

## EFICÁCIA DE ADITIVO À BASE DE PAREDE CELULAR DE LEVEDURA NA DIETA DE LEITOAS INTOXICADAS COM ZEARALENONA

Danielle Fabião Gomes Moreira Leitão<sup>1</sup>  
Águida Aparecida de Oliveira<sup>1</sup>  
Kelly Moura Keller<sup>2</sup>  
Bruno da Silva de Vasconcelos<sup>3</sup>  
Luiz Antonio Moura Keller<sup>4</sup>  
Marcos Aronovich<sup>5</sup>  
Carlos Alberto da Rocha Rosa<sup>6</sup>

### RESUMO

As micotoxinas determinam perdas econômicas importantes para suinocultura e os adsorventes à base de parede celular de leveduras são uma alternativa para reduzir este problema. Considerando que a eficácia desses tipos de adsorventes são linhagem-dependentes, apresentando variabilidade de resposta em função da composição da parede celular da levedura utilizada, torna-se necessária a avaliação de cada novo produto antes de sua comercialização. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia de um aditivo anti-micotoxina (AAM) à base de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, Safmannan<sup>®</sup>, na prevenção da micotoxicose decorrente da ingestão de zearalenona (ZEA). Foram utilizadas 36 leitoas pré-púberes cujas dietas apresentaram dois níveis de inclusão de AAM (0,0 e 0,2%) e três níveis de inclusão de ZEA (0,0; 0,25 e 0,6 mg kg<sup>-1</sup> ou ppm). O período experimental teve duração total de 21 dias, sendo realizadas avaliações semanais de: peso vivo, ganho de peso, consumo de ração e volume vulvar; pesos relativos de fígado, trato reprodutivo total e o conjunto útero-ovário-vagina também foram calculados. A adição de 0,0% AAM com 0,6 ou 0,25 ppm ZEA na dieta de leitoas pré-púberes causou sinais clínicos de hiperestrogenismo. A adição do AAM nas dietas contendo ZEA demonstrou ser uma alternativa estatisticamente significativa para redução dos efeitos tóxicos desta micotoxina.

**Palavras-chave:** micotoxina, adsorvente, *Saccharomyces cerevisiae*, suínos.

### EFFECTIVENESS OF ADDITIVES BASED ON YEAST CELL WALL IN DIETS OF GILTS INTOXICATED BY ZEARALENONE

#### ABSTRACT

Mycotoxins determine important economic losses to the swine and adsorbents based on yeast cell wall are an alternative to reduce this problem. Whereas the effectiveness of these types of adsorbents is strain-dependent, with response variability depending on the composition of the yeast cell wall used, it becomes necessary assessment of each new product prior to its commercialization. Thus, the aim of this study was to evaluate the efficacy of an anti-

<sup>1</sup> Doutoranda em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Contato principal para correspondência: danifabiao@hotmail.com.

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária Universidade Federal de Minas Gerais.

<sup>3</sup> Setor de Suinocultura, Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

<sup>4</sup> Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Agrossocioambiental Sustentável, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense.

<sup>5</sup> Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro.

<sup>6</sup> Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

mycotoxin additives (AMA) based on the yeast cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*, Safmannan<sup>®</sup>, in preventing mycotoxicosis caused by ingestion of zearalenone (ZEA). A total of 36 pre-pubertal gilts, whose diets had two levels of AAM (0.0 and 0.2 %) and three inclusion levels of ZEA (0.0, 0.25 and 0.6 mg kg<sup>-1</sup> or ppm). The experimental period extended to 21 days and weekly, was measured the parameters: live weight, weight gain, feed intake and vulvar volume; relative weights of liver, total reproductive tract and the set uterus-ovary-vagina were also calculated. The addition of 0.0% AMA with 0.6 or 0.25 mg kg<sup>-1</sup> ZEA in the diet of pre-pubertal gilts caused clinical signs of hyperestrogenic. The addition of the AMA in diets containing ZEA proved to be a good alternative for reducing the toxic effects of this mycotoxin.

**Keywords:** mycotoxin, adsorbent, *Saccharomyces cerevisiae*, swine.

## EFICACIA DE ADITIVO A BASE DE PARED CELULAR DE LEVADURA EN LA DIETA DE CERDAS JÓVENES EXPUESTAS A ZEARALENONA

### RESUMEN

Las micotoxinas determinan pérdidas económicas significativas a la ganadería porcina y los adsorbentes de pared celular de levadura son una alternativa para reducir este problema. Considerando que la efectividad de estos tipos de adsorbentes son dependientes de la cepa, con variabilidad de la respuesta como una función de la composición de la pared celular de levadura utilizada, es necesario revisar cada nuevo producto antes de su comercialización. Así, el objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de un aditivo anti-micotoxinas (AAM) basado en la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*, Safmannan<sup>®</sup>, en la prevención de micotoxicosis como resultado de la ingestión de zearalenona (ZEA). Fueron utilizadas 36 cerdas jóvenes, cuyas dietas tenían dos niveles de inclusión de AAM (0,0 y 0,2%) y tres niveles de inclusión de ZEA (0,0, 0,25 y 0,6 6 mg kg<sup>-1</sup> o ppm). El ensayo tuvo duración total de 21 días, y se llevaron a cabo evaluaciones semanales de: peso corporal, ganancia de peso, consumo de alimento y el volumen de la vulva, también se calcularon los pesos relativos de hígado, tracto reproductivo total y conjunto útero-ovario vagina. La adición de 0.0% de AAM con 0,6 o 0,25 ppm ZEA en las dietas de las cerdas prepúberes causó signos clínicos de hiperestrogenismo. La adición de AAM en las dietas que contienen ZEA demostró ser una buena alternativa para reducir los efectos tóxicos de esta micotoxina.

**Palabras clave:** micotoxinas, adsorbente, *Saccharomyces cerevisiae*, cerdos.

### INTRODUÇÃO

Micotoxinas são substâncias tóxicas provenientes do metabolismo secundário de alguns fungos filamentosos, cuja composição apresenta baixo peso molecular e baixa capacidade imunogênica (1). As micotoxinas estão amplamente presentes em matérias-primas destinadas à alimentação animal, como grãos, em especial o milho (2), sendo responsáveis por gerar grandes prejuízos devido à contaminação da cadeia produtora de alimentos, risco para a saúde humana e impacto na saúde e na produção animal (3).

A zearalenona (ZEA) é uma micotoxina estrogênica, não esteroideal (4-7) produzida por fungos do gênero *Fusarium*, dentre os quais estão incluídos *F. graminearum* e *F. culmorum* (8). Estas espécies são encontradas, principalmente, em cevada, arroz, trigo e no milho (9).

Após sua ingestão, a ZEA é absorvida no trato gastrointestinal e biotransformada, principalmente no fígado, e são formados dois metabólitos,  $\alpha$  e  $\beta$  zearalenol (9), que causam

desordens reprodutivas e efeitos de hiperestrogenismo por se ligarem a receptores estrogênicos (10). A síndrome do hiperestrogenismo é observada em doses superiores a 0,1 ppm ZEA (9), sendo caracterizada visualmente pelo avermelhamento e o aumento dos lábios vulvares, podendo também ocorrer prolapso retal ou vaginal decorrente do relaxamento dos esfíncteres (11). Alterações macro e microscópicas também são observadas como metaplasia no corpo e cornos uterinos, na cérvis, vagina e glândula mamária. Os suínos são a espécie mais suscetível à ZEA (12), pois há maior formação de  $\alpha$  zearalenol, que possui maior afinidade pelos receptores estrogênicos (9).

O uso de aditivos anti-micotoxinas (AAM) é uma estratégia que pode ser usada para reduzir os efeitos negativos da intoxicação por ZEA, pois são capazes de adsorver, biotransformar ou neutralizar as micotoxinas (13). Existem várias substâncias que são capazes de se ligar a estes compostos tóxicos, evitando sua absorção intestinal a partir do alimento contaminado (3). A parede celular de leveduras (PCL) é um exemplo de substância adsorvente (14). Cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* têm sido largamente utilizados, por possuir componentes em sua parede celular capazes de adsorver uma variedade de micotoxinas dos alimentos (15), quando suplementados nas dietas dos animais (16). A composição em polissacarídeos, a estrutura e espessura da PCL variam consideravelmente (17). A parede celular da *S. cerevisiae*, tem uma dupla camada, consistindo numa estrutura multilaminar microfibrilar constituída por polissacarídeos (90 %), sendo os manano-oligosacarídeos (MOS) e os  $\beta$ -glucanos, os principais polímeros estruturais (18). Esta diversidade reflete-se com a presença de uma grande variedade de potenciais sítios para a complexação de moléculas (19). Desta forma, pode-se dizer que as propriedades benéficas das PCL são linhagem-dependentes e não podem ser extrapoladas ao gênero nem à espécie, tornando necessária a avaliação de cada nova cepa (ou produto derivado). Yiannikouris et al. (20) comprovaram *in vitro* este fato, demonstrando que a adsorção de ZEA foi correlacionada com a quantidade de  $\beta$ -D-glucanos contidos na parede celular da levedura. Quatro linhagens foram testadas, onde as que apresentaram níveis mais elevados de  $\beta$ -D-glucanos, foram capazes de adsorver maiores quantidades de ZEA, com maiores constantes de associação e taxas de afinidade. Enquanto que linhagens com conteúdos mais elevados de quitina apresentaram menor flexibilidade de suas paredes celulares, o que restringiu o acesso da ZEA aos sítios de ligação com os  $\beta$ -D-glucanos envolvidos na formação do complexo micotoxina-adsorvente.

Muitos ensaios *in vivo* já realizados estão disponíveis na literatura mundial, e visaram estudar os efeitos da ZEA em leitões pré-púberes, como também testar a eficácia de um aditivo anti-micotoxina, sendo este a base de PCL ou não. Porém, poucos são os trabalhos que possuam e/ou divulguem a composição centesimal do produto testado, sendo esta uma informação de grande importância, já que o efeito da adsorção a micotoxina está associado aos teores de glucanos e mananos. E ainda, este é o primeiro estudo que utilizou em sua metodologia estatística a comparação de médias via contraste ortogonal.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de um produto comercial, Safmannan<sup>®</sup>, à base de PCL e rico em MOS e  $\beta$ -glucanos, na prevenção dos efeitos tóxicos decorrentes da ingestão de ZEA.

## MATERIAL E MÉTODOS

O produto comercial à base de PCL utilizado como AAM no estudo foi o Safmannan<sup>®</sup> (Safmannan<sup>®</sup>, comercializado pela empresa Lesaffre do Brasil Produtos Alimentícios Ltda, São Paulo, Brasil). Trata-se de produto totalmente livre de resíduos de antibióticos, metais pesados, produtos químicos, e contaminantes microbianos, que apresenta a seguinte composição química: umidade 5% máx., proteína 28% máx., fósforo 1% mín.,  $\beta$ -glucanos

23% mín., MOS 21% mín., matéria seca 95% mín., gordura 20% mín. e cinzas 4% máx. Em sua composição física apresenta coloração creme a dourado, odor típico de levedura e sem evidências de impurezas. O nível de inclusão utilizado no experimento seguiu a dose máxima recomendada pelo fabricante, isto é  $2 \text{ g kg}^{-1}$  ou 0,2%.

A ZEA foi produzida por meio de fermentação controlada tendo o arroz branco polido como substrato de acordo com Jiménez et al. (21). Foi feita uma suspensão dos esporos fúngicos cultivados em água destilada que foi adicionada ao arroz. Foi utilizada a linhagem de *Fusarium graminearum* UNRC 3639, cultivada em placas de Petri em meio BDA (batata, dextrose, agar). Todo o núcleo de ZEA foi autoclavado, após o período de 30 dias, seco a  $50^\circ\text{C}$ , em estufa de secagem, e triturado. A ZEA foi extraída com solução de água destilada e acetronitrila, purificada pela coluna de extração MycoSep<sup>®</sup> 226 AflaZON de acordo com as informações do fabricante (Romer Labs<sup>®</sup>), e quantificada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O núcleo foi acrescido a dieta base dos animais na devida proporção, utilizando-se misturador do tipo Y, a fim de se obter as concentrações de 0,6 e de 0,25 ppm ZEA na ração experimental.

Foram utilizadas 36 leitões pré-puberes da linhagem Topigs com idade inicial de 34 dias e peso inicial médio de  $8 \pm 0,48 \text{ kg}$ . Os animais foram alojados em baias do tipo suspensa, sendo dois animais alocados em uma baia. As fêmeas passaram por um período de adaptação de sete dias, pois foram desmamadas e deslocadas por caminhão para o local do ensaio *in vivo*. Dessa forma precisaram se adaptar às novas instalações, alimentação e ambiente, garantindo assim a uniformidade inicial dos animais, que foi verificada através de parâmetros zootécnicos do período de adaptação. O período experimental foi de 21 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e três repetições por tratamento, sendo a baia a unidade experimental.

As leitões foram distribuídas nos tratamentos (dietas) que seguiram esquema fatorial  $2 \times 3$ , com dois níveis de inclusão de AAM (0,0 e 0,2%) e três níveis de inclusão de ZEA (0,0; 0,25 e 0,6 ppm) nas dietas, sendo 0,0% AAM + 0,0 ppm ZEA (T01), 0,2% AAM + 0,0 ppm ZEA (T02), 0,0% AAM + 0,25 ppm ZEA (T03), 0,2% AAM + 0,25 ppm ZEA (T04), 0,0% AAM + 0,6 ppm ZEA (T05), e 0,2% AAM + 0,6 ppm ZEA (T06).

Todas as fêmeas receberam água e ração à vontade. Os animais foram monitorados diariamente, três vezes ao dia, ao longo de todo o experimento. Ocorreu monitoramento diário da temperatura no local do experimento. Os parâmetros avaliados foram: peso vivo (PV), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e volume vulvar, determinado pela multiplicação da mensuração da altura, largura e profundidade da vulva das fêmeas, no 7º, 14 e 21º dia de experimento, medição feita com paquímetro digital. No final do experimento, três animais de cada tratamento foram abatidos, sendo respeitado o período médio de 6 horas de jejum alimentar com água *ad libitum*, e insensibilizados por eletroanestesia, seguindo os princípios do abate humanitário. As fêmeas foram então, evisceradas e seus órgãos, trato reprodutivo total, conjunto útero-ovário-vagina e fígado, foram retirados, pesados e medidos. O modelo do estudo seguiu as recomendações da Portaria nº 130 de 24 de Maio de 2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (22).

Devido às diferentes características nos dados coletados, utilizamos o modelo ANOVA padrão para os pesos relativos dos órgãos dos animais e o modelo ANOVA com medidas repetidas para as informações coletadas ao longo do tempo, considerando o efeito do tempo. Em ambos os casos testou-se o modelo completo, e isto significa que todas as variáveis e todas as possíveis interações foram testadas. Em casos de significância estatística de interações envolvendo o fator de interesse (AAM) foi aplicado o teste T-student via contrastes ortogonais.

Para dados não paramétricos (volume vulvar), foi necessário transformar a variável pelo uso de função logarítmica para garantir a suposição de normalidade. Todos os testes

estatísticos consideraram 5% de significância, e as análises foram conduzidas usando o programa computacional PROC GLM em SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, Cary, NC).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao peso vivo, não foi observada diferença significativa, mas houve diferença estatística significativa para a variável tempo ( $p < 0,01$ ) (Tabela 1). Esta diferença era esperada, já que ao longo das semanas as fêmeas apresentaram aumento de seu peso vivo. O consumo desta micotoxina não interferiu no peso vivo dos animais, pois a ZEA não afeta a digestibilidade das dietas. Além disso, a ingestão experimental de ZEA purificada nas dietas, sem a presença do fungo, não altera a composição nutricional dos ingredientes da ração (2).

Tabela 1. Efeito dos tratamentos (dietas) sobre o peso vivo (em Kg) ao 1<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup>, 14<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup> dia de experimento<sup>1</sup>.

Tratamentos (dietas)	Peso vivo (kg)			
	1 <sup>o</sup> dia	7 <sup>o</sup> dia	14 <sup>o</sup> dia	21 <sup>o</sup> dia
0,0% AAM				
0 ppm ZEA	11,10 ± 0,48	15,52 ± 1,21	20,10 ± 1,67	25,90 ± 1,40
0,25 ppm ZEA	10,47 ± 0,60	14,30 ± 1,08	19,04 ± 1,70	23,62 ± 2,18
0,6 ppm ZEA	11,08 ± 1,50	15,12 ± 1,81	19,38 ± 2,77	23,63 ± 3,42
0,2% AAM				
0 ppm ZEA	11,20 ± 0,85	15,13 ± 1,42	19,19 ± 1,71	23,46 ± 2,37
0,25 ppm ZEA	11,21 ± 0,96	15,23 ± 1,60	19,84 ± 1,86	24,25 ± 2,01
0,6 ppm ZEA	10,80 ± 1,25	14,28 ± 1,05	18,13 ± 1,40	23,25 ± 1,35

<sup>1</sup> Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições; AAM, Aditivo anti micotoxinas (Safmannan<sup>®</sup>); ZEA, zearalenona

Já para ganho de peso foi observado que houve efeito independente da variável AAM, bem como sua interação com ZEA e com ZEA e tempo conjuntamente ( $p < 0,05$ ). O tempo foi novamente significativo ( $p < 0,01$ ). Observando os resultados dos contrastes temos que o uso do AAM está associado ao menor peso independentemente de quaisquer outras variáveis (diferença de -0.31). Fixando-se o tempo adicionalmente ao ZEA observa-se que o uso do AAM está associado ao maior ganho de peso após 21 dias de tratamento na administração de ZEA a 0,6 ppm ( $p < 0,05$ ) e associada a menores pesos no começo do estudo (1<sup>a</sup> semana) sem uso de ZEA ( $p < 0,01$ ) (Tabela 2). Teixeira et al. (6) não observaram diferença de ganho de peso entre o grupo controle e o grupo intoxicado experimentalmente com 0,75 mg kg<sup>-1</sup> de ZEA, resultados em desacordo com o presente estudo.

Tabela 2. Efeito dos tratamentos (dietas) sobre o ganho de peso (em Kg) ao 7°, 14° e 21° dia de experimento<sup>1</sup>.

Tratamentos (dieta)	Ganho de peso (kg)		
	7° dia	14° dia	21° dia
0,0% AAM			
0 ppm ZEA	4,42 ± 0,89	4,58 ± 0,78	5,80 ± 0,80
0,25 ppm ZEA	3,83 ± 0,67	4,74 ± 0,69	4,58 ± 0,67
0,6 ppm ZEA	4,04 ± 0,80	4,26 ± 1,20	4,25 ± 0,78
0,2% AAM			
0 ppm ZEA	3,93 ± 0,65	4,06 ± 0,36	4,27 ± 0,98
0,25 ppm ZEA	4,02 ± 0,80	4,61 ± 0,60	4,41 ± 0,20
0,6 ppm ZEA	3,48 ± 0,56	3,84 ± 0,74	5,12 ± 0,49

<sup>1</sup> Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições; AAM, Aditivo anti micotoxinas (Safmannan<sup>®</sup>); ZEA, zearalenona

Com relação ao consumo de ração, a variável AAM sozinha não apresentou significância estatística, mas sua interação com os níveis de ZEA sim ( $p < 0,01$ ). Também foi observado efeito da variável tempo ( $p < 0,01$ ). O consumo de ração foi estatisticamente maior na ausência de AAM quando não há presença de ZEA (T01) ( $p < 0,01$ ). Considerando apenas a presença do AAM, o grupo de animais intoxicados com 0,25 ppm de ZEA tiveram maior consumo de ração ao final dos 21 dias (Tabela 3).

Tabela 3. Efeito dos tratamentos (dietas) sobre o consumo de ração ao 7°, 14° e 21° de experimento<sup>1</sup>.

Tratamentos (dieta)	Consumo de ração (kg)		
	7° dia	14° dia	21° dia
0,0% AAM			
0 ppm ZEA	5,77 ± 0,85	7,52 ± 0,55	9,02 ± 0,09
0,25 ppm ZEA	5,27 ± 0,53	7,15 ± 0,15	8,52 ± 0,18
0,6 ppm ZEA	5,33 ± 0,80	6,70 ± 1,48	7,97 ± 1,31
0,2% AAM			
0 ppm ZEA	5,40 ± 0,10	6,82 ± 0,54	7,89 ± 0,20
0,25 ppm ZEA	6,13 ± 0,33	7,66 ± 0,15	8,47 ± 0,19
0,6 ppm ZEA	5,04 ± 0,26	6,61 ± 0,66	8,08 ± 0,34

<sup>1</sup> Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições; AAM, Aditivo anti micotoxinas (Safmannan<sup>®</sup>); ZEA, zearalenona

Os resultados zootécnicos desse estudo, descritos anteriormente divergem com os de Ortiz et al. (16), que relataram ser benéfica a suplementação com AAM à base de parede celular de *S. cerevisiae* na dieta de monogástricos, pois promove o crescimento, possuindo ação promotora e favorável ao desenvolvimento e ao ganho de peso dos animais. Porém, de acordo com Andretta et al. (5) e Teixeira et al. (6) que relatam em suas pesquisas que a presença de ZEA não interferiu significativamente sobre os índices zootécnicos e sobre o desempenho produtivo dos animais.

Já para o volume vulvar (cm<sup>3</sup>) houve significância do uso do AAM independentemente das variações de ZEA ( $p < 0,01$ ), sendo que o volume vulvar é maior na ausência do uso do AAM (Tabela 4). Foram também significativos os níveis de ZEA ( $p < 0,01$ ), o tempo ( $p < 0,01$ ) e a interação de ZEA e tempo ( $p < 0,01$ ). Porém, não houve diferença significativa para a interação AAM e ZEA, mostrando que o AAM e a ZEA possuem efeitos fixos, o AAM possui a mesma capacidade de adsorção para as duas concentrações de ZEA, quando consideramos o volume vulvar. E ainda, o volume vulvar é sempre maior na ausência do uso do AAM, visto

nas fêmeas do grupo T03 e T05. Os sinais clínicos hiperestrogênicos nas leitoas destes grupos, já podem ser notados a partir da primeira semana do experimento, cujos resultados foram similares aos descritos por Andretta et al. (4), com a adição de 2 mg kg<sup>-1</sup> ZEA na ração de leitoas. Portanto, o volume vulvar é a primeira manifestação a ser observada quando há intoxicação por ZEA, uma vez que aumenta rapidamente. O monitoramento do volume vulvar é uma ferramenta importante para avaliar a intoxicação por ZEA, e consequentemente a eficácia do AAM.

A análise dos resultados do peso relativo dos órgãos após o abate não detectou nenhuma significância estatística quanto ao peso relativo do fígado. Portanto, a inclusão de ZEA e/ou AAM nas dietas não afetou o peso relativo do órgão. Estes resultados encontrados estão em acordo com os de Andretta et al. (4), que também não observaram diferença para o peso absoluto e relativo do fígado entre o grupo controle e os grupos que ingeriram a ZEA.

Tabela 4. Efeito dos tratamentos (dietas) sobre o volume vulvar ao 7°, 14° e 21° dia de experimento<sup>1</sup>.

Tratamentos (dietas)	Volume vulvar (cm <sup>3</sup> )		
	7° dia	14° dia	21° dia
0,0% AAM			
0 ppm ZEA	3,24 ± 0,95	3,48 ± 1,58	6,14 ± 3,58
0,25 ppm ZEA	4,24 ± 0,93	9,94 ± 4,23	19,02 ± 7,59
0,6 ppm ZEA	9,21 ± 5,16	16,61 ± 12,42	34,66 ± 19,97
0,2% AAM			
0 ppm ZEA	2,10 ± 0,69	2,86 ± 0,95	3,82 ± 0,83
0,25 ppm ZEA	3,25 ± 1,12	6,57 ± 2,51	12,06 ± 5,83
0,6 ppm ZEA	5,93 ± 4,03	15,83 ± 13,05	25,46 ± 15,24

<sup>1</sup> Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições; AAM, Aditivo anti micotoxinas (Safmannan<sup>®</sup>); ZEA, zearalenona

Já o peso relativo do trato reprodutivo total foi estatisticamente significativo quanto à variável AAM (p<0,05), independentemente dos níveis de ZEA. Como também houve diferença estatística significativa para a variável ZEA, sem a presença do AMM (p<0,01). O peso relativo foi maior na ausência do AAM (Tabela 5).

Tabela 5. Efeito dos tratamentos (dietas) sobre o peso relativo de órgãos ao 21° dia de experimento<sup>1</sup>.

Tratamentos (dietas)	Peso relativo de órgãos (%)		
	Fígado	Trato reprodutivo total	Conjunto útero-ovário -vagina
0,0% AAM			
0 ppm ZEA	3,376 ± 0,822	0,089 ± 0,017	0,060 ± 0,013
0,25 ppm ZEA	3,256 ± 0,388	0,260 ± 0,012	0,198 ± 0,019
0,6 ppm ZEA	2,623 ± 0,387	0,367 ± 0,048	0,293 ± 0,029
0,2% AAM			
0 ppm ZEA	3,103 ± 0,206	0,092 ± 0,012	0,082 ± 0,017
0,25 ppm ZEA	3,057 ± 0,214	0,197 ± 0,036	0,154 ± 0,018
0,6 ppm ZEA	3,127 ± 0,123	0,335 ± 0,009	0,266 ± 0,022

<sup>1</sup> Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições; AAM, Aditivo anti micotoxinas (Safmannan<sup>®</sup>); ZEA, zearalenona

Por fim, o peso relativo do conjunto útero-ovário-vagina após o abate foi significativo para a variável ZEA isolada ( $p < 0,01$ ), mostrando, mais uma vez, maior peso nas leitoas que consumiram ZEA na ausência de AAM. Ocorreu efeito da interação AAM e ZEA para este parâmetro, sendo que para as fêmeas intoxicadas com 0,25 ppm ZEA + 0,2% AAM (T04) ocorreu um menor peso relativo para este conjunto. Logo, o efeito do adsorvente foi dependente do nível de ZEA, não possuindo mais o efeito fixo para as duas concentrações de ZEA, sendo inclusive responsável por diminuir o peso relativo do conjunto útero-ovário-vagina quando aplicada a metodologia de contraste, comparando ao grupo T02 e T06.

Estes resultados concordam com Doll e Danicke (10), concluindo que o hiperestrogenismo causado pelo consumo de ZEA se torna mais evidente à medida que a concentração desta micotoxina aumenta. Os danos no trato reprodutivo das fêmeas são decorrentes da ingestão de ZEA, que ocorrem devido à competição desta micotoxina e de seus metabólitos, provenientes da metabolização hepática, pelos receptores estrogênicos (3).

A ingestão de ZEA causa aumento no útero em concentrações  $> 0,15 \text{ mg kg}^{-1}$  (4). Oliver et al. (12) descreveram resultados similares após o período de quatro semanas de consumo de ZEA, sendo que o peso do trato reprodutivo total dobrou em relação ao grupo sem ingestão de ZEA. Fato que ocorre em razão da ZEA e os seus metabólitos possuírem alta afinidade de ligação pelos receptores estrogênicos no útero (3), estimulando uma maior produção de proteínas pela parede uterina, causando o aumento do peso deste órgão (7).

O uso da parede celular de *S. cerevisiae* tem se tornado um método cada vez mais difundido na produção animal com o objetivo de amenizar os efeitos das micotoxinas já presentes nos alimentos. Com relação à ZEA, a inclusão de parede celular de *S. cerevisiae* na dieta apresenta cerca de 80% de capacidade de adsorção desta toxina (9), sendo que os  $\beta$ -glucanos podem ser responsáveis pela maior parte da adsorção, e que esta ligação ocorre na superfície da PCL (20).

Desta forma, a inclusão do AAM na dieta no presente estudo não produziu nenhum efeito negativo sobre os parâmetros analisados, sendo inclusive, capaz de melhorar significativamente alguns parâmetros, possuindo capacidade de ligação / adsorção frente às concentrações de ZEA testadas (0,25 e 0,6 ppm). Entretanto, Huwig et al. (14) relataram capacidade da parede celular de linhagem de *S. cerevisiae* em adsorver ZEA na concentração de 2,7 mg, bem superiores às do presente estudo. Tais resultados servem para reforçar nossa hipótese de que as propriedades benéficas dos micro-organismos são dependentes da linhagem, e reforçam a necessidade de estudos deste tipo para novos AAM à base de produtos biológicos.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram a eficácia do produto, pois a sua inclusão conseguiu prevenir os efeitos tóxicos da ZEA.

## AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à empresa Lesaffre do Brasil Produtos Alimentícios Ltda.

## COMITÊ DE ÉTICA

Todos os procedimentos realizados encontram-se de acordo com as normas e princípios éticos de experimentação animal, estabelecidos pelo Comitê de Ética na Pesquisa da

Universidade Federal do Rio de Janeiro, sendo o experimento aprovado pela mesma (protocolo 367/2013) em 11 de julho de 2013.

**APOIO E FINANCIAMENTO:** CNPq.

## REFERÊNCIAS

1. Keller LAM, Gonzalez Pereyra ML, Keller KM, Alonso VA, Oliveira AA, Almeida TX, et al. Fungal and mycotoxins contamination in corn silage: Monitoring risk before and after fermentation. *J Stored Prod Res.* 2013;52:42-47.
2. Hauschild L, Lovatto PA, Lehnen CR, Carvalho AA, Garcia GG, Mallmann CA. Digestibilidade e metabolismo de dietas de suínos contendo zearalenona com adição de organoaluminossilicato. *Pesq Agropec Bras.* 2007;42:219-224.
3. Bryden WL. Mycotoxin contamination of feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Anim Feed Sci Technol.* 2012;173:134-158.
4. Andretta I, Lovatto PA, Hauschild L, Dilkin P, Garcia GG, Lanferdini E, et al. Alimentação de leitões púberes com dietas contendo zearalenona. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2008;60: 1227-1233.
5. Andretta I, Lovatto PA, Lanferdini E, Lehnen CR, Rossi CAR, Hauschild L, et al. Alimentação de leitões pré-púberes com dietas contendo aflatoxinas ou zearalenona. *Arch Zootec.* 2010;59:123-130.
6. Teixeira LC, Ferreira-Montiani F, Dittrich-Locatelli R, Santini E, Alberton GC. Effects of zearalenone in prepubertal gilts. *Pesq Vet Bras.* 2011;31:656-662.
7. Mostrom MS. Zearalenone. In: GUPTA, R. C. *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles.* 2 ed. London: Academic Press, 2012. p.1266-1271.
8. Chatopadhyay P, Pandey A, Chaurasia AK, Upadhyay A, Karmakar S, Singh L. Hepatic hyperplasia and damages induces by zearalenone Fusarium Mycotoxins in BALB/c Mice. *Arch Gastroenterol.* 2012;49:77-81.
9. Fink-Gremmels J, Malekinejad H. Review Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. *Anim. Feed Sci Technol.* 2007;137:326-341.
10. DOLL S, Danicke S. The Fusarium toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) in animal feeding. *Prev Vet Med.* 2011;102:132-145.
11. Mallmann CA, Dilkin P. *Micotoxinas e micotoxicoses em suínos.* Santa Maria: Sociedade Vicente Palloti; 2007.
12. Oliver WT, Miles JR, Diaz DE, Dibner JJ, Rottinghaus GE, Harrell RT. Zearalenone enhances reproductive tract development, but does not alter skeletal muscle signaling in prepubertal gilts. *Anim Feed Sci Technol.* 2012;174:79-85.

13. Keller KM, Oliveira AA, Almeida TX, Keller LAM, Queiroz BD, Nunes LMT, et al. Efeito de parede celular de levedura sobre o desempenho produtivos de frangos de corte intoxicados com Aflatoxina B1. *Rev Bras Med Vet.* 2012;34:101-105.
14. Huwig A, Freimund S, Kappeli O, Dutler H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicol Lett.* 2001;122:179–188.
15. Arrieta D, Pérez ML, Foncesa JH, Oviedo MG, Miranda S, Luengo A. Efecto Del consumo de cultivo de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* y/o selenio em pollos de engorde expuestos a bajos niveles de Aflatoxina B1 en la dieta. *Rev Cient Facult Cienc Vet Univ Del Zulia.* 2008;18:93-102.
16. Ortiz A, Reuto J, Fajardo E, Sarmiento S, Aguirre A, Arbelaz G, et al. Evaluación de la capacidad probiótica “in vitro” de una cepa nativa de *Saccharomyces Cerevisiae*. *Univ Sci.* 2008;13:138-148.
17. Klis FM, Boorsma A, Groot PWJ. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast.* 2006;23:185-202.
18. Brady D, Stoll AD, Starke LE, Duncan JR. Chemical and enzymatic extraction of heavy-metal binding polymers from isolated cell-walls of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Bioeng.* 1994;44:297-302.
19. Zouboulis AI, Matis KA, Lazaridis NK. Removal of metal ions from simulated wastewater by *Saccharomyces* yeast biomass: Combining biosorption and flotation processes. *Separ Sci Technol.* 2001;36:349-365.
20. Yiannikouris A, François J, Poughon L, Dussap CG, Bertin G, Jeminet G, et al. Adsorption of zearalenone by beta-D-glucans in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *J Food Prot.* 2004;67:1195-1200.
21. Jiménez M, Máñez M, Hernández E. Influence of water activity and temperature on the production of zearalenone in corn by three *Fusarium* species. *Int. J. Food Microbiol.* 1996; 29:417-421.
22. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº130, de 24 de maio de 2006. Institui o Grupo de Trabalho sobre Micotoxinas em produtos destinados à alimentação animal. *Diário Oficial da União.* Brasília, DF, 25 de maio de 2006.

**Recebido em: 25/07/2015**

**Aceito em: 26/10/2016**