

DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS TOTAIS EM AMOSTRAS DE RAÇÃO CANINA NO FORMATO A GRANEL NA CIDADE DE BELO HORIZONTE/MG - ESTUDO PILOTO

Jessica Horta Silva¹
Taynara Paula dos Santos¹
Felipe Gaia de Sousa²
Isabella Bias Fortes¹
Joana Ferrez de Castro¹

RESUMO

Em virtude da preocupação com qualidade nutricional e segurança alimentar, rações vendidas em formato a granel podem estar sujeitas a exposição ambiental, o que pode comprometer a qualidade alimentar, especialmente em relação a fungos e bactérias. O presente estudo teve o objetivo de realizar análises micotoxicológicas de 14 amostras de rações a granel coletadas de diferentes estabelecimentos na cidade de Belo Horizonte/MG, utilizando o método de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA). As rações foram coletadas de estabelecimentos selecionados com base em critérios de inclusão e exclusão pré-determinados, sendo obtidas amostras de acordo com os maiores índices de umidade relativa e temperatura. Além da avaliação das condições do estabelecimento que eram comercializadas. Ademais, foram avaliadas para pesquisa e quantificação de aflatoxinas totais em laboratório especializado. Em 28,6% das amostras foram identificadas a presença de aflatoxinas e apenas a amostra RP01A ultrapassou o limite máximo tolerado de micotoxinas, segundo a legislação. Observou-se que o ambiente em que as amostras positivas foram armazenadas eram característicos de locais com condições higiênicas inadequadas como a presença de poeira e roedores em suas instalações.

Palavras-chave: armazenamento, contaminação alimentar, fatores ambientais, intoxicações, micotoxinas

DETECTION AND QUANTIFICATION OF TOTAL AFLATOXINS IN DOG FOOD SAMPLES IN BULK FORMAT IN THE BELO HORIZONTE/MG CITY - PILOT STUDY

ABSTRACT

Due to concerns about nutritional quality and food safety, feed sold in bulk format may be subject to environmental exposure, which can compromise food quality, especially in relation to fungi and bacteria. The present study aimed to carry out mycotoxicological analyzes of 14 samples of bulk feed collected from different establishments in the city of Belo Horizonte/MG, using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. The feed was collected from selected establishments based on pre-determined inclusion and exclusion criteria, with samples being obtained according to the highest levels of relative humidity and temperature. In addition to evaluating the conditions of the establishment that were sold. Furthermore, they were evaluated for research and quantification of total aflatoxins in a specialized laboratory. The presence of aflatoxins was identified in 28.6% of the samples and only sample RP01A exceeded the maximum tolerated limit of mycotoxins, according to legislation. It was observed that the

¹ Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

² Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. *Correspondência: fgaias@outlook.com

environment in which the positive samples were stored were characteristic of places with inadequate hygienic conditions such as the presence of dust and rodents in their facilities.

Keywords: storage, food contamination, environmental factors, intoxications, mycotoxins

DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE AFLATOXINAS TOTALES EN MUESTRAS DE ALIMENTO PARA PERROS A GRANEL EN LA CIUDAD DE BELO HORIZONTE/MG - ESTUDIO PILOTO

RESÚMEN

Debido a las preocupaciones sobre la calidad nutricional y la seguridad alimentaria, los piensos vendidos a granel pueden estar sujetos a exposición ambiental, lo que puede comprometer la calidad de los alimentos, especialmente en relación con hongos y bacterias. El presente estudio tuvo como objetivo realizar análisis micotoxicológicos de 14 muestras de piensos a granel recolectadas en diferentes establecimientos de la ciudad de Belo Horizonte/MG, mediante el método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). El alimento se recolectó de establecimientos seleccionados según criterios de inclusión y exclusión predeterminados, obteniéndose muestras de acuerdo con los niveles más altos de humedad relativa y temperatura. Además de evaluar las condiciones del establecimiento que se vendió. Además, fueron evaluados para investigación y cuantificación de aflatoxinas totales en un laboratorio especializado. Se identificó la presencia de aflatoxinas en el 28,6% de las muestras y sólo la muestra RP01A superó el límite máximo tolerado de micotoxinas, según la legislación. Se observó que el ambiente en el que se almacenaron las muestras positivas eran característicos de lugares con condiciones higiénicas inadecuadas como presencia de polvo y roedores en sus instalaciones.

Palabras clave: almacenamiento, contaminación alimenticia, factores ambientales, intoxicación, micotoxinas

INTRODUÇÃO

Com a implantação do conceito de bem-estar animal, há uma crescente preocupação por parte dos tutores e de médicos veterinários com a alimentação animal, na qual qualidade nutricional e segurança são almejadas, visando assim garantia na expectativa de vida, impacto nutricional e vida saudável (1). Nogueira Jr. e Nogueira (2) afirmam que o fenômeno do antropomorfismo tem provocado grande dinamismo no mercado de produtos e serviços para animais de modo geral, principalmente no que tange aos cuidados veterinários e à aquisição de alimentos de qualidade. Segundo o levantamento de 2021 sobre dados de mercado animal realizado pela Euromonitor e elaborado pela Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (3), o faturamento do setor de alimentação pet é em média de 28,2 bilhões de reais e o volume gasto de 3,7 toneladas de alimentos, com um crescimento de 33% no consumo de rações.

O consumo de rações com intuito de balanceamento nutricional, conforme a idade, necessidade nutricional, peso corpóreo, dentre outros fatores, com objetivo central de garantia de saúde e bem-estar animal, tem se tornado rotina entre os profissionais veterinários e tutores (4). Existem duas formas de comércio de rações atualmente, a embalagem fechada e a granel, sendo esta última a mais procurada pelos clientes por variados fatores, dentre eles o menor custo e quantidade exata consumida que não seja passível de perdas. Contudo, o preço pode variar de acordo com o quilograma (Kg) na venda a granel, nem sempre saindo mais rentável e lucrativo.

Rações a granel normalmente são vendidas por agropecuárias e pet shops, em dispensers automáticos ou não, em diversos locais, sob ação de fatores como umidade e luminosidade (5). Entretanto, nem todos os tutores têm conhecimento ou mesmo condições financeiras para arcar com a compra de rações comerciais em embalagens fechadas e optam pelo formato a granel (6). Dessa forma, os grãos ficam expostos ao ambiente, tornando-os mais susceptíveis a contaminações e dessa forma, propiciando na redução da qualidade alimentar (5), bem como na durabilidade do produto. As variações ambientais, de umidade e temperatura, são propícias para o desenvolvimento de fungos e bactérias, além da proliferação de insetos, servindo como meio de transmissão de agentes potencialmente danosos à saúde dos animais que consomem esses produtos (7).

Os fungos estão presentes nos cereais, que integram a matéria-prima das rações, afetando a segurança e a qualidade do produto (8). Os principais e mais importantes fungos são dos gêneros *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp. (9), sendo o *Aspergillus* spp. para Chaves et al. (10) o mais prevalente. Estes fungos sintetizam metabólitos secundários conhecidos como micotoxinas, e podem se diversificar em tipos, como aflatoxinas, ocratoxinas, fumonisinas, dentre outros, sendo a aflatoxina a principal encontrada em cereais, tendo como substrato de maior prevalência o milho, o amendoim e o caroço de algodão (11). Existem cerca de 18 tipos de aflatoxinas: B1, B2, G1, G2, M1, M2, P, Q, dentre outras, sendo estas classificadas de acordo com a sua capacidade de colorir na luz ultravioleta (12). O grande problema causado pelas micotoxinas é a sua vasta capacidade de ser genotóxica e originar mutações (13), as quais induzem um risco maior de desenvolvimento cancerígeno. Além do mais, a grande maioria dos animais e dos seres humanos expõe-se à micotoxina por via oral devido à ingestão de produtos agrícolas contaminados, sendo assim, os indivíduos que ingerem estas toxinas podem desenvolver quadros clínicos de aflatoxicose (14). Quadros de intoxicações são frequentes em cães e gatos, sejam eles derivados de produtos como coleiras inseticidas, uso de produtos para controle de ectoparasitas, bem como situações de contaminação de fontes de água (15). De acordo com Reis Gomes et al. (16), a aflatoxicose é um quadro de intoxicação pouco visto na rotina clínica de pequenos animais. Tal fato pode ser explicado mediante o despreparo dos profissionais para reconhecimento de quadros de intoxicação alimentar, bem como a subnotificação dos dados. Tais quadros podem manifestar-se de maneira aguda quanto crônica, sendo caracterizada por sinais clínicos pouco específicos, tornando o diagnóstico desafiador (17).

Fungos do gênero *Aspergillus* spp., estes frequentemente encontrados em matérias-primas destinadas à produção animal, são capazes de produzir metabólitos secundários, sendo a aflatoxina a mais prevalente considerando regiões de clima tropical e temperado (8). Diferentes espécies de fungos são capazes de produzir mais de um tipo de aflatoxina (18), sendo a AFB1 considerada como a mais tóxica por conta do seu potencial efeito carcinogênico (19). Assim, quadros de aflatoxicoses podem estar presentes em produtos de origem animal, especialmente devido às condições que os substratos e matérias-primas são armazenados, de forma que fatores relacionados com umidade, temperatura e problemas no processo de higienização podem estar associados com o desenvolvimento de tais agentes. Dessa forma, a qualidade alimentar dos produtos pode estar sujeita às perdas que inviabilizem sua estocagem e comercialização (20).

Em virtude da metabolização da micotoxina, o fígado é o principal órgão alvo, que além de sofrer alterações com a hepatotoxicidade causadas pelas toxinas, estão sujeitos a mutações que afetam a estrutura dos hepatócitos e consequentemente a produção de enzimas, síntese de proteínas, carboidratos e lipídeos. Além disso, as micotoxinas podem ocasionar alterações crônicas, tais como fibrose hepática, assim, o paciente pode ter alterações em outros sistemas como o renal, além de causar imunossupressão que aumenta a chance destes animais de adquirirem um quadro infeccioso (11). O objetivo deste estudo foi realizar a detecção e

quantificação de micotoxinas, com destaque nas aflatoxinas, em amostras de rações vendidas em formato a granel, provenientes de comércio varejistas no município de Belo Horizonte/MG.

MATERIAIS E MÉTODOS

Por meio de ferramentas de busca espacial, cerca de 40 estabelecimentos com fins agropecuários foram selecionados de forma aleatória para serem incluídos no referido estudo. O critério de seleção inicial dos estabelecimentos baseava-se na venda de produtos agropecuários, com foco na comercialização de rações para animais domésticos. Aqueles comércio varejistas que não comercializavam alimentos foram excluídos da seleção inicial. Mediante a listagem dos estabelecimentos que se enquadravam no critério de seleção inicial, uma nova etapa de escolha foi realizada. O segundo critério de eleição baseava-se em estabelecimentos que realizavam a venda de rações para cães em formato a granel. A região escolhida para execução do experimento foi baseada naquela que possuía a maior quantidade de estabelecimentos com comercialização de rações de cães em formato a granel. Ao final deste processo, cerca de 7 estabelecimentos foram selecionados para coleta das amostras, sendo estes pertencentes a uma única região de Belo Horizonte/MG. A coleta das amostras foi realizada de forma asséptica, em duplicata, sendo as amostras coletadas mediante o tipo de embalagem de armazenamento. As amostras foram retiradas da seguinte forma: naqueles estabelecimentos em que havia embalagens plásticas sem saída pelo fundo (saco cego), a coleta foi feita na região do meio do local de armazenagem, e para recipientes do tipo *dispenser*, obteve-se a ração do fundo.

Um checklist foi previamente construído com dados relativos às características dos estabelecimentos e as formas de armazenagem, sendo coletadas informações referentes a: data, horário da coleta, ambiente ao redor (limpo/sujo; organizado/desorganizado; local quente e/ou abafado e presença ou ausência de animais sinantrópicos; aspecto das paredes). Além do local do recipiente (pallet de madeira, de plástico, com contato direto com o chão, encostado na parede ou suspenso), modelo (*dispenser* de ração, madeira, ferro, saco original), se era tampado ou não, a forma como a ração era retirada do recipiente, ausência ou presença de data de validade, entre outros. O checklist foi aplicado em todos os 7 estabelecimentos como forma de caracterização e análise do estado geral do comércio selecionado.

As 14 amostras provenientes dos 7 estabelecimentos foram classificadas mediante caractere numérico e alfabético em RP01A, RP01B, RP02A, RP02B, RP03A, RP03B, RP03C, RP03D, RP04A, RP04B, RP05A, RP05B, RP06A e RP06B. Para definir qual tipo de ração seria coletada, em virtude da variedade de produtos vendidos, foi usado um termômetro industrial com higrômetro (IRO1D ShenzhenTomtop Technology) com capacidade para mensurar a umidade e temperatura, tanto do ambiente quanto do objeto. Foram analisadas amostras das rações que continham maior umidade e maior temperatura de cada estabelecimento por meio do termômetro infravermelho digital/higrômetro industrial, com intuito inicial de verificar se haveria relação da umidade/temperatura com os achados da pesquisa laboratorial. Ao final da análise de temperatura e umidade, diversos tipos de ração apresentavam os valores elevados, sendo padronizada a coleta apenas de amostras de rações de filhotes diante da justificativa de serem animais com sistema imune mais fragilizado. Após este processo, as amostras foram armazenadas em um saco no formato zip lock com um total de 100 gramas por ração selecionada de cada estabelecimento. As amostras distribuídas foram imediatamente enviadas ao laboratório para pesquisa das aflatoxinas totais, bem como suas quantificações, sendo utilizadas. As análises micotoxicológicas foram realizadas no Laboratório de Micologia e Micotoxinas da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), por meio do método de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA)

para a pesquisa e análise micotoxicológica de aflatoxinas totais (AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2). Os laudos com os resultados foram emitidos com um intervalo de 15 dias após o envio.

Após a coleta dos dados, estes foram transcritos para uma planilha no formato eletrônico com auxílio do Microsoft Excel 2013[®]. Os dados foram dispostos de acordo com valores relativos ao tipo da amostra, se houve resultado positivo/negativo, quantidade detectada, umidade, temperatura e características dos estabelecimentos, das formas de armazenamento e coleta. Foi realizada uma análise estatística descritiva qualitativa, bem como as frequências absolutas, relativas e médias com valores descritos em percentual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da presença de aflatoxina (AFLs) nas 14 amostras de rações foi realizada através do método de ELISA (Tabela 1), um teste considerado de alta sensibilidade para detecção de micotoxinas, evidenciada pelo Limite de Detecção (LoD) de 1% e o Limite de Quantificação (LoQ) de 1,0 (21). Conforme os resultados, 28,6% (n=4/14) das amostras apresentaram resultado positivo para aflatoxinas totais. Considerando as amostras positivas (n=4) com detecção de aflatoxinas totais, estas foram mensuradas em partes por bilhão (ppb) e estão dispostas na Tabela 1. A quantificação obtida dessas amostras foi de: 3,36 ppb (RP01A); 2,17 ppb (RP01B); 2,10 ppb (RP02A) e 1,13 ppb (RP03C). No entanto, não se pode afirmar que a não detecção de aflatoxinas totais no restante das amostras analisadas (n=10/14) representa a ausência de micotoxinas. Embora o teste empregado para análise seja considerado de alta sensibilidade, as amostras ainda poderiam ser positivas, visto que pode haver a contaminação por outro tipo de fungo, estando estas não isentas da presença fúngica. O fato da não detecção pode estar associado à forma e ao local da realização da coleta, de maneira que a aflatoxina poderia estar presente em uma outra região da mesma embalagem de armazenamento. Dessa forma, levanta-se a hipótese de que todas as amostras poderiam estar positivas. A ocorrência simultânea de micotoxinas, conhecida como co-ocorrência, é outro fator crucial que deve ser levado em consideração, uma vez que a presença de mais de uma micotoxina nos produtos tem um impacto grave na saúde animal e humana, devido ao aumento do risco causado pelo efeito sinérgico, aditivo e antagônico (21). Logo, a análise da co-ocorrência é essencial para avaliar o potencial risco à saúde desta associação.

Com base nas orientações da União Europeia e da Portaria nº 07 do MAPA, foi definido um limite máximo tolerado de aflatoxinas totais em rações e na matéria-prima usada para a fabricação desses alimentos com um valor de 50 µg/Kg (9,22). Ao considerar o Limite Máximo tolerado de aflatoxinas e quantidade de ração analisada (50g), verifica-se que o limite máximo de micotoxinas para esta quantidade de ração seria de 2,5 µg/Kg, sendo assim, apenas a amostra RP01A (3,36 ppb) estava acima do limite de acordo com a legislação brasileira. Em um estudo conduzido por Biscoto et al. (21), os resultados apresentados no trabalho demonstram que as amostras coletadas estão contaminadas com algum nível de micotoxinas abaixo do recomendado pela União Europeia. Isso se assemelha aos resultados obtidos no presente trabalho, entretanto, fatores como raça, sexo, ambiente, estado nutricional e imunológico dos animais intoxicados devem ser levados em consideração no caso de apresentarem sintomas de aflatoxicose, além da co-ocorrência de outras micotoxinas que podem gerar efeitos prejudiciais devido as interações sinérgicas.

Tabela 1. Resultados das análises laboratoriais da quantidade de micotoxinas (aflatoxina) encontradas nas amostras coletadas de rações a granel.

Micotoxina	Amostra	Concentração detectada (ppb)*	Limite de Detecção - LoD (ppb)	Limite de Quantificação - LoQ (ppb)
Aflatoxinas totais	RP01A	3,36	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP01B	2,17	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP02A	2,10	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP02B	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP03A	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP03B	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP03C	1,13	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP03D	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP04A	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP04B	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP05A	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP05B	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP06A	ND	1,0	1,0
Aflatoxinas totais	RP06B	ND	1,0	1,0

ND: Não detectada, *Média de duas repetições

As condições necessárias para produção de micotoxinas pelo fungo variam de acordo com a umidade e temperatura (23), principalmente em regiões tropicais em que a temperatura é altamente favorável para o crescimento fúngico, além da atividade de água e substrato (24). Apesar de representarem conceitos distintos, a umidade relativa do ar pode impactar a umidade de um produto. Sendo assim, uma vez que a umidade relativa do ar esteja mais alta em comparação ao produto, irá ocorrer uma transferência de moléculas de água, aumentando consequentemente a umidade do mesmo, pelo fato de serem sensíveis à absorção da umidade ambiental, como é o caso de alimentos não embalados corretamente ou materiais porosos (24,25). Os microrganismos utilizam a água e componentes presentes nos substratos para executar as suas atividades metabólicas cruciais para sobrevivência, crescimento e reprodução (26). Por conseguinte, a atividade de água desempenha um papel fundamental na conservação dos alimentos, uma vez que em baixas atividades de água gera uma diminuição nos processos metabólicos (24). Segundo Bahniuk et al. (23), a temperatura ótima para crescimento fúngico é por volta de 25° a 30°C. Neste estudo, verificou-se que todas as amostras apresentaram temperaturas acima das condições ideais com média de 30,1°C (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração de aflatoxinas totais detectadas, temperatura do ambiente, temperatura da ração e umidade relativa no momento da coleta.

Amostra	Concentração detectada (ppb)*	Temperatura ambiente	Temperatura da ração durante a coleta	Umidade durante a coleta
RP01A	3,36	33.2°C	30.3°C	48%
RP01B	2,17	33.1°C	30.5°C	46%
RP02A	2,10	32.2°C	30.6°C	49%
RP02B	ND	32.2°C	31.6°C	50%
RP03A	ND	34.0°C	30.3°C	46%
RP03B	ND	34.0°C	30.5°C	46%
RP03C	1,13	34.0°C	29.8°C	46%
RP03D	ND	34.0°C	29.5°C	46%
RP04A	ND	34.4°C	28.3°C	47%
RP04B	ND	34.4°C	33.0°C	46%
RP05A	ND	34.6°C	27.8°C	41%
RP05B	ND	34.8°C	28.6°C	41%
RP06A	ND	35.4°C	30.6°C	42%
RP06B	ND	35.4°C	31.0°C	41%

ND: Não detectada; *Média de duas repetições

De acordo com o decreto N° 6.296 de 11 de Dezembro de 2007, especificamente no Art.8º, fica determinado que as dependências devem ser adequadas para conservação dos produtos, no qual o ambiente deve estar seco e ventilado, os materiais construídos devem proteger das temperaturas inadequadas e assegurar a higiene. Apesar de ser dever do Estado garantir a saúde, não deve ser descartado o papel da sociedade e das empresas em seguir o regulamento, portanto tudo que foi discutido anteriormente deve ser seguido pelos proprietários dos estabelecimentos e fiscalizado pelas entidades competentes (27).

Conforme descrito na Tabela 3, as condições de higiene e organização variaram de acordo com cada estabelecimento. Constatou-se que a grande maioria dos locais tinham condições higiênicas inadequadas como a presença de poeira que em suas instalações, de forma que podem carrear fungos esporulados, principalmente o *Aspergillus* spp. que são capazes de formar esporos (26). Além disso, a presença de ração no chão do local pode atrair animais sinantrópicos (ratos, baratas, pombos e morcegos), conforme evidenciado em um dos estabelecimentos onde se observou a presença de pombos, sendo um risco para saúde pública, uma vez que estes animais podem transmitir doenças (28).

Tabela 3. Resposta do checklist sobre o ambiente dos locais de coleta

Local	Horário da coleta	Características do ambiente	Retirada da ração	Local do recipiente*	Tipo de recipiente	Recipiente tampado	Validade
RP01	09:47	Sujo (empoeirado, rações jogadas no chão, chão com presença de material 'grudento', entre outros). Ambiente organizado	Concha de metal	Suspenso em ferro, afastado da parede, não está próximo ao chão	Dispenser de ração.	Sim	Não
RP02	10:13	Organizado, Limpo, Local quente/abafado.	Dispenser. O excesso é retirado com uma concha plástica de uso comum.	Suspenso, sem contato com a parede.	Dispenser de ração.	Sim.	Não
RP03	11:11	Sujo (empoeirado, com rações jogadas no chão). Organizado (produtos empilhados e organizados). Presença de animais sinantrópicos	Pá de uso comum Concha de metal	Saco de ração no chão	Saco original.	Não.	Sim
RP04	11:35	Moderadamente sujo Organizado		Recipientes de madeira em contato direto com o chão.	Saco original, armazenado em local de madeira	Sim.	Não
RP05	12:16	Organizado, limpo.	Saco plástico	Suspenso e em recipiente de plástico	Dispenser de ração.	Sim.	Não
RP06	12:40	Sujo (empoeirado, rações jogadas no chão, melando, entre outros). Organizado, empoeirado	Saco plástico	Suspenso, longe da parede	Dispenser de ração.	Sim.	Não

*Pallet de madeira, pallet de plástico, chão, encostado na parede, recipiente alto (longe do chão) e ou suspenso

Algumas limitações foram observadas neste estudo, dentre elas, a dosagem de apenas aflatoxinas e não do conjunto de micotoxinas, a não discriminação do tipo de aflatoxina detectada, a quantidade de amostras enviadas e de estabelecimentos selecionados, e a forma da realização da coleta. Embora as aflatoxinas sejam consideradas como as principais micotoxinas encontradas atualmente, a ausência de detecção de outros tipos como ocratoxina A, fumonisinas, zearalenona, tricotecenos por restrições financeiras foi considerada como um grande fator limitador, de forma que restringiu a pesquisa desses outros grupos causadores de intoxicações em produtos de alimentação animal. Além disso, o método definido pelos autores e adotado pelo laboratório permite a detecção de aflatoxinas em sua totalidade e de forma específica, não sendo possível a determinação de qual(is) tipo(s) exclusivo(s) de aflatoxina(s) seria(m) detectada(s), sendo considerado outro limitador experimental.

A quantidade de amostras e de estabelecimentos previamente selecionados também foi outro fator limitante, de forma que o resultado poderia ter sido mais expressivo caso mais amostras de outros comércios varejistas fossem incluídas; mas as análises são caras e o número de amostras usadas foi de acordo com a verba. Outro ponto importante a ser destacado refere-se a forma como as coletas foram realizadas e o local em que as amostras foram obtidas. A determinação da coleta no meio da embalagem de armazenamento, bem como da porção inferior (fundo) considerado aquelas com *dispenser*, podem ter influenciado na positividade dos resultados, de forma que idealmente estas deveriam ter sido obtidas por meio de um pool de amostras da mesma ração.

CONCLUSÃO

A presença de aflatoxinas foi detectada em somente uma parcela das amostras de rações analisadas. O teste de ELISA revelou a presença dessas micotoxinas em 28,6% das amostras, com a amostra RP01A ultrapassando o limite máximo tolerado recomendado pela Portaria nº 07 do MAPA da Legislação Brasileira. Entretanto, a possibilidade de co-ocorrência nestas amostras não foi descartada, visto que foi somente realizado o teste exclusivamente para aflatoxina neste estudo. Observou-se que as condições ambientais, como temperatura e umidade, desempenham um papel significativo no crescimento fúngico e, consequentemente, na produção de micotoxinas. Portanto, pesquisas mais aprofundadas sobre os fatores que irão influenciar na contaminação auxiliam no manejo adequado buscando diminuir os riscos se fazem necessárias. Ademais, a implementação efetiva de protocolos de controle de qualidade nos estabelecimentos, adotando princípios de boas práticas de fabricação, é tarefa essencial para enfrentar os desafios relacionados à presença de micotoxinas em rações, contribuindo para a oferta de alimentos seguros e saudáveis para animais e seres humanos. Adicionalmente, é fundamental as orientações aos estabelecimentos comerciais sobre a importância do manejo ambiental, incluindo o controle efetivo de temperatura e umidade, pois desempenham um papel crucial na eficácia de medidas para prevenção do crescimento fúngico.

REFERÊNCIAS

1. Hillmann B, Soriano V, Petrolli T, Maccari M. Análise microbiológica de rações para cães comercializadas a granel e em embalagem fechada. *Encicl Biosf.* 2015;11(21):134-41.
2. Nogueira JRS, Nogueira EA. Alimentos para animais de estimação resistem à crise econômica. *Análises e Indicadores do Agronegócio.* 2009;4(11):1-5.
3. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. Mercado PET BRASIL 2022 [Internet]. São Paulo: ABINPET; 2022 [citado 10 Dez 2022]. Disponível em: https://abinpet.org.br/wpcontent/uploads/2022/08/abinpet_folder_dados_mercado_2022_dr_aft3_web.pdf
4. Ogoshi RC, Reis JS, Zangeronimo MG, Saad F. Conceitos básicos sobre nutrição e alimentação de cães e gatos. *Cienc Anim.* 2015;25(1):64-75.
5. Mendes JV, Pires PGS, Teixeira L, Maier JC, Bernardi E. Avaliação de alimentos secos industrializados para cães e gatos expostos ao ambiente. *Encicl Biosf.* 2014;10(19):306-18.
6. Ribeiro RN, Silva DCBC, Carvalho LRRA, Pereira HCS, Veríssimo TNS, Guerra RR. Percepção dos tutores sobre alimentação oferecida para animais de companhia no brejo paraibano. *Agrotec.* 2020;41(1-2):25-35. doi: 10.25066/agrotec.v41i1-2.50373.
7. Aquino S, Morales MA, Esper RH, Reis FC, Manginelli S, Potenza MR. Determinação da contaminação fúngica e análise da atividade de água de rações vendidas a granel no município de São Paulo. *Rev Educ Contin Med Vet Zootec CRMV-SP.* 2011;9(2):32.
8. Pereira CS, Cunha SC, Fernandes JO. Prevalent mycotoxins in animal feed: Occurrence and analytical methods. *Toxins (Basel).* 2019;11(5):290. doi: 10.3390/toxins11050290.

9. Leung MCK, Díaz-Llano G, Smith TK. Mycotoxins in pet food: a review on worldwide prevalence and preventative strategies. *J Agric Food Chem.* 2006;54(26):9623-35. doi: 10.1021/jf062363+.
10. Chaves LDCS, Rocha AO, Melo WGG, Macêdo YK, Muratori MCS, Santos JTO. Prevalência de contaminação fúngica em rações vendidas a granel na cidade de Teresina-PI. *Pubvet.* 2019;13(12):a461. doi: 10.31533/pubvet.v13n12a461.1-5.
11. Boermans HJ, Leung MCK. Mycotoxins and the pet food industry: toxicological evidence and risk assessment. *Int J Food Microbiol.* 2007;19(1-2):95-102. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.063.
12. Ülger TG, Uçar A, Çakıroğlu FP, Yilmaz S. Genotoxic effects of mycotoxins. *Toxicon.* 2020;185:104-13. doi: 10.1016/j.toxicon.2020.07.004.
13. Ekwomadu T, Mwanza M, Musekiwa A. Mycotoxin-Linked Mutations and Cancer Risk: A Global Health Issue. *Int J Environmen Res Public Health.* 2022;19(13):7754. doi: 10.3390/ijerph19137754.
14. Ferreira H, Pittner E, Sanches HF, Monteiro MC. Aflatoxinas: um risco a saúde humana e animal. *Ambiencian.* 2006;2(1):114-27.
15. Bulcão RP, Tonello R, Piva SJ, Schmitt GC, Emanuelli T, Dallegrave E, et al. Intoxicação em cães e gatos: diagnóstico toxicológico empregando cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta pressão com detecção ultravioleta em amostras estomacais. *Cienc Rural.* 2010;40(5):1109-13. doi: 10.1590/S0103-84782010000500017.
16. Gomes AR, Marcolongo-Pereira C, Sallis ESV, Pereira DIB, Schild AL, Faria RO, et al. Aflatoxicose em cães na região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesq Vet Bras.* 2014;34(2):162-6. doi: 10.1590/S0100-736X2014000200011.
17. Guterres K, Silva C, Giordani C, Matos C, Athayde C, Dilkin P, et al. Surto de aflatoxicose aguda em cães no município de Pelotas/RS. *Pesq Vet Bras.* 2017;37(11):1281-6. doi: 10.1590/S0100-736X2017001100014.
18. Marin DE, Taranu I. Overview on aflatoxins and oxidative stress. *Toxin Rev.* 2012;31(3-4):32-43. doi: 10.3109/15569543.2012.730092.
19. Kitya D, Bbosa GS, Mulogo E. Aflatoxin levels in common foods of South Western Uganda: a risk factor to hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2010;19(4):516-21. doi: 10.1111/j.1365-2354.2009.01087.x.
20. Campos SG. Monitoramento de aflatoxinas, fungos toxigênicos e níveis de contaminação em matérias primas e alimentos balanceados [tese] [Internet]. Seropédica (RJ): Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2007 [citado 5 Mar 2022]. Disponível em: <https://tede.ufrjr.br/jspui/handle/tede/809>
21. Biscoto GL, Salvato LA, Alvarenga ER, Dias RRS, Pinheiro GRG, Rodrigues MP, et al. Mycotoxins in Cattle Feed and Feed Ingredients in Brazil: A Five-Year Survey. *Toxins (Basel).* 2022;14(8):552. doi: 10.3390/toxins14080552.

22. Brasil. MAPA. Portaria MA/SNAD/SFA nº 7, de 9 de Novembro de 1988. Diário Oficial da União [Internet]. Brasília: MAPA; 1988 [citado 10 Jul 2023]. Disponível em: <https://www.jusbrasil.com.br/diarios/DOU/1988/11/09>
23. Bahniuk G, Corsini LM, Muller M, Pereira GMP, Batista KZS. Micotoxinas e Micotoxicoses em cães. Rev Educ Contin Med Vet Zootec CRMV-SP. 2011;19(1):e38135. doi: 10.36440/recmvz.v19i1.38135.
24. Garcia MD. Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola [dissertação] [Internet]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2004 [citado 1 Mar 2024]. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/4401/000411394.pdf>
25. Iamanaka BT, Oliveira IS, Taniwaki MH. Micotoxinas em alimentos. AAPCA. 2013;7:138-61.
26. Tortora J, Case CL, Funke BR. Microbiologia. 12a ed. Porto Alegre: Artmed; 2016.
27. Brasil. Conselho Nacional de Saúde. Lei nº 8.080, de 19 de Setembro de 1990. Diário Oficial da União [Internet]. Brasília: CNS; 1990 [citado 1 Mar 2024]. Disponível em: <https://conselho.saude.gov.br/legislacao/lei8080.htm>
28. Pimentel CC. Animais sinantrópicos na percepção de estudantes do ensino médio, estudo de caso em João Pessoa-PB [monografia] [Internet]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa; 2020 [citado 1 Mar 2024]. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/19241>

Recebido em: 24/06/2024

Aceito em: 24/03/2025