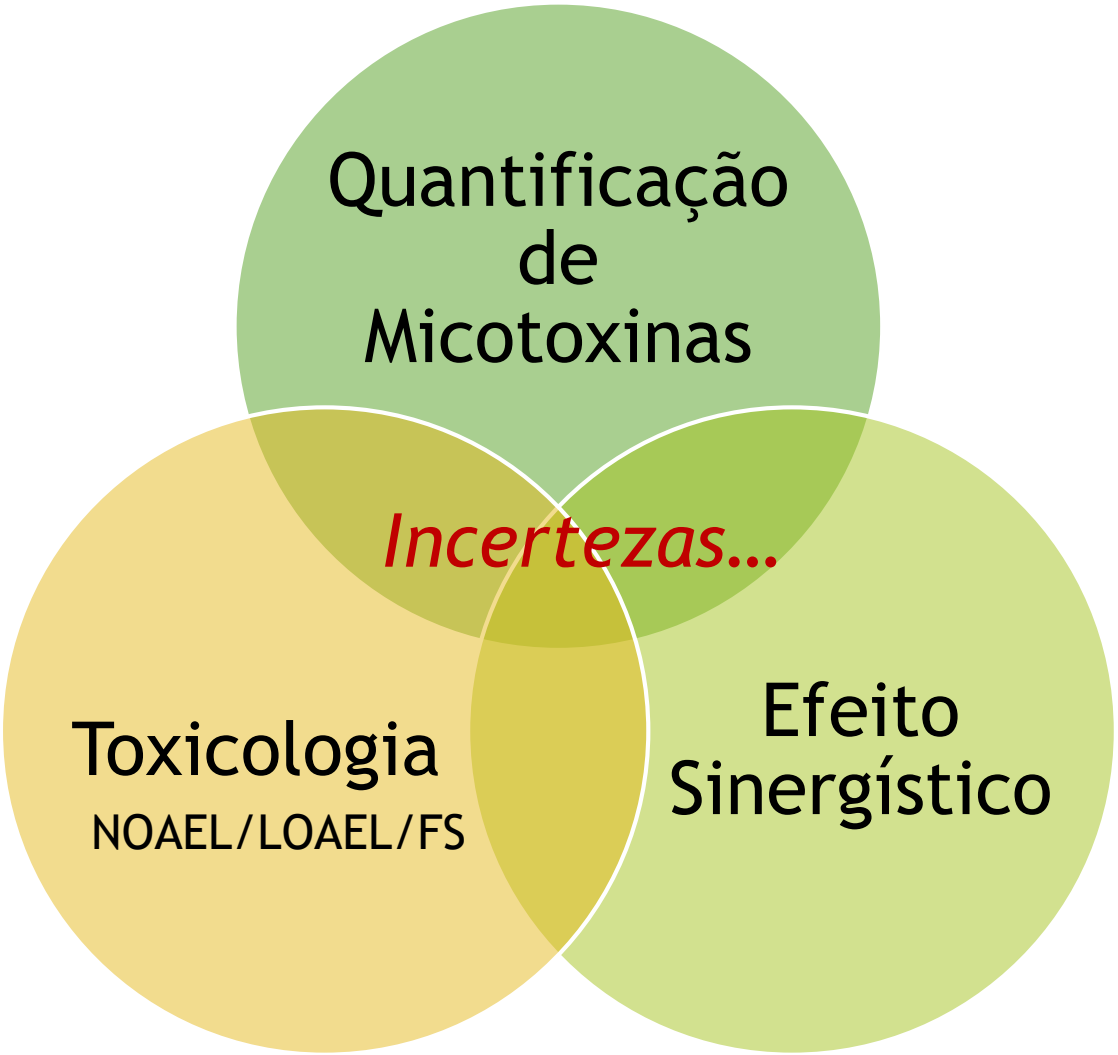
  - Escolha dos dados mais adequados – Animal modelo, efeito adverso

Se podemos complicar....

Micotoxina (FS)	Ingestão Diária Aceitável		Níveis Seguros de Consumo*
	Valor	Referência	Valor
Aflatoxina (10)	0.12 µg/kg PC	Boermans e Leung, 2007 (Cães)	6 µg/kg ração
Ocratoxina (500)	0.014 µg/kg PC	WHO, 2008 (Humanos)	0.7 µg/kg ração
Zearalenona (80)	0.5 µg/kg PC	WHO, 2000 (Humanos)	25 µg/kg ração
Desoxinivalenol (100)	1 µg/kg PC	WHO, 2001 (Humanos)	50 µg/kg ração
Fumonisina (100)	2 µg/kg PC	WHO, 2001 (Humanos)	100 µg/kg ração

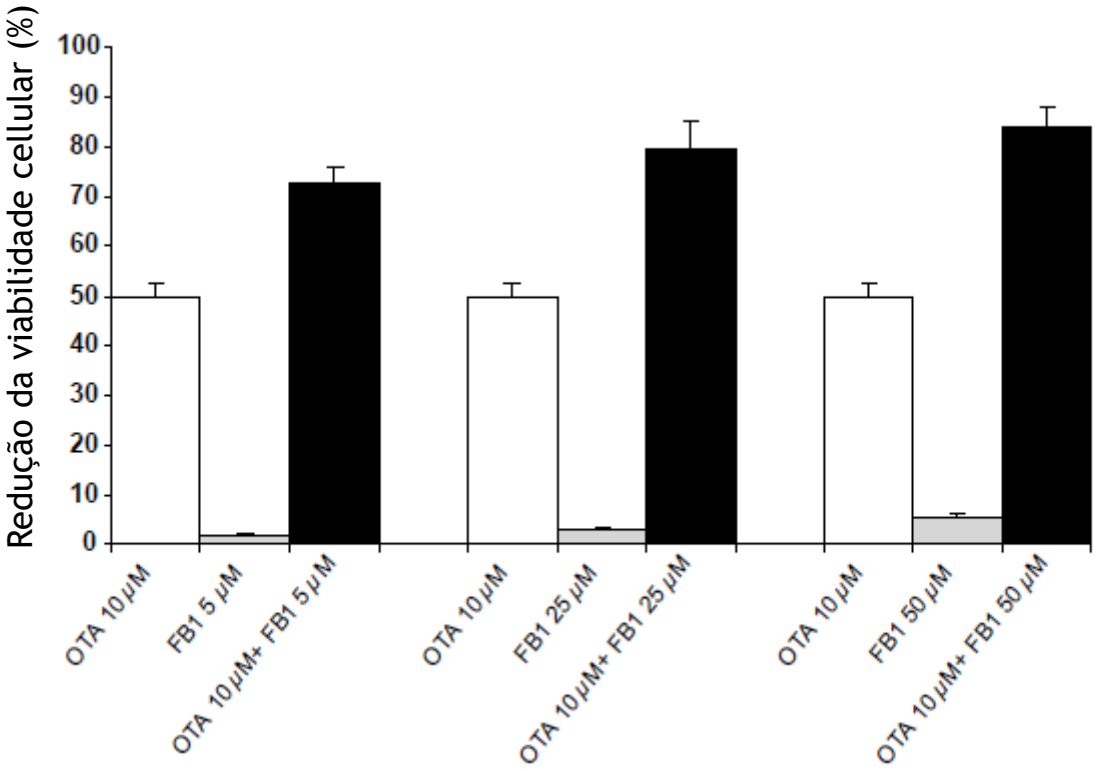
Esses valores foram calculados somente para ilustrar o processo de determinação da ingesta diária aceitável.

Se podemos complicar....



Se podemos complicar....

- Efeitos sinergísticos entre micotoxinas

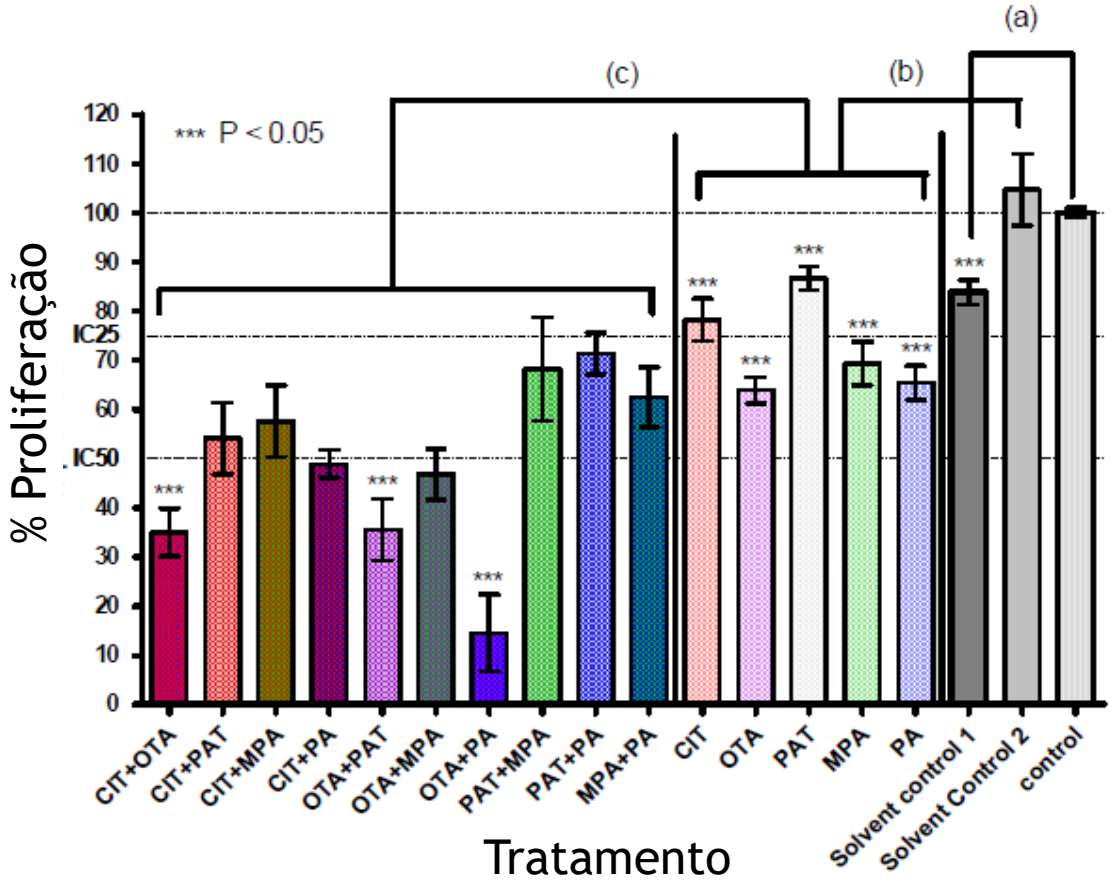


Efeito sinergístico entre ocratoxina A e fumonisina B_1 na linhagem celular Vero. Efeitos similares foram observados con as linhagens C6 glioma e Caco-2.

Fonte: Creppy et al., 2004

Se podemos complicar....

- Efeitos sinergísticos entre micotoxinas

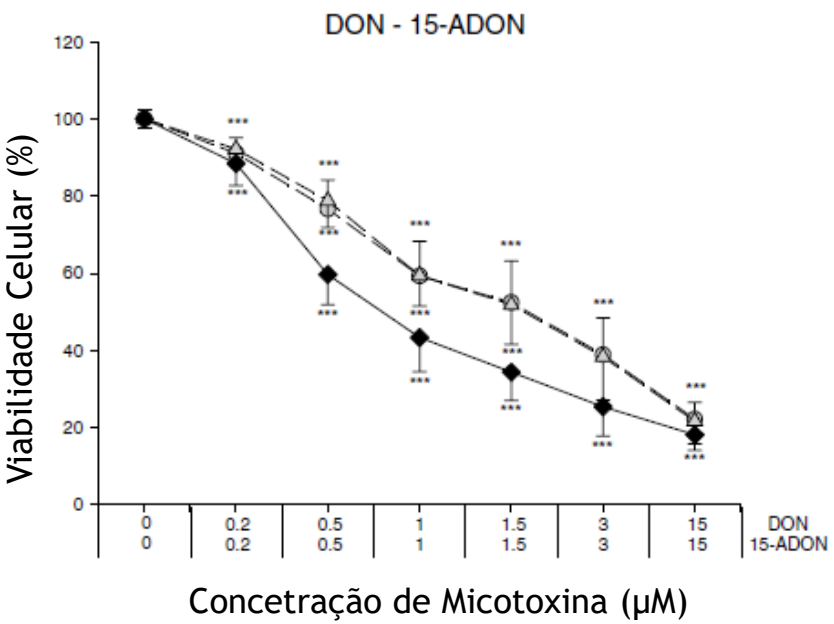


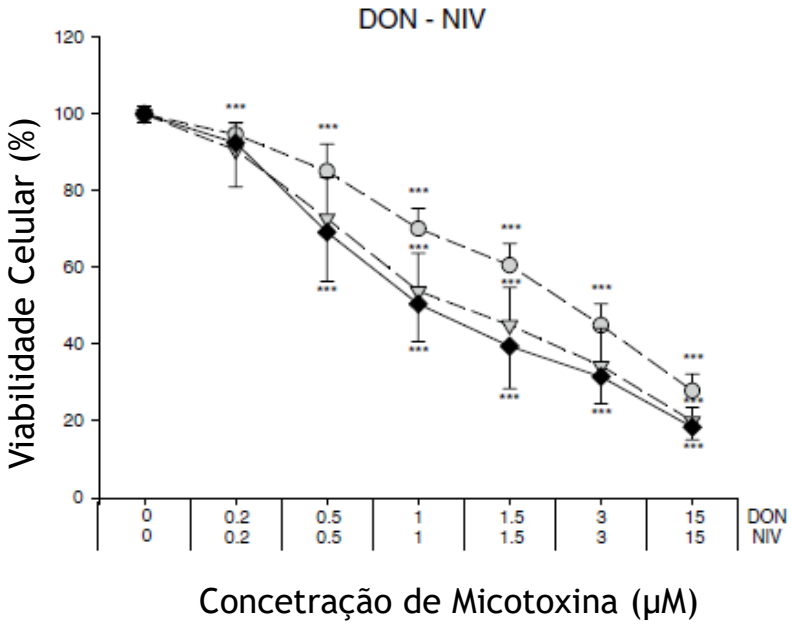
Efeito sinergístico entre micotoxinas na linhagem celular BOMACs (Macrofago Bovino).

Fonte: Oh et al., 2012

Se podemos complicar....

- Efeitos sinergísticos entre micotoxinas





Efeito sinergístico entre micotoxinas na linhagem celular IPEC-1 (células epiteliais intestinais). Efeitos similares foram observados para as interações entre: DON e 3-ADON, DON e FX, 15-ADON e 3-ADON, e NIV e FX.

Fonte: Alassane-Kpembi et al., 2014

Se podemos complicar....

- Efeitos sinergísticos entre micotoxinas

Micotoxina	Espécie	Efeitos	Referência
Aflatoxina e Diacetoxyscirpenol (DAS)	Frango	Sinergismo	Kubena et al., 1993
Aflatoxina e Toxina T-2	Frango	Sinergismo	Aravind et al., 2003 Girish e Devegowda, 2004
Aflatoxina e Ocratoxina	Frango	Sinergismo	Kubena et al., 1989 Raju e Devegowda, 2000
Ocratoxina e Toxina T-2	Frango	Sinergismo	Raju e Devegowda, 2000
Desoxinivalenol e Ácido fusárico	Frango	Sinergismo	Smith et al., 2000 Swamy et al., 2002

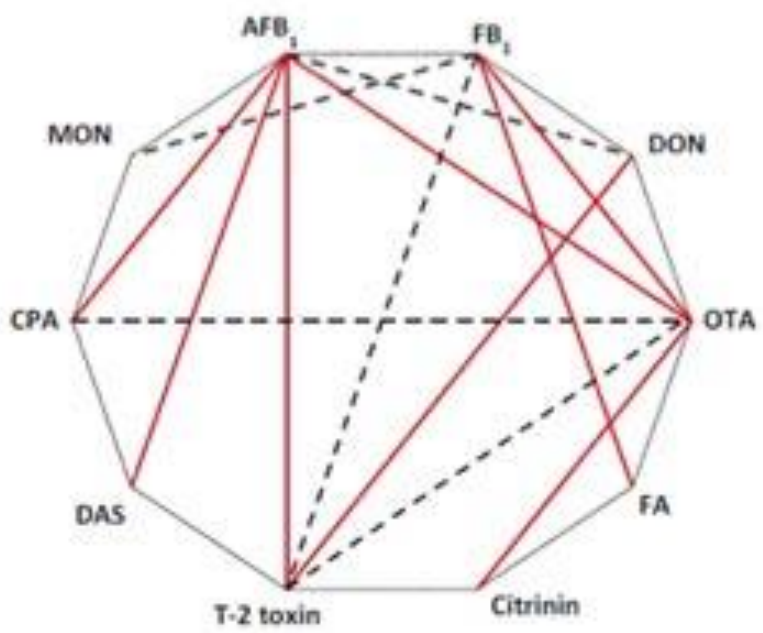
Fonte: Ganesh et al., 2014



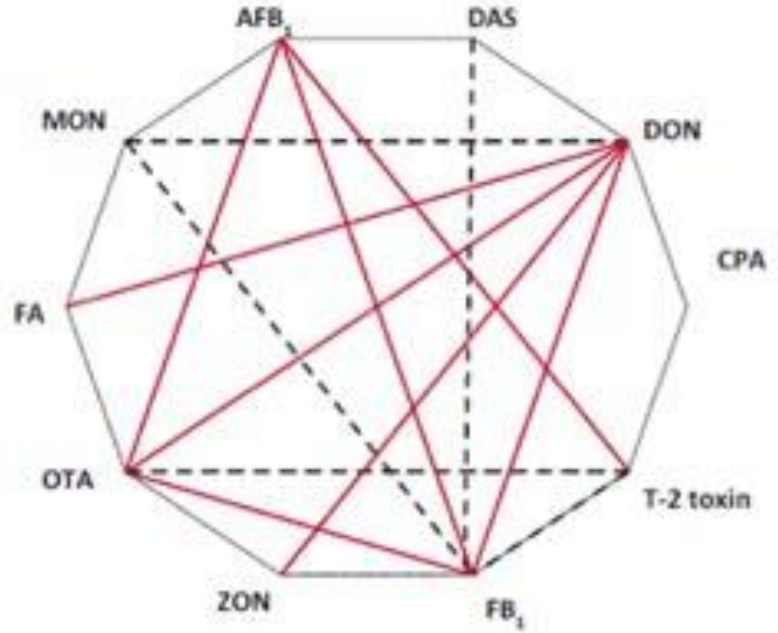
Se podemos complicar....

- Efeitos sinergísticos entre micotoxinas

Aves



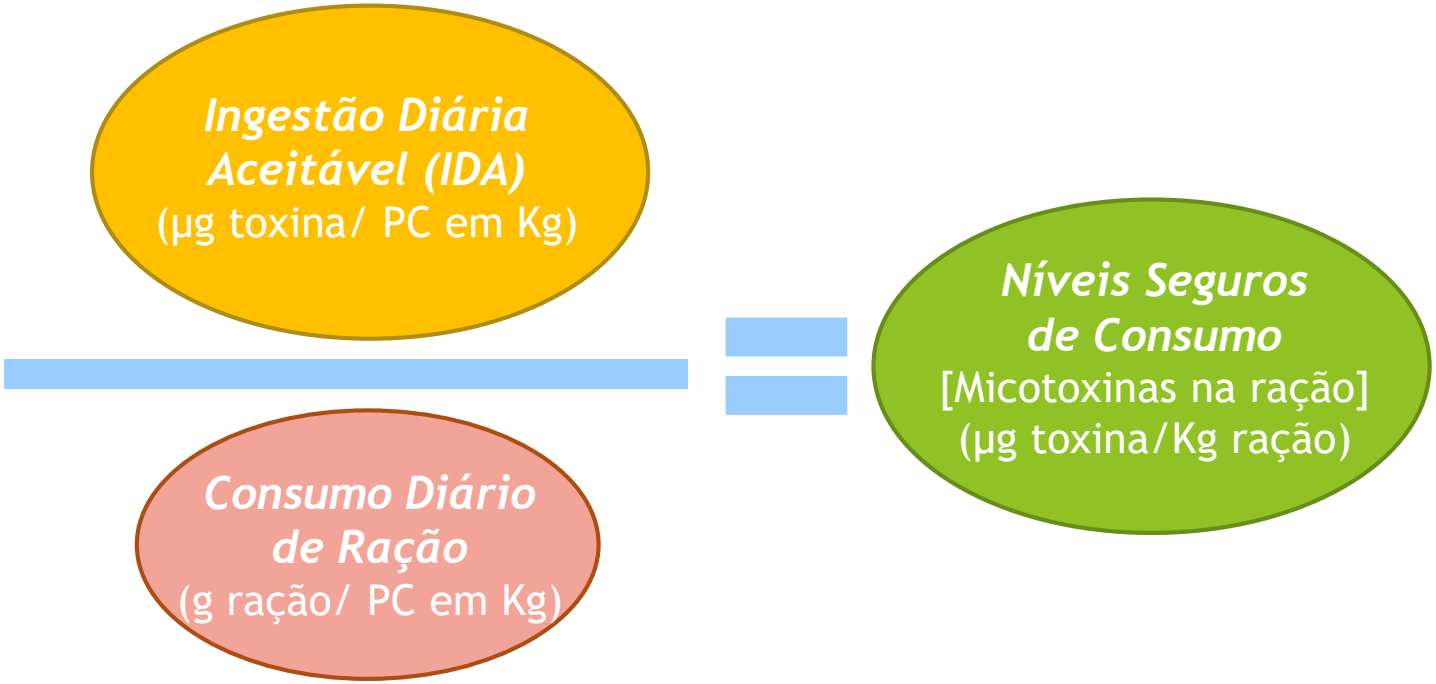
Suínos



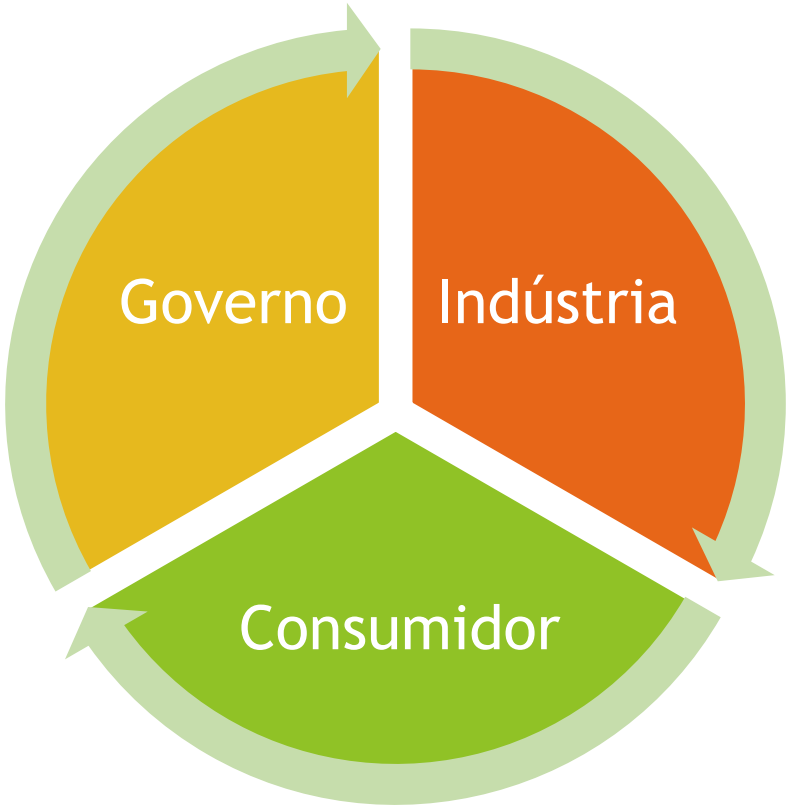
Efeito sinergístico
Efeito aditivo

Fonte: Biomin (Biomin.net, 2011)

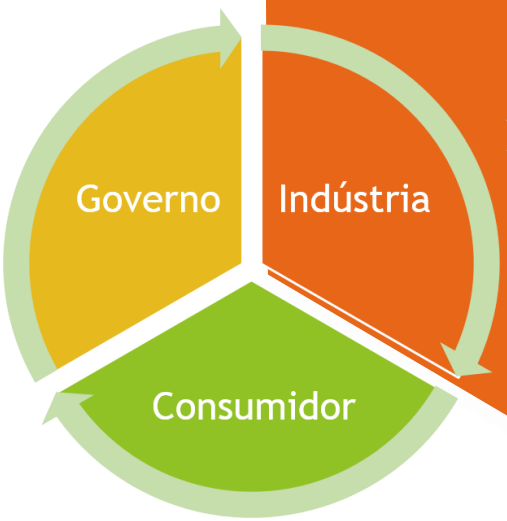
Níveis Seguros de Micotoxinas?



Controle Preventivo



Controle Preventivo



1. *Cadeia de fornecedores*
   - Uso de fornecedores aprovados
   - Inspeções e auditoria
   - Recebimento de ingredientes
     - Identidade do ingrediente
     - Certificado de análise

2. *Processo*
   - Limpeza, remoção
   - Extrusão
   - Outros

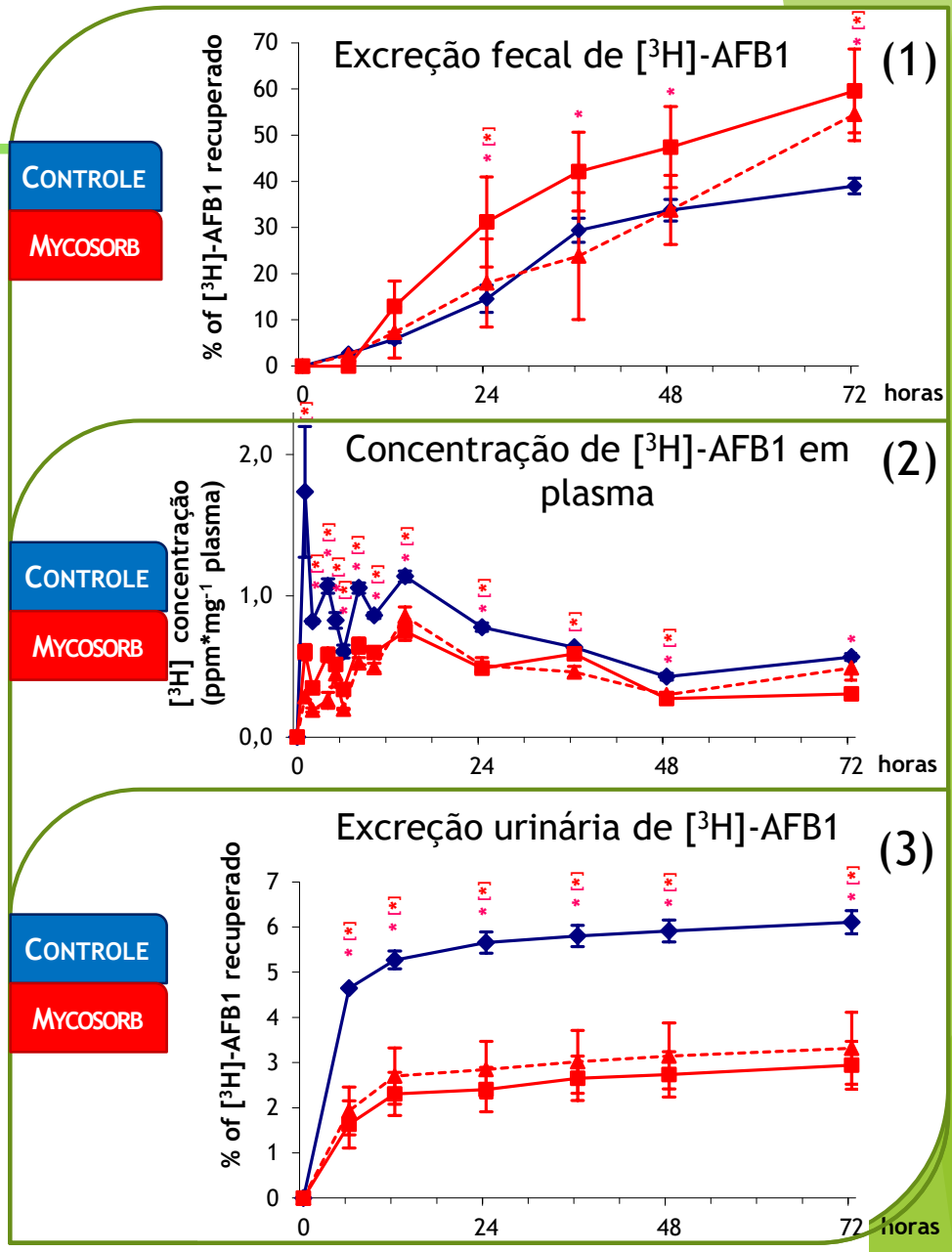
3. *Uso de adsorventes de micotoxinas*

Controle Preventivo

- Recuperação de [^{3}H]-AFB1 em função do tempo após a administração oral de 716 ng of AFB1/kg PC a ratos Sprague-Dawley (n=5 por tratamento)

- Uso do produto Mycosorb:
  - Redução na absorção de AFB1
  - Aumento na excreção de AFB1

Fonte: Firmin et al., (2010)

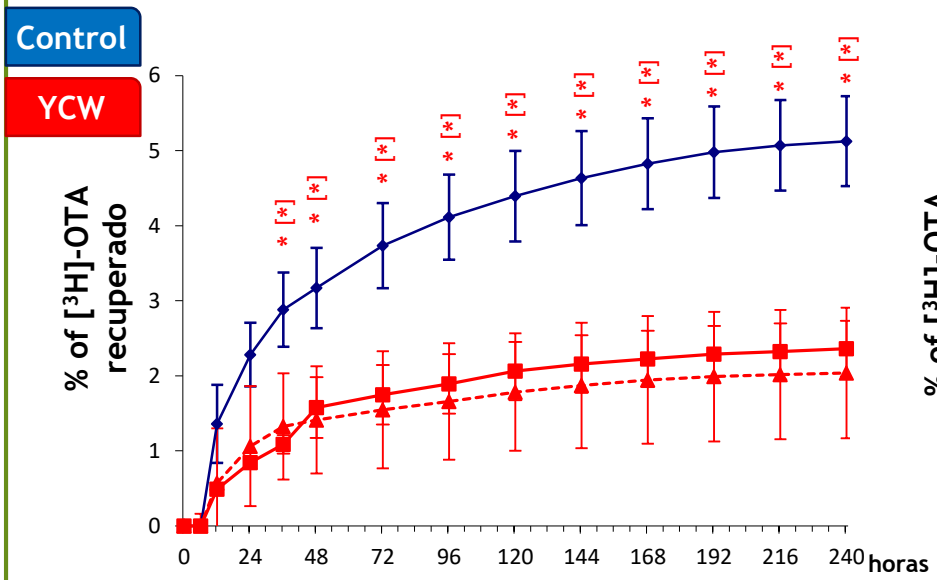


* p<0.05, (16,5mg YCW/kg of PC) comparado com o controle

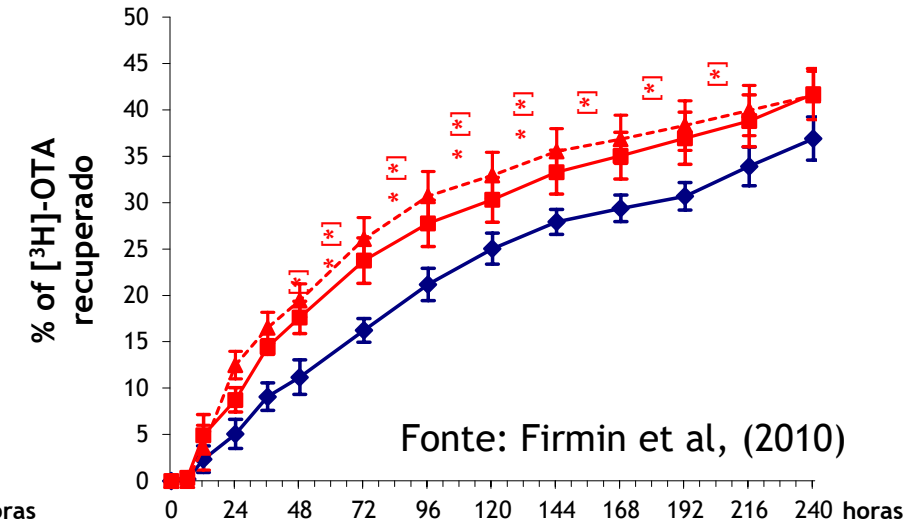
[*] p<0.05, (65,7mg YCW/kg of PC) comparado com o controle

Controle Preventivo

Excreção urinária de [^{3}H]-OTA



Excreção fecal de [^{3}H]-OTA



* p<0.05, (16,5mg YCW/kg de PC) comparado com controle

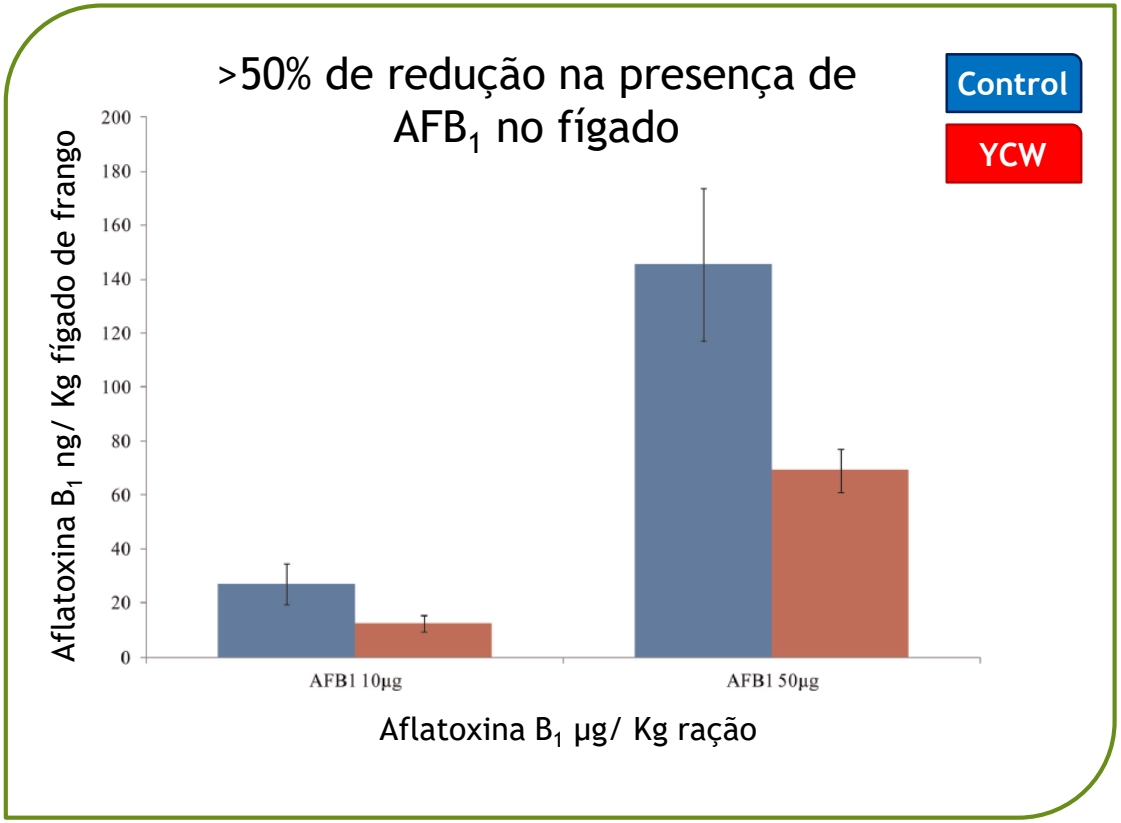
[*] p<0.05, (65,7mg YCW/kg de PC) comparado com controle

Recuperação de [^{3}H]-OTA em função do tempo após a administração oral de 3.22 µg de OTA/kg PC a ratos Sprague-Dawley Rats (n=5 por tratamento).

- Uso do produto Mycosorb:
  - Redução na absorção de OTA
  - Aumento na excreção de OTA

Controle Preventivo

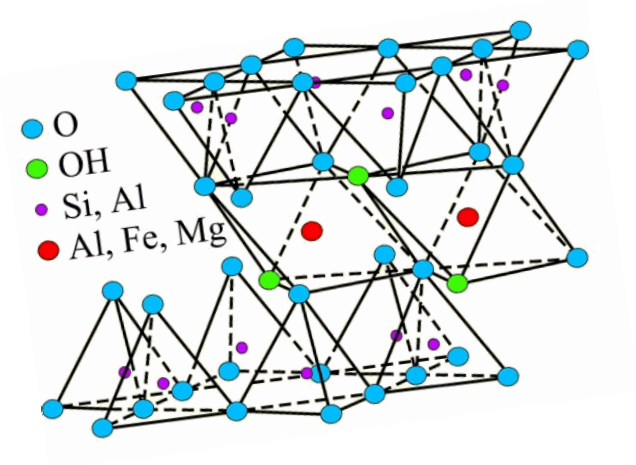
Acúmulo de aflatoxina B_1 no fígado de frangos após a exposição a rações contaminadas, na ausência e na presença de adsorventes de micotoxinas:

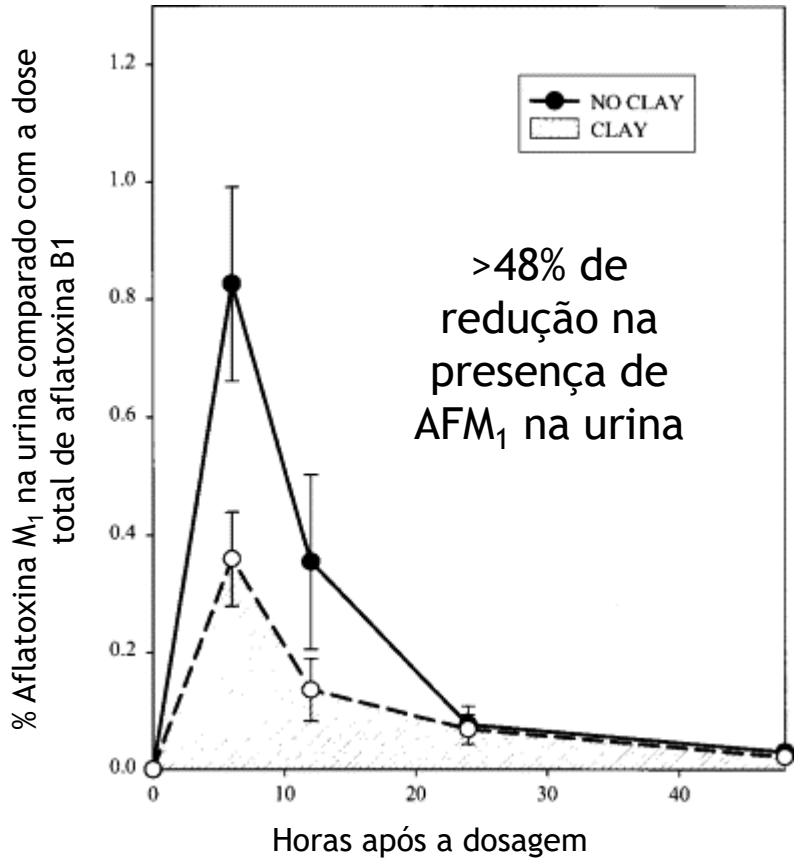


Fonte: Moran et al., (2013)

Controle Preventivo

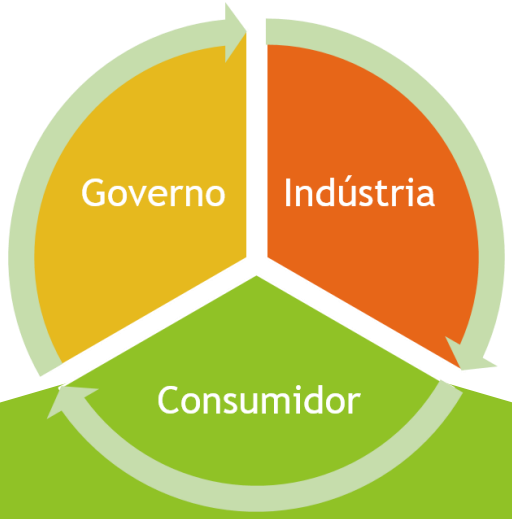
- Desenho experimental:
  - Estudo cruzado com 6 cães
  - Ração comercial ou ração adicionada com HSCAS no material de cobertura
  - Adição de 0.5% HSCAS
  - Exposição a doses sub-clinicas de aflatoxina B_1





Fonte: Bingham et al., (2004)

Controle Preventivo

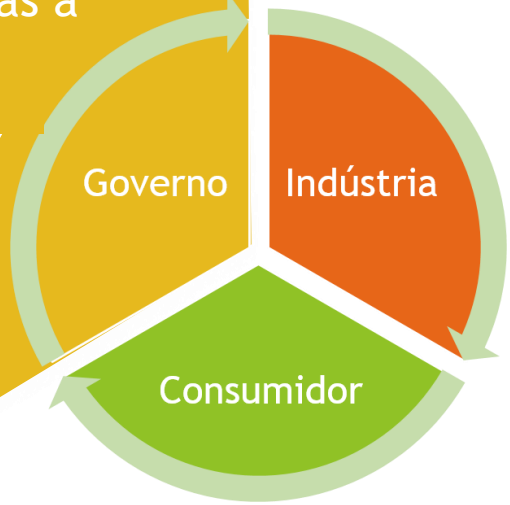


1. *Conhecimento a respeito do problema*
2. *Escolha do produto (i.e. padrão x premium)?*
3. *Diversidade na dieta dos animais*



Controle Preventivo

1. *Estabelecimento de normas e regulamentações*
   - Considerando todo o conhecimento científico disponível
   - Considerando limitações relacionadas a ocorrência natural das micotoxinas
   - Considerando o efeito sinergístico entre micotoxinas (?)
2. *Assegurar a conformidade dos produtos em comércio com as regulamentações vigentes*



Segurança do Produto Final

- Níveis seguros de consumo:
  - Toxicidade da micotoxina
  - Escolha dos parâmetros toxicológicos e fatores de segurança
  - Ingesta do alimento
- Medidas de controle
  - Cadeia de fornecedores
  - Processo
  - Uso de adsorventes de micotoxinas

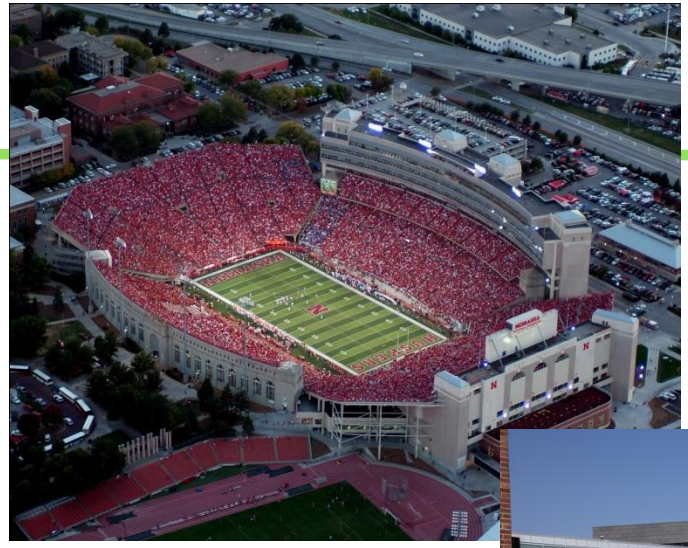




Agradecimentos

COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL
cbna®

Alltech®



Huskers





University of Nebraska Lincoln

Andreia Bianchini, Ph.D.
Research Assistant Professor
The Food Processing Center
Food Science and Technology

248 Food Innovation Center
1901 North 21 Street
P.O. Box 886207
Lincoln, NE 68588-6207

Office: (402) 472-3114
Lab: (402) 472-2829
FAX: (402) 472-1693
abianchini2@unl.edu