



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA**  
**COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)**  
**REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LTDA (LADA) E**  
**MAURICÉA ALIMENTOS DO NORDESTE LTDA**

**WILLIANE MARIA PEREIRA BARBOSA**

**RECIFE**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**WILLIANE MARIA PEREIRA BARBOSA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)**  
**REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LTDA (LADA) E**  
**MAURICÉA ALIMENTOS DO NORDESTE LTDA**

Relatório de Estágio apresentado à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), como exigência parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária, sob a orientação e supervisão da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mércia Rodrigues Barros.

**RECIFE**

**2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

B238r Barbosa, Williane Maria Pereira

Relatório do Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) realizado no Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA (LADA) e Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA / Williane Maria Pereira Barbosa. – Recife, 2019.

52 f.; il.

Orientadora: Mércia Rodrigues Barros.

Coorientador: Andréa Paiva Botelho Lapenda de Moura, Sineide Maria de Oliveira Vilela.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, BR-PE, 2019.

Inclui referências.

1. Avicultura 2. Nutrição animal 3. Sanidade animal 4. Milho como ração I. Barros, Mércia Rodrigues, orient. II. Moura, Andréa Paiva Botelho Lapenda de, coorient. III. Vilela, Sineide Maria de Oliveira, coorient. IV. Título

CDD 636.089



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**COORDENAÇÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)**  
**REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LTDA (LADA) E**  
**MAURICÉA ALIMENTOS DO NORDESTE LTDA**

Aprovado em \_\_\_/\_\_\_/2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

ORIENTADORA: Profa. Dra. Mércia Rodrigues Barros  
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

---

Profa. Dra. Andrea Paiva Botelho Lapenda de Moura  
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

---

Dra. Sineide Maria de Oliveira Vilela  
Médica Veterinária

## FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DO ESO

### I. ESTAGIÁRIO

NOME: Williane Maria Pereira Barbosa  
MATRÍCULA: 082.500.474 - 86  
CURSO: Medicina Veterinária  
PERÍODO LETIVO: 2019.1  
ENDEREÇO: Avenida Nossa Senhora da Saúde, Iputinga, Recife-PE.  
FONE: (81) 9 9942 -2042  
ORIENTADORA: Mércia Rodrigues Barros  
SUPERVISORA:LADA Laboratório de Diagnóstico Animal: Sineide Maria de Oliveira Vilela  
FORMAÇÃO: Medicina Veterinária  
SUPERVISOR: Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA: Luciano Simões de Melo  
FORMAÇÃO: Medicina Veterinária

### II. INSTITUIÇÕES/EMPRESAS

NOME: LADA Laboratório de Diagnóstico Animal  
ENDEREÇO: Rua Caratinga. nº25. Zumbi  
CIDADE: Recife  
ESTADO: Pernambuco  
CEP: 50.720-490  
FONE: (81) 3037-2902

NOME: Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA  
ENDEREÇO: Rodovia PE 90. Km 2. Estrada de Limeira Grande  
CIDADE: Carpina  
ESTADO: Pernambuco  
CEP: 55910-000

### III.FREQUÊNCIA

LOCAL: LADA Laboratório de Diagnóstico Animal  
INÍCIO E TÉRMINO: 15/10/2018 A 22/11/2018  
TOTAL DE HORAS ESTAGIADAS: 216 HORAS

LOCAL: Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA  
INÍCIO E TÉRMINO: 07/01/2019 A 12/02/2019  
TOTAL DE HORAS ESTAGIADAS: 216 HORAS

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proporcionar esta vitória, e aos demais espíritos e entidades de luz que me guiam, a vocês meus amigos obrigada por lutarem comigo nessa batalha, sei que muito do que sou vem de vocês e sei que sem vocês não sou nada.

Agradeço a minha família, em especial meus pais Maria Luiza e José Claudio, que fizeram tudo por mim, pela dedicação, orações, conselhos e todo carinho, por me acompanharem e emanarem força nessa longa trajetória, vocês são o pilar da minha vida, do que sou e do que pretendo ser em todos aspectos dessa vida. Ao meu irmão, Willams, se hoje eu sou curiosa, louca por ciências e ficção científica eu agradeço a você, por mostrar que o lado da ciência é lindo e cheio de possibilidades. A minha cunhada/irmã Tássia, posso não ter sido ofertada com uma irmã de sangue, mas Deus me deu uma de coração, obrigada por tudo.

Agradeço aos meus anjos de quatro patas e asas que hoje encontram-se perto do criador, muito obrigada por todo amor sincero que vocês ofertaram, sei que suas energias ainda estão comigo. A Salem, Virgulina e Fofa, meus companheiros obrigada por todas as noites ao meu lado.

Agradeço aos amigos da SV3 2013.2, nada disso teria sido fácil sem vocês. Em especial as "Gerosas", vocês sempre foram um ponto especial na universidade, a energia de vocês é um diferencial.

A Taciana Cássia a primeira na universidade que disse: Olha doida tu tem potencial, nada de preguiça, trabalhar pra abalar na Europa, tu é guerreira e um exemplo que quero seguir. Ana Laura, menina tu entrou um dia desses na minha vida, e parece que já nos conhecemos a milênios obrigada por ser uma irmã nos momentos bons e ruins. Jacilene Lourenço aquele mulherão que eu sempre vou admirar por toda garra e força. Joanne Isis meu doce a gente lutou e chorou juntas, eu sei o quanto tu é especial e guerreira. Barbara Nogueira tudo que sei de clinica de pequenos agradeço a você, para sempre estagiários do ambulatório mais sex da UFRPE.

Aos amigos que fiz durante a graduação os quais dividimos direta e indiretamente alegrias e alguns "aperrios", Dr. Vinícius Vasconcelos, Wanessa Ingrid, Luan Aleksander, Petrônio Junior, Yorhan Medeiros e demais colegas, a universidade integra até as amizades e assim como o conhecimento adquirido, levo vocês para sempre na minha vida.

Aos meus amores dos bons tempos de extensão Islane, Diogo, Manoel e Thomaz, eternas saudades da companhia e gratidão por ter vivido isso com vocês.

*"In memoriam"* a André Felipe Ferreira Torres, não há palavras suficientes para expressar a gratidão por ter te conhecido e adjetivar a saudade que sinto.

A todos os professores que contribuíram com meu conhecimento durante esses anos de graduação. Aos meus primeiros orientadores de pesquisa Prof. Dr. Alessandro Jacinto e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Hellen Cordeiro, vocês foram o início de tudo que segui. Em especial aos professores, Dr. Valdemiro Junior, ao senhor serei eternamente grata por acreditar em mim e pelos conselhos que vou levar comigo para toda vida. Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mércia Barros orientadora, sou grata por todos os ensinamentos, paciência e palavras acolhedoras ofertados a mim, a senhora será sempre a minha musa da avicultura, o exemplo de profissional que quero ser. A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Andrea Paiva minha musa nerd da inspeção, sou eternamente grata por toda ajuda durante o ESO.

À Equipe do melhor laboratório de Patologia Animal do Brasil se há outro melhor eu desconheço, sempre vou levar vocês comigo seus lindos, em especial, Pedro Paulo, Amanda de Deus, Mariana, Rômulo, Natalia, Thiago, Alluanan, Ebla, Almir, Stephanie, Saulo e Renan obrigada por terem me recebido de braços abertos, pelos quilos ganhos com nossas festinhas e pela simplicidade de vocês.

A Equipe da COZZI, por oferecer refeições maravilhosas no melhor R.U do Brasil. ♥ saudades inclusive.....

À Equipe do Lada Laboratório, Dr<sup>a</sup>. Sineide e Dr<sup>a</sup> Saruanna, foi muito gratificante e prazeroso trabalhar com vocês, duas mulheres maravilhosas e exemplos de profissionais que sigo. Saruanna você é uma pessoa iluminada, que Deus te devolva em dobro todo esse carinho que você demonstrou todos os dias do estágio, morro de saudades das nossas conversas.

À Equipe do Mauricéa Alimentos, em especial a Dr<sup>o</sup> Luciano Simões sou eternamente grata por me receber de braços abertos em uma empresa do porte da Mauricéa. Aos Médicos Veterinários e supervisores Dr<sup>a</sup> Daniely Gonçalves, Dr<sup>a</sup> Alessandra Paulino e Dr<sup>o</sup> Hallan Thomaz meu eterno agradecimento por todo conhecimento ofertado, pela oportunidade de fazer parte da equipe e acima de tudo pela amizade que os tenho para toda vida. Ao técnico de incubatório Wilson Félix obrigada por repassar seu conhecimento de forma simples e didática.

Aos demais funcionários da Mauricéa os quais tive a oportunidade de conviver boa parte do estágio, meu eterno agradecimento por toda gentileza e humildade de vocês: Ednaldo, Jócelio, Thalyne, Denise, Tarciano, Jair, Henrique, João Paulo, Josival, Madison, Daniel, Roberto, Oseas, José Sergio, Maciel, Valmir, Joabson, Ilton e Rosileide.

Aos colegas de alojamento Fabiano, Eronilson (Nilsinho) e Isacc agradeço o acolhimento e o cuidado de vocês nesses 27 dias.

A UFRPE, que foi minha segunda casa durante todos esses anos de graduação, hoje digo até logo, mas o meu coração sempre será UFRPE, te amo minha Ruralinda. ♥

E por último agradeço a todos aqueles que me inspiraram a gostar de ciências e ter curiosidade pela vida, sou eternamente grata pela existência de vocês.

EXCELSIOR!

*"Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes".*

***Isaac Newton***

*"Deixem que o futuro diga a verdade e avalie cada um de acordo com o seu trabalho e realizações. O presente pertence a eles, mas o futuro pelo qual eu sempre trabalhei pertence a mim."*

***Nikola Tesla***

## RESUMO

Este relatório apresenta as atividades desenvolvidas durante o Estágio Supervisionado Obrigatório, que foi realizado de 15 de outubro de 2018 a 12 de fevereiro de 2019 no Laboratório de Diagnóstico Animal (LADA) e Mauricéa Alimentos do Nordeste Ltda. As principais atividades desenvolvidas no LADA foram Necropsia em aves, Ensaio de Imunoabsorção Enzimática ELISA, teste de Soro Aglutinação Rápida (SAR), antibiograma, pesquisa de micotoxinas em matéria prima, análise microbiológico de água e pesquisa de *Salmonella* spp em ovos. Na Mauricéa Alimentos as principais atividades foram o acompanhamento no manejo de produção na fabricação de rações, laboratório de Bromatologia, além de acompanhar o manejo em incubatório, granjas de matrizes e frango de corte. Em atividades do LADA, também foi realizada a avaliação de amostras de milho destinadas a avicultura, com o objetivo de realizar detecção de Micotoxinas através de Teste ELISA. Diante do exposto, torna-se importante a análise e estudo mais aprofundado dos danos gerados pela presença das micotoxinas nos cereais destinados a alimentação animal e humana.

**Palavras-chave:** Avicultura, Sanidade, Nutrição, Milho

## ABSTRACT

This report presents the activities carried out during the Mandatory Supervised Internship, which was held from October 15, 2018 to February 12, 2019 at the Animal Diagnostic Laboratory (LADA) and Mauricéa Alimentos do Nordeste Ltda. The main activities carried out at LADA were poultry necropsy, ELISA Enzyme Immunosorbent Assay, Rapid Agglutination Serum (SAR) test, antibiogram, raw material mycotoxin screening, microbiological water analysis and *Salmonella* spp egg screening. At Mauricéa Alimentos, the main activities were monitoring production management in feed production, bromatology laboratory, as well as monitoring the management in hatchery, poultry farms and broiler chicken. In LADA activities, the evaluation of maize samples for poultry was also performed, with the purpose of performing Mycotoxin detection by ELISA. Given the above, it is important to further analyze and study the damage generated by the presence of mycotoxins in cereals intended for animal and human consumption.

**Keywords:** Poultry industry, Health, Nutrition, Corn

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA (LADA), Recife - PE, 2019.....	13
Figura 2. Farinhas de origem animal (FOA's).....	14
Figura 3. Processamento de Farinhas de origem animal. ....	16
Figura 4. Colônias de <i>Salmonella</i> spp em ágar XLD. ....	16
Figura 5. Kit AgraQuant® da RomerLabs® para Fumonisina.....	17
Figura 6. Espectrofotômetro da Stat Fax para leitura de densidade óptica. ....	18
Figura 7. Teste de Antígeno Colorido da empresa INATA® para Aglutinação Rápida de <i>Salmonella Pullorum</i> .. ....	19
Figura 8. Análise microbiológica em ovos comerciais. ....	19
Figura 9. Análise microbiológica em água. ....	20
Figura 10. Entrada principal da Fábrica de rações da Mauricéa Alimentos LTDA na cidade do Carpina - PE, 2019 .....	21
Figura 11. Fábrica de Rações da Mauricéa Alimentos em Luis EduardoMagalhães - BA, 2019.....	22
Figura 12. Sala de controle central da Fábrica de Rações da Mauricéa Alimentos LTDA em Carpina -PE, 2019.. ....	23
Figura 13. Técnica realizando análise em amostra de farinha de carne da Fábrica de Rações da Mauricéa Alimentos LTDA em Carpina -PE, 2019. ....	24
Figura 14. Vacinação em matrizes reprodutoras da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019 .....	25
Figura 15. Funcionários realizando seleção dos ovos, recém chegados ao incubatório da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019.....	26
Figura 16. Incubadora de estágio múltiplo da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019.....	27
Figura 17. Sala dos nascimentos da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019. ....	28
Figura 18. Sala de expedição da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019.. ....	29
Figura 19. Galpão de pressão negativa, localizado em Vicência - PE, da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019.....	30
Figura 20. Alojamento dos pintainhos em granja na cidade de Glória do Goitá - PE, da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019. ....	31
Figura 21. Princípio do ELISA competitivo direto para análises de micotoxinas. ....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação do milho segundo a Instrução Normativa 60 de 22 de Dezembro de 2011 do MAPA.....	34
Tabela 2. Principais micotoxinas de interesse na avicultura. ....	35
Tabela 3. Limites de segurança de micotoxinas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) recomendados pelo LAMIC (Laboratório de análises micotóxicológicas) para aves de produção .....	40
Tabela 4. Pontos críticos de controle (PCC), na prevenção de micotoxinas em grãos. ....	41
Tabela 5. Níveis de contaminação em milho por Aflatoxina, Fumonisina e T2 em amostras de milho destinadas a avicultura. ....	43

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>µg/kg</b>	Micrograma por quilo
<b>µl</b>	Microlitro
<b>AFLA</b>	Aflatoxina
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>BHI</b>	Infusão de cérebro e coração
<b>DAS</b>	Diacetoxyscirpenol
<b>DON</b>	Desoxinivalenol
<b>ELISA</b>	Ensaio de imunoabsorção enzimática
<b>FOA's</b>	Farinhas de origem animal
<b>FUMO</b>	Fumonisina
<b>HI</b>	Inibição da Hemaglutinação
<b>HT-2</b>	Tricoteceno
<b>LADA</b>	Laboratório de diagnóstico animal
<b>LAMIC</b>	Laboratório de análises micotóxicológicas
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
<b>OCRA</b>	Ocratoxina
<b>PCC</b>	Pontos críticos de controle
<b>SFP</b>	Ágar Sahid Ferguson Perfringens
<b>T-2</b>	Tricoteceno
<b>TSI</b>	Meio Triplo Açúcar Ferro
<b>UFRPE</b>	Universidade Federal Rural de Pernambuco
<b>UFC</b>	Unidades formadoras de colônias
<b>XLD</b>	Ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato
<b>ZEA</b>	Zearalenona

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I - DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO E ATIVIDADES REALIZADAS</b> .....	12
<b>1 LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL LTDA (LADA)</b> .....	12
<b>1.1 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS – LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL (LADA)</b> .....	14
1.1.1 Análise microbiológica em farinhas de origem animal e rações .....	15
1.1.1.1 Pesquisa de micotoxinas.....	17
1.1.2 Análises sorológicas .....	18
1.1.3 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp em ovos .....	19
1.1.4 Pesquisa de <i>salmonella</i> spp em materiais biológicos .....	20
1.1.5 Análise microbiológica da água .....	20
<b>2 MAURICÉA ALIMENTOS DO NORDESTE LTDA</b> .....	21
<b>2.1 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NA MAURICÉA ALIMENTOS DO NORDESTE LTDA</b> .....	22
2.1.2 Fábrica de rações .....	22
2.1.3 Laboratório de bromatologia .....	23
2.1.4 Granja de matrizes pesadas reprodutoras .....	24
2.1.5 Incubatório.....	25
2.1.6 Granjas de integração .....	29
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE O ESO</b> .....	31
<b>CAPÍTULO II – ANÁLISE DE MICOTOXINAS EM AMOSTRAS DE MILHO (<i>ZEA MAYS L.</i>) UTILIZADAS A FORMULAÇÃO DE RAÇÕES DESTINADAS À AVICULTURA.</b> .....	32
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	32
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	33

Milho ( <i>Zea mays</i> L.).....	33
Micotoxinas .....	34
<b>PRINCIPAIS MICOTOXINAS DE INTERESSE NA AVICULTURA .....</b>	<b>35</b>
<b>TOXINAS MAIS IMPORTANTES NO BRASIL.....</b>	<b>36</b>
<b>AFLATOXINAS .....</b>	<b>36</b>
Mecanismos de ação das Aflatoxinas.....	36
Principais efeitos das aflatoxinas sobre as aves .....	37
<b>FUMONISINAS.....</b>	<b>38</b>
Mecanismos de ação das Fumonisinias.....	38
Principais efeitos das fumonisinias sobre as aves .....	38
<b>TRICOTECENOS .....</b>	<b>38</b>
Mecanismos de ação das Tricotecenos.....	39
Principais efeitos das Tricotecenos sobre as aves .....	39
<b>LIMITES MÁXIMOS DE MICOTOXINAS RECOMENDADOS PARA AVES DE PRODUÇÃO .....</b>	<b>39</b>
<b>MEDIDAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE NA CONTAMINAÇÃO POR MICOTOXINAS.....</b>	<b>40</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>41</b>
Coleta de dados.....	41
Testes imunoenzimáticos.....	41
Procedimento .....	42
Critérios de interpretação.....	43
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>43</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>

## **CAPÍTULO I - DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO E ATIVIDADES REALIZADAS**

O ESO é um requisito da graduação para a formação do médico veterinário, sendo de suma importância para a capacitação do profissional, este período possibilita ao estudante de Medicina Veterinária viver experiências práticas que irá contribuir para prepará-lo para o mercado de trabalho e garantindo a prática do conteúdo teórico vivenciado dentro das aulas da graduação.

Foi realizado em dois locais diferentes, a primeira etapa foi realizada no Laboratório de diagnóstico animal LTDA (LADA), localizado no Bairro do Zumbi, Recife-Pernambuco, no período de 15/10/2018 a 22/10/2018, o que gerou um total de 216 horas sob a supervisão da Médica Veterinária Sineide Maria de Oliveira Vilela e da Médica Veterinária Saruanna Millena dos Santos Clemente.

A segunda etapa foi realizada na Empresa Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA, localizado no Bairro Estrada de Limeira Grande, Carpina - Pernambuco, no período de 07/01/2019 a 12/02/2019, o que gerou um total de 216 sob a supervisão do Médico Veterinário Luciano Simões de Melo. E a orientação acadêmica da Profa. Dra. Mércia Rodrigues Barros do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE/SEDE.

### **1 Laboratório de diagnóstico animal LTDA (LADA)**

É um laboratório particular (Figura 1) localizado na Rua Caratinga, nº25, Bairro Madalena na cidade do Recife-PE. O horário de funcionamento é de 08:00 às 18:00 horas, de segunda a sexta-feira. A estrutura física compreende:

- Sala de Reuniões
- Sala de Administração
- Laboratório
- Sala de descontaminação
- Sanitário
- Almojarifado
- Copa
- Pátio



**Figura 1.** Laboratório de Diagnóstico Animal LTDA (LADA), Recife -PE, 2019.

**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

O LADA tem como principal atividade, análise e diagnóstico voltado ao setor avícola, as amostras recebidas diariamente eram oriundas de diferentes granjas de frangos de corte, granjas de poedeiras comerciais e incubatórios, além fábricas de ração destinadas a avicultura, sendo realizado testes como:

- Teste de inibição da Hemaglutinação (HI) para Doença de Newcastle.
- Soro aglutinação rápida (SAR) para *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasmasynoviae*.
- Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) para *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, Pneumovírus aviário, Doença Infecciosa Bursal (Gumboro), Vírus de Bronquite infecciosa e Doença de Newcastle.
- Pesquisa de micotoxinas (Aflatoxina, Fumonisina e Toxina T-2).
- Análises microbiológicas para *Salmonella* sp., *Clostridium* sp., e *Escherichia coli*.
- Pesquisa de *Salmonella* spp em ovos.
- Necropsia de aves da indústria avícola
- Antibiograma.
- Teste de eficiência de desinfetantes.
- Monitoria sanitária em incubatórios.
- Análise bacteriológica da água.

- Testes micológicos.

### 1.1 Atividades desenvolvidas – Laboratório de Diagnóstico Animal (LADA)

Objetivou-se estagiar no LADA para acompanhar a rotina do laboratório, que processa amostras de farinhas de origem animal (Figura 2), milho, farelo e ração de frango de corte, além de água, aves, ovos de poedeiras comerciais, desinfetantes diariamente, essas amostras eram provenientes de granjas do estado de Pernambuco, e todas as amostras eram catalogadas diariamente em um caderno de controle, onde está anexado informações sobre:

- Empresa de origem
- Data de recebimento
- Tipo de amostra
- Data de coleta
- Local da coleta
- Responsável pela coleta
- Análise microbiológica requisitada pela empresa ou responsável técnico



**Figura 2.** Farinhas de origem animal.  
**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

Antecipadamente eram preparados os meios de cultura e materiais que foram usados no decorrer da semana, tais como:

- Água Peptonada
- Caldo Rappaport-Vassiliadis
- Caldo Infusão Cérebro e Coração (BHI)
- Caldo Lauril Sulfato
- Meio à base de Uréia
- Ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD)
- Ágar Levine
- Ágar Mueller Hinton
- Ágar Sahid Ferguson Perfringens (SFP)
- Ágar Sangue
- Ágar Sabouraud
- Ágar Citrato de Simmons
- Ágar Triplo Açúcar Ferro (TSI)
- Ágar Lisina

### **1.1.1 Análise microbiológica em farinhas de origem animal (FOA's) e rações**

No processamento das amostras de farinhas de carne, vísceras e penas, primeiro realizava-se a pesagem das amostras em uma balança de precisão, correspondente a 25 gramas, após pesadas foram direcionadas a uma sala de processamento de amostras biológicas, onde eram adicionadas em um saco plástico estéril (Zip Lock®) para homogeneização previamente identificada com o número da amostra (Figura 3).



**Figura 3.** Processamento de Farinhas de origem animal.  
**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

Então com o auxílio de um bico de Bunsen, foram transferidos para 225 ml de água peptonada a 0,1% em uma proveta estéril. Em seguida eram despejadas no saco de homogeneização contendo a amostra de FOA's e Rações, após eram transferidas para a etapa de cultivo, para realizar as diluições necessárias ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) depois passadas para placas de Petri ou tubos de ensaio com meios de cultura específicos para cada microorganismo a ser analisado como por exemplo, para pesquisa de *Salmonella* spp incuba-se a diluição por 24 horas e depois se transfere 1ml desta solução para o Caldo Rapaport (9ml), para então incubar novamente e em 24 horas semear em placa de petri contendo Ágar XLD, para então serem incubadas em anaerobiose por 24 a 48 horas a  $37^{\circ}$  C, e posteriormente procedeu-se a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) (Figura 4).



**Figura 4.** Colônias de *Salmonella* spp em ágar XLD.  
**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

### 1.1.1.1 Pesquisa de Micotoxinas

Na rotina de pesquisa de micotoxinas era utilizando o teste ELISA de bloqueio ou competição, sendo utilizado o Kit AgraQuant® da RomerLabs® (Figura 5), que baseia-se em reações antígeno-anticorpo detectáveis através de reações enzimáticas por anticorpos marcados com uma enzima. A leitura foram realizadas no espectrofotômetro.



**Figura 5.** Kit AgraQuant® da RomerLabs® para Fumonissina.  
**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

A análise foram realizadas principalmente em grãos, farelo e ração peletizada de milho, sendo as toxinas pesquisadas comumente no laboratório: Aflatoxina, Fumonissina e Toxina T2, sabe-se que há outras micotoxinas, mas as mencionadas eram as mais requisitadas pelas empresas que procuram o laboratório.

Para o teste passou-se 20g da amostra moída e diluiu em 100 ml de álcool metílico a 70% e então agitava-se sem interromper por três minutos, deixava-se decantar e então usava-se o sobrenadante para análise, então nos poços de diluição foi adicionado 100µL da amostra e 200µL do conjugado (proporção de 1:2), em seguida foi coletada uma alíquota de 100µL dessa amostra que é adicionada em um poço sensibilizado, e incubado por 10 ou 15 minutos conforme a micotoxina a ser analisada, após esse período foi realizada cinco lavagens com água destilada, e logo após, realizada a secagem desses poços por processo mecânico, então foi adicionado 100µL do substrato e imediatamente realizada outra incubação por mais cinco minutos, após esse

período foi acrescentada uma solução STOP. Após o término destas etapas as placas eram submetidas à leitura da densidade óptica em um espectrofotômetro (Figura 6).



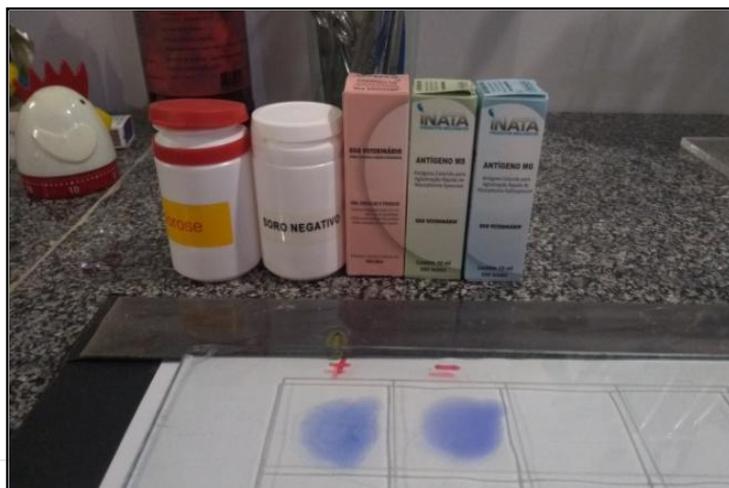
**Figura 6.** Espectrofotômetro da Stat Fax para leitura de densidade óptica.

**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

Além desta técnica, o laboratório também realizava o teste ELISA com os kits da IDEXX® e da BIOCHEK®, sempre de acordo com a análise requisitada, seguindo as instruções dos respectivos fabricantes.

### 1.1.2 Análises sorológicas

O teste de soro aglutinação rápida (SAR) foi utilizado para a identificação da presença de anticorpos de *Salmonella* sp em diferentes amostras de soro, sendo utilizado o kit da empresa INATA® (Figura 7), então seguindo as instruções do fabricante, a primeira etapa consistiu em realizar a centrifugação das amostras de sangue para obtenção do soro, então foram adicionados partes iguais de antígeno e soro e estas foram homogeneizadas e após dois minutos verificou-se a presença ou não de grumos, indicando a formação da reação de antígeno-anticorpo.



**Figura 7.** Teste de Antígeno Colorido da empresa INATA® para Aglutinação rápida de *Salmonella Pullorum*.

**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

### 1.1.3 Pesquisa de *Salmonella* spp em ovos

Para a pesquisa de *Salmonella* em ovos comerciais foram realizados primeiramente uma etapa de pré-enriquecimento, onde foram pesados 25g de amostra (pool contendo 10 gemas) (Figura 8A) e então foram adicionado 225 ml de água tamponada a 0,1% (Figura 8B), após a diluição e homogeneização as amostras foram incubada em jarras contendo o sistema de anaerobiose a 37° C por 24 horas.



**Figura 8.** Análise Microbiológica em ovos comerciais.

**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

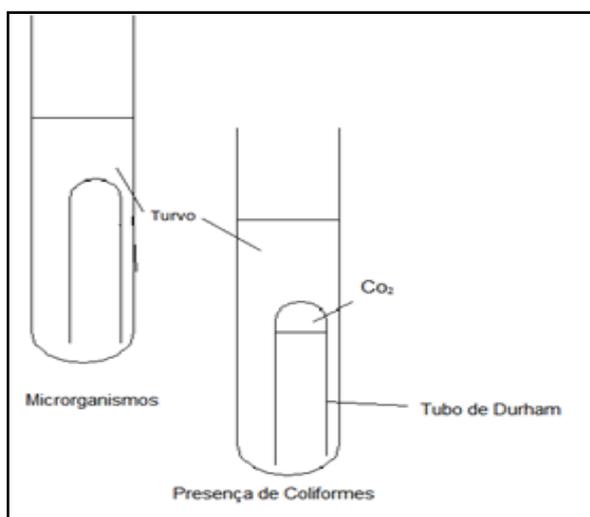
Após a primeira incubação, foram adicionados 1 ml das amostras em 9ml do meio de enriquecimento caldo Rappaport-Vassiliadis, e então as amostras foram incubadas novamente sob as mesmas condições acima citadas. Posteriormente foram realizadas as sementeiras em Ágar XLD, e realizada incubação a 37°C de 24 a 48 horas, para em seguida proceder com a análise.

#### 1.1.4 Pesquisa de *Salmonella* spp em materiais biológicos

No total foram realizadas no período de vivência quatro necropsias com a finalidade de pesquisa de *Salmonella* spp isolamento bacteriano em aves matrizes (reprodutoras) e frango de corte. Foram coletados órgãos como: coração, fígado, baço, gema e ceco. As etapas consistiram em um pré-enriquecimento com 225 ml de água tamponada a 0,1%, após o período de 24 horas em condições de anaerobiose, então a amostra foram diluídas, homogêneas e adicionadas a 9 ml em meio seletivo caldo Rappaport-Vassiliadis e novamente incubadas em jarras contendo o sistema de anaerobiose a 37°C por 24 horas. Em seguida, procedeu-se a sementeira em ágar XLD, incubando-se a 37°C, por 24 a 48 horas, e procedeu-se à leitura.

#### 1.1.5 Análise microbiológica da água

Para a análise de detecção da presença de coliformes totais em amostras de água, as amostras foram submetidas a diluições decimais de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em triplicata, e então foram adicionadas em um tubo de ensaio contendo caldo Laurilsulfato de sódio e tubo de Durham (Figura 9), essas amostras foram incubadas a 37° C por 24 horas, e após esse período foram analisadas para verificar evidências de formação de gás no tubo de Durham.



**Figura 9.** Análise microbiológica em água.

Fonte: <https://www.ebah.com.br/content/ABAAAFPX8AG/coliformes>.

Finalizado as análises, o material foi descontaminado, e realizado a higienização das vidrarias e os materiais utilizados, sendo utilizadas soluções cloradas, além disso, todo material biológico contaminado foi descartado, e posteriormente coletado por uma empresa especializada (Stericycle®) uma vez por semana geralmente as sextas-feiras, também era realizada a limpeza do laboratório e descontaminação pela técnica de fumigação utilizando Permanganato de potássio ou Formaldeído em pó.

## 2 Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA

A segunda etapa do ESO foi realizada no período de 07/01/2019 a 12/02/2019 com carga horária de 216 horas na empresa Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA (Figura 10), situada no município de Carpina-PE, sob supervisão do Médico Veterinário Luciano Simões de Melo.



**Figura 10.** Entrada principal da Fábrica de rações da empresa Mauricéa Alimentos LTDA, na cidade de Carpina-PE, 2019.

**Fonte:** <https://www.google.com/maps/@-7.8302122,-35.2667346,3a,60y,81.62h,80.41t/data=!3m6!1e1!3m4!1sMW5RPPH06QnB6sDsJEbeJw!2e0!7i13312!8i6656>.

A empresa atua em diversas etapas da cadeia produtiva no setor avícola, desde o processo de produção de rações tanto para as aves dos aviários integrados da empresa, quanto para venda externa, além da produção aves matrizes(reprodutoras), produção de aves frangos de corte, ovos férteis e de consumo, além de abatedouro.A empresa possui quatro parques industriais em Pernambuco, seis parques na Bahia (Figura 11) e uma filial na Paraíba responsável pela produção ovos de consumo comercial.



**Figura 11.** Fábrica de Rações da Mauricéa Alimentos LTDA em Luis Eduardo Magalhães-BA, 2019.

**Fonte:** Luciano Simões de Melo, 2019.

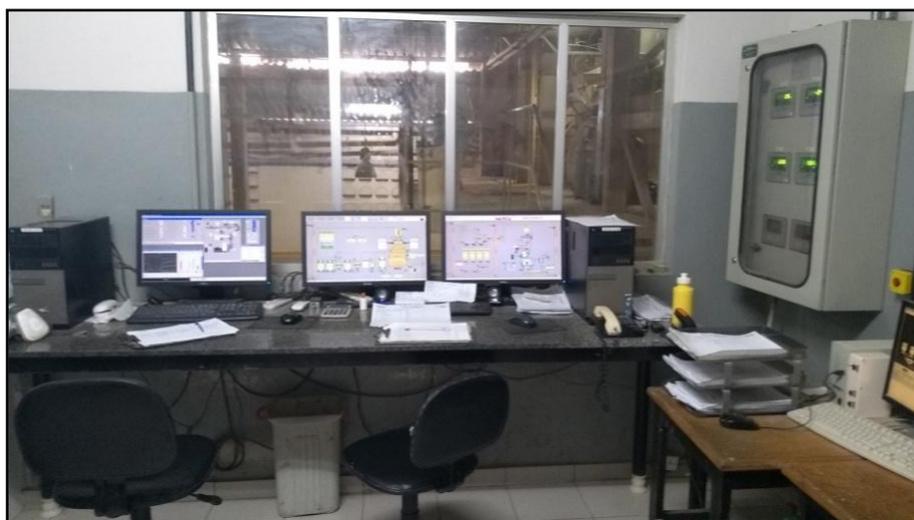
## **2.1 Atividades desenvolvidas na Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA**

Durante o estágio foram realizadas visitas de assistência técnica, acompanhando assim o manejo e a rotina nas granjas de matrizes reprodutoras e frangos de corte, além da rotina no incubatórios e fábrica de rações. Também houve a oportunidade de observar o desenvolvimento de atividades administrativas no escritório da empresa referente aos alojamentos dos pintainhos e reunião com novo integrado.

### **2.1.2 Fábrica de Rações**

O primeiro momento consistiu em acompanhar a rotina da fábrica de rações e laboratório de Bromatologia, esses setores trabalham em conjunto na produção de rações destinadas tanto para demanda da empresa, seja para alimentação das aves nos aviários integrados, granjas de matrizes reprodutoras e poedeiras comerciais da Mauricéa, quanto para venda externa, além disso, a fábrica é responsável por produzir rações para outras espécies, como equinos, bovinos, caprinos e suínos, e todo esse processo é supervisionado por técnicos e seguindo todos os critérios para produção de rações com qualidades e todo processo controlado.

No momento da realização do ESO a Fábrica de ração era dividida em três partes: recebimento, processamento e expedição, e em cada setor há técnicos responsáveis por gerir todos os processos técnicos referentes a produção das rações, todo processo era gerido e monitorado por um software SAFRA/RBD que controlam toda produção (Figura 12).



**Figura 12.** Sala de controle central da Fábrica de Rações da Mauricéa Alimentos LTDA em Carpina -PE, 2019.

**Fonte:** Arquivo Pessoal,2019.

Também possuíam silos graneleiros utilizados para estocagem de cereais, sala de estoque de aditivos, vitaminas, minerais, balança com capacidade de pesagem desde 10 kg, 200 kg ou mais, tanques de armazenagem para os óleos de origem animal e vegetal, moinho de martelos com motor adequado para triturar cereais, misturador de ração condizente com a necessidade da produção, roscas sem fim cuja finalidade é transportar as matérias primas para o misturador tal como transferir a ração pronta para as carretas ou silos de armazenagem.

### **2.1.3 Laboratório de Bromatologia**

No laboratório de Bromatologia era realizada as análises de forma mais detalhada, em amostras de grãos, farinhas e óleos de origem animal e vegetal que chegavam a fábrica, ou seja, os técnicos eram responsáveis por avaliar a composição química, valor nutricional, energético, propriedades físicas, efeitos no organismo, ou possível contaminação por elementos tóxicos, além de analisar qualquer substância que pode alterar a qualidade da ração, e que possa prejudicar a saúde dos animais (Figura 13). As análises realizadas eram de liberação, da qual a matéria-prima depende do resultado para ser descarregada e armazenada, e as análises de rotina realizada para avaliar a qualidade da produção.



**Figura 13.** Técnica realizando análise em amostra de farinha de carne da Fábrica de Rações da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA Carpina -PE, 2019.  
**Fonte:**Arquivo Pessoal, 2019.

A rotina do laboratório começava com a classificação dos grãos de milho, de acordo com o grupo, classe e o tipo dos grãos, além de matéria seca e/ou umidade, proteína bruta e/ou nitrogênio total, extrato etéreo, fibra bruta, cinzas, carboidratos não estruturais, valor energético, macro e micro minerais, nitrogênio insolúvel em detergente neutro e ácido, digestibilidade *in-vitro* da matéria seca e orgânica, peróxido e acidez nas farinhas de carne, penas e vísceras e atividade ureática nos farelos de soja integral, e esses procedimentos eram realizados diariamente.

#### **2.1.4 Granja de matrizes pesadas reprodutoras**

Na recria de matrizes reprodutoras possibilitou acompanhar o manejo prático de um núcleo, desde inspeção dos galpões, seleção de fêmeas e machos através da pesagem, realização de vacina via intramuscular para (Doença de Newcastle, Bronquite infecciosa, Doença Infecciosa Bursal (DIB) e Metapneumovirose aviária) (Figura 14), coleta de sangue através da veia braquial ou ulnar (asa) para ser utilizada na sorologia, colheita, classificação e desinfecção dos ovos pelo método de fumigação com Formaldeído em pó. O manejo na fase de recria consistiu em controlar o desempenho de machos e fêmeas para que ambos possam alcançar o máximo do desempenho reprodutivo em excelentes condições física e capacidade

reprodutiva em todo período de reprodução. Toda vivência foi realizada na avícola Cajá, localizada na cidade de Aliança - PE, a empresa possui doze núcleos responsáveis pela produção diária de ovos férteis que são destinados posteriormente para o incubatório da empresa.

Durante todo o manejo os colaboradores ficam responsáveis diariamente por manter o manejo de ambiência dos aviários, arraçamento, vacinação, uniformidade e peso adequado, além de todo cuidado com controle de animais invasores e higienização e desinfecção dos aviários durante o período de vazio sanitário que dura 30 dias.



**Figura14.** Vacinação em matrizes reprodutoras da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019.

**Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

### 2.1.5 Incubatório

O manejo dos incubatórios baseou-se em acompanhar toda logística dos procedimentos realizados pelo técnico, desde a recepção e classificação dos ovos, densidade, ovoscopia, monitoramento do maquinário de incubação, vacinação *in ovo*, transferência dos ovos vacinados para os nascedouros, nascimento dos pintainhos, sexagem, vacinação via *in ovo* e spray e expedição dos pintainhos.

Todo processo iniciou-se com a recepção das caixas dos ovos férteis, que são provenientes das granjas avícolas da empresa, sendo imediatamente organizados por lote e idade, e posteriormente classificados por funcionários de forma manual ou mecânica, (Figura 15), esse processo denominado por ovoscopia, consiste em eliminar possíveis ovos com alguma deformidade tais como:

- Alongados
- Enrugados
- Mancha de sangue na casca
- Muito grande
- Muito pequeno
- Ovos com cascas finas
- Redondos
- Sujos de cama
- Trincado com a unha
- Trincados



**Figura 15.** Funcionários realizando seleção dos ovos recém-chegados ao incubatório, da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019. **Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

Outro processo importante era a correção da posição do ovo, pois esta evita a mortalidade dos embriões durante a incubação ou durante o processo de vacinação *in ovo*. Após a classificação, os ovos são acondicionados em carrinhos e estocados em temperatura entre 19-21°C até no máximo 24 horas. Após o período de descanso, era realizado o pré aquecimento em média de 08:00 a 10:00 horas em uma temperatura varia entre 24 a 27° C, esse processo é realizado no corredor pois o incubatório da empresa ainda não dispões de sala

adequada para realizar esse procedimento. Esse pré aquecimento é realizado para evitar choque térmico do embrião e condensação da casca evitando mortalidade dos embriões, então depois desse processo os ovos eram destinados a sala incubação.

Após o período de pré aquecimento, era realizado a organização por lote nos carrinhos com as bandejas de ovos, esses carrinhos eram transferidos para as incubadoras de estágio múltiplo (Figura 16) onde permaneciam por mais ou menos 18-19 dias, essas máquinas eram monitoradas diariamente onde é verificado de hora em hora, a temperatura, que varia entre 37°-38°C e a umidade que fica entre 50-62%, esses parâmetros permitem que os embriões desenvolvam-se corretamente, pois mimetiza o processo natural que é realizado pelas galinhas no ninho, além disso, há monitoramento da ventilação e da viragem automática dos ovos, para evitar aderências do embrião na casca e controle e troca de ar das máquinas prevenindo o acúmulo de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) oriundo da respiração dos embriões.



**Figura 16.** Incubadora de estágio múltiplo, da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019. **Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

Após o período de 18 dias, os ovos eram transferidos das máquinas incubadoras para as máquinas nascedouros, e antes desse processo os ovos eram vacinados *in ovo* contra Doença de Marek e Doença Infecciosa Bursal (DIB) conhecida como Gumboro, nesse processo a vacinadora possui um ciclo de desinfecção a base de cloro que previne e evita a contaminação durante o processo. Após essa etapa, os ovos embrionados eram destinados para os nascedouros (Figura 17) onde permanecerão por mais três dias, para completarem o período de 21 dias (+/- 504 horas) de incubação.



**Figura 17.** Sala com máquinas nascedouros, da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019. **Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

Logo após a eclosão de pelos menos 90% a 95% dos pintainhos, os carinhos eram transferidos para a sala de seleção e sexagem onde os funcionários selecionavam as fêmeas e machos observando o formato do empenamento das asas, onde nas fêmeas as penas secundárias sempre são mais curtas que as primárias, enquanto que, nos machos as penas secundárias apresentam o mesmo padrão de tamanho que as primárias, e novamente esses pintainhos são vacinados contra as doenças de Bronquite e Newcastle através da vacinação spray, na sequência era realizada a contagem e alocação dos mesmos nas caixas que eram destinadas aos integrados, contendo em média 100 unidades de aves, e eram imediatamente encaminhados à sala de expedição (Figura 18) onde eram destinados para as granjas.



**Figura 18.** Sala de expedição, da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA em Aliança -PE, 2019.. **Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

Outro detalhe importante é a limpeza e desinfecção das salas e demais equipamentos utilizados direta e indiretamente nos incubatórios e nascedouros, essa medida é realizada diariamente, e visa o controle e desinfecção do ambiente e aparelhos, que serão utilizados posteriormente. Enquanto que, os resíduos de incubação e nascedouros são destinados a compostagem, e demais resíduos são retirados do local por uma empresa terceirizada.

### 2.1.6 Granjas de intergração

A vivência em granjas de integração baseou-se no acompanhamento do Médico Veterinário durante a rotina das visitas de assistência aos integrados, hoje a empresa possui 200 integrados<sup>1</sup>, distribuídos pelos estados de Pernambuco e Paraíba, os quais ficam responsáveis por criar as aves até o momento de abate, sendo todo esse processo supervisionado por Médico veterinário e técnicos agrícolas.

Durante as visitas são fornecidas orientações sobre manejo e manutenção dos equipamentos, observar falhas durante o alojamento dos pintainhos, arraçãoamento<sup>2</sup>, ambiência, manutenção da boa qualidade da cama (umidade e placas na cama aviária), além de observar a qualidade da água (temperatura, presença de cloro, pressão e altura de bebedouros), comedouros (distribuição de comedouros e níveis de ração nos pratos para cada fase, quantidade adequada com base no número de aves alojadas e regulagem de altura), temperatura ambiente (ajuste de

<sup>1</sup> Produtores rurais que possuem áreas próprias para a criação das aves, em que o integrado é remunerado de acordo com a produtividade obtida e o preço de mercado do frango de corte no momento da venda.

<sup>2</sup> Número diário de alimentações, necessárias para o bom desenvolvimento das aves, e que varia de acordo com sua aptidão.

acordo com a idade e necessidade das aves), qualidade do ar (gases e poeira), renovação do ar (exaustores nos galpões de pressão negativa e ventiladores nos galpões tradicionais), tratamento com antibióticos de lotes que apresentavam qualquer doença, necropsia e fornecer também orientações sobre controle de insetos, roedores e outros animais, além de orientações sobre higienização dos aviários diariamente e acompanhar o desempenho produtivo de cada lote.

As visitas consistiram em supervisionar um determinado número de propriedades, além de eventuais chamadas de emergência geradas por algum aumento da mortalidade ou possíveis animais doentes.

Durante as visitas aos aviários de pressão negativa (Figura 19) além de todo o manejo já descrito realizado nos aviários tradicionais, também era realizada a manutenção da programação do painel de controle, sendo este responsável por auxiliar a manutenção da ambiência ideal para o lote. Os painéis em geral possuem função de programação da temperatura desejada, ventilação mínima e ventilação forçada através de exaustores, manejo do forno, nebulização e umidade de acordo com estágio de desenvolvimento das aves e a densidade. Os comandos são programados no início de cada lote sendo alterado conforme a ambiência e comportamento das aves.



**Figura 19.** Galpão de pressão negativa, da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA, 2019 localizado em Vicência - PE. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2019.

Outro momento da vivência foi acompanhar o manejo de alojamento dos pintainhos (Figura 20), em suma consistiu em verificar todas as condições iniciais básicas referentes ao protocolo estipulado pela empresa para o manejo inicial nos primeiros dias de adaptação tais

como temperatura a 32°C no 1º dia de idade da ave, disponibilidade de água e ração, espaço adequado, qualidade do ar (ventilação mínima) e programa de luz.

Ao final das visitas as propriedades, tanto o Médico veterinário quanto os técnicos agrícolas, realizavam o calculo do ganho de peso diário (GPD) e o percentual de mortalidade de cada propriedade, todo o acompanhamento era registrado em um livro de ocorrência, onde é colocada a data, hora, tipo de visita (Médica veterinária ou Técnica) além de registrar as irregularidades encontradas na propriedade, então anotava-se os planos de ação a serem corrigidos devido às falhas de manejo ou então procedimento sanitário, como por exemplo, medicação do lote.



**Figura 1.** Alojamento dos pintainhos em Granja de integração na cidade de Glória do Goitá - PE, da Empresa Mauricéa Alimentos LTDA. **Fonte:** Arquivo Pessoal, 2019.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE O ESO

Realizá-lo foi uma grande experiência, pois possibilitou agregar mais conhecimentos aos já obtidos durante o curso, oferecendo ao aluno uma visão não acadêmica da importância e do trabalho do profissional de Medicina Veterinária. Acompanhar a rotina do laboratório e no campo foi bastante enriquecedora, não só pelas atividades desenvolvidas, mas também por proporcionar a troca de experiências e o aprendizado com outros profissionais.

## **CAPÍTULO II – ANÁLISE DE MICOTOXINAS EM AMOSTRAS DE MILHO (*Zea mays L.*) UTILIZADAS NA FORMULAÇÃO DE RAÇÕES DESTINADAS À AVICULTURA.**

### **Introdução**

A avicultura é o setor do agronegócio brasileiro que mais investiu em tecnologia nos últimos anos, possibilitando a melhoria na produção. O potencial desta atividade está ligado aos constantes ganhos em produtividade, devido à melhora nos índices de conversão alimentar, melhoramento genético, controle preventivo de enfermidades, qualidade intestinal e pele, custos de produção, infraestruturas dos aviários e nutrição com qualidade (AVIPE, 2018).

Graças aos avanços nas áreas da nutrição, manejo, sanidade e genética, a avicultura brasileira vem ocupando lugar de destaque, constituindo uma importante fonte geradora de empregos. Atualmente o Brasil ocupa o segundo lugar, como maior produtor de carne de frango de corte no mundo com cerca de 13.150 mil toneladas, e considera do o maior exportador produzindo 3.847 mil toneladas (EMBRAPA, 2018).

Contudo mesmo com esse grande potencial de crescimento produtivo, há alguns fatores que prejudicam a avicultura comercial, dentre eles, estão as micotoxinas, responsáveis por reduzir o desenvolvimento das aves, tornando-as mais susceptíveis às enfermidades principalmente nas fases de crescimento e reprodução (BÜNZEN; HAESE, 2006).

Essas micotoxinas são metabólitos secundários, produzidos por fungos filamentosos que se desenvolvem naturalmente em condições favoráveis, possuindo uma capacidade de originar uma ampla variedade de efeitos deletérios em animais e homem (KOSZTRZEPA et al., 2011). Esses metabólitos estão presentes em diversos grãos de cereais que são utilizados na alimentação das aves, tais como: milho, sorgo, trigo, cevada e arroz (BOCHIO et al., 2017).

A presença desses metabólicos em grãos e conseqüentemente nas rações dependem do desenvolvimento das linhagens fúngicas específicas, essas linhas são influenciadas por diversos fatores ambientais tais como umidade, substrato e temperatura, portanto a contaminação nesses produtos pode variar de acordo com essas condições ambientais, métodos de processamento, produção e armazenagem (SANTURIO, 2000).

Desse modo, o monitoramento da presença dessas micotoxinas é de fundamental importância, visto o impacto que elas exercem na qualidade sanitária dos grãos e rações, e interferindo de forma direta e indireta na qualidade da produção animal e afetando também a saúde humana (LEUNG et al., 2006).

Sendo assim devido aos riscos que esses metabólicos podem gerar tanto para saúde animal quanto humano, objetivou-se com este estudo analisar a presença de micotoxinas em milho destinado a avicultura, sendo as amostras analisadas vindas de granjas do estado de Pernambuco, no ano de 2018.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Milho (*Zea mays L.*)

Considerado uma das mais importantes e antigas culturas agrícolas, o milho (*Zea mays L.*), é uma espécie que pertence à família *Poacea* e, com origem a partir do teosinto, *Zea mays*, subespécie mexicana (*Zea mays ssp. mexicana* (Schrader) Iltis, que há mais de 8000 anos é cultivada em diversos lugares do mundo, em diferentes climas e solos, além disso, representa um importante produto utilizado para nutrição humana e animal, mais especificamente bovinocultura, suinocultura e avicultura, este último sendo o objeto de interesse deste estudo (BARROS, 2014).

Na avicultura, o milho compõe cerca de 60 % da ração inicial de frangos de corte, e cerca de 65% da energia metabolizável e 22% da proteína na fase inicial, o que demonstra sua importância na alimentação das aves (GONÇALVES et al., 2003; STRINGHINI et al., 2000). Por esse motivo na fabricação de rações a matéria prima deve apresentar uma alta qualidade nutricional e sanitária, ou seja, livres de agentes contaminantes, sujidades, microorganismos, insetos e agrotóxicos (TAHIR et al., 2012).

Embora o milho seja uma cultura de destaque produtivo tanto para a cadeia alimentícia humana quanto animal, ela enfrenta alguns problemas relacionados ao seu processamento, pois o milho fica susceptível a danos mecânicos nos grãos, esses danos podem ocorrer no transporte, limpeza, secagem e colheita (STRINGHINI et al., 2000). E contaminações microbiológicas, como por exemplo, a contaminação fúngica, levando a deteriorização do produto e consequentemente impactando na produção avícola (MINAFRA et al., 2018).

Para garantir que não ocorram problemas durante o beneficiamento do milho, a indústria define padrões de qualidade, levando-se em conta o tipo de processamento, dieta, estágio de desenvolvimento da ave e aptidão (poedeiras comerciais, frangos de corte e matrizes/reprodutoras). Assim sendo, para efeito de avaliação da qualidade do milho no Brasil, há três tipos de classificação de acordo com a sua integridade física e pureza, seguindo a instrução normativa 60 de 22 de Dezembro de 2011 do MAPA.

**Tabela 1.** Classificação do milho segundo a instrução normativa 60 de 22 de Dezembro de 2011 do MAPA.

<b>Milho tipo 1</b>	Apresentam 1% de grãos ardidos, 6% de grãos avariados, 3% grãos quebrados, 1% com presença de matérias estranhas e impurezas e 2% de carunchos.
<b>Milho tipo 2</b>	Possui cerca de 2% de grãos ardidos, 10% de grãos avariados, 4% de grãos quebrados, 1,5% com matérias estranhas e impurezas, 3% carunchados.
<b>Milho tipo 3</b>	Tem 3% de grãos ardidos, 15% de grãos avariados, 5% de grãos quebrados, cerca de 2% de matérias estranhas e impurezas e 4% de carunchos

**Fonte:** Adaptado de Minafra et al. (2018).

No que diz respeito a qualidade sanitária dos grãos de milho, refere-se a presença de microorganismo como fungos e bactérias, visto que esses agente são responsáveis por comprometer o valor nutricional, aspecto e processamento, além de alterar quimicamente o substrato que virá a ser o meio de desenvolvimento de componentes maléficos a sanidade das aves, tais como a micotoxinas (MINAFRA et al., 2018).

### **Micotoxinas**

O termo micotoxinas é um derivado do grego "mykes" que significa fungo e do latim "toxicum" que significa toxina. Esse termo é utilizado para denominar um grupo de metabólitos secundários produzidos por algumas cepas de fungos filamentosos e leveduras, são compostos orgânicos, simples, altamente tóxicos, de baixo teor molecular e imunogenicidade, que se desenvolvem em ambientes com baixa disponibilidade de água (NEWMAN, 2000).

A produção dessas micotoxinas ocorre geralmente quando os fungos são submetidos a condições de stress, ou seja, podendo desenvolver-se em qualquer estágio de crescimento, colheita ou estocagem dos grãos (BOEIRA, 2012), contudo, em climas tropicais e subtropicais o desenvolvimento fúngico é favorecido, visto que fatores de umidade, temperatura, substrato altamente nutritivo são mais abundantes, o que colabora para o crescimento do fungo e consequentemente o surgimento da micotoxina (IAMANAKA et al., 2013).

Existem aproximadamente 500 variedades de micotoxinas descritas (BERCHIERI Jr. et al., 2009), sendo os principais produtores desses compostos os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Claviceps*, *Penicillium* e *Fusarium*, que contaminam diversos produtos agrícolas como o milho,

amendoim, feijão, arroz e trigo em qualquer estágio de beneficiamento desses grãos (GONÇALVES et al., 2017).

Essas micotoxinas são responsáveis por gerar doenças, intoxicações e até óbito, isso ocorre quando são ingeridas acidentalmente pelo homem ou pelos animais domésticos em alimentos ou grãos contaminados (KEMPKEN; ROHLFS, 2010).

As micotoxicoses assim denominadas possuem sintomas e sinais não inespecíficos, de caráter subclínico, podendo gerar sintomas de hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hematotoxicidade e genotoxicidade, além de lesões em pele e mucosas, e efeitos carcinogênicos, imunossupressores e teratogênicos (JECFA, 2001).

Na produção animal em especial na avicultura, as micotoxinas ocasionam em redução do ganho de peso, piora da conversão alimentar, lesões hepáticas e renais, hematomas na carcaça, retardo da maturação sexual, diminuição da produção de ovos, aumento do número de ovos trincados, além de condenação de carcaça, resultando em perdas econômicas (DEVEGOWDA; DAWSON 2011).

### Principais micotoxinas de interesse na avicultura

**Tabela 2.** Principais micotoxinas de interesse na avicultura.

Micotoxina	Fungos produtores	Alimentos mais propensos à contaminação	Fator desencadeante da contaminação
<b>Aflatoxinas</b>	<i>Aspergillus flavuse</i> <i>A. parasiticus</i>	Amendoim, castanhas, nozes, milho e cereais em geral	Armazenamento em condições inadequadas
<b>Ácido ciclopiazônico</b>	<i>Aspergillus flavus</i>	Milho e amendoim	Armazenamento em condições inadequadas
<b>Tricotecenos</b>	<i>Fusarium</i> sp.	Milho e cereais de inverno	Temperatura baixa, alta umidade e problemas de armazenamento
<b>Fumonisinias</b>	<i>Fusarium</i> sp.	Milho e cereais de inverno	Estação seca seguida de alta umidade e temperaturas moderadas
<b>Ocratoxina A</b>	<i>Aspergillus alutaceus</i> e <i>Penicillium</i> sp.	Milho, café e grãos estocados	Deficiências no armazenamento

Fonte: Adaptado de Berchieri Júnior et al. (2009).

## **Toxinas mais importantes no Brasil**

A análise de micotoxinas no Brasil vem se tornando uma prática rotineira. Muitas empresas avícolas realizam seus próprios controles nas matérias primas através de programas de monitoramento. Com base nos dados obtidos pelo Laboratório de Análises Micotoxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria (LAMIC/UFSM), pode-se estimar que as micotoxinas de maior importância na produção avícola no território brasileiro, são as aflatoxinas, seguidas pelas fumonisinas e desoxinivalenol. Com mais de 47% de positividade dos alimentos analisados, além disso, a contaminação média observada também é elevada, levando-se em consideração as doses máximas recomendadas para aves (BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009).

### **Aflatoxinas**

Aflatoxinas são as toxinas com maior distribuição no mundo e atualmente são as mais estudadas devido aos maiores impactos econômicos sobre o desempenho produtivo e reprodutivo das aves, essa micotoxina é estritamente produzida por fungos do gênero *Aspergillus*, sobretudo *A. flavus* e *A. parasiticus*. Ambos são bolores pertencentes à flora de armazenagem, também são comuns no solo podendo contaminar diversos produtos agrícolas (BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009).

As principais aflatoxinas são B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, que apresentam fluorescência azul violeta e G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, cuja fluorescência é azul esverdeada quando analisadas em cromatografia de camada delgada, já os números 1 e 2 correspondem ao fator de retenção (Rf) dos compostos. A<sub>1</sub> é considerada a mais tóxica e biologicamente ativa, e com maior poder carcinogênico dentre as micotoxinas, ela afeta principalmente o fígado, mas possui efeito teratogênico, mutagênico e imunossupressor, além de gerar distúrbios de coagulação, anemia e diminuição da fertilidade (NAVARRO, 2011). Além disso, quando ingeridas e metabolizadas, as aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> são convertidas em diversos metabólitos, dentre eles as aflatoxinas M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) e M<sub>2</sub> (AFM<sub>2</sub>).

### **Mecanismos de ação das Aflatoxinas**

Quando absorvidas, as aflatoxinas inibem a síntese de proteínas, enzimas, fatores de coagulação (vitamina K) e ácidos graxos, além de inibirem o metabolismo da glicose, prejudicando a síntese de colesterol (SILVA, 2018).

Além disso, ela é encontrada nos rins, tecido adiposo e músculos, estando as maiores concentrações destas toxinas no fígado, nesse órgão ocorrem uma biotransformação das aflatoxinas pelas enzimas microssomais do citocromo P-450, sendo o sistema enzimático

microssomal hepático o responsável pela metabolização das aflatoxinas e conseqüentemente a ativação delas no organismo, realizando quatro mecanismos distintos: epoxidação, que produz o 8,9 epóxido de aflatoxina (ou AF-epóxido) um potente carcinógeno natural, processo de hidratação cujo metabólito B<sub>2</sub> possui ação de inibir enzimas tanto no fígado e em outros tecidos e hidroxilação e o-desmetilação responsáveis por originar compostos que serão excretados na bile, urina, leite (mamíferos) e na gema (aves) (BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009).

### **Principais efeitos das aflatoxinas sobre as aves**

Os principais sinais clínicos observados nas aves afetadas pelas aflatoxinas incluem cansaço, letargia, perda de apetite, febre, palidez da crista, barbelas e pés, e nas intoxicações crônicas é observado a diminuição no ganho de peso, inapetência, redução na conversão alimentar, por vezes, esteatorréia (presença excessiva de gordura nas fezes). Com progressão desses sinais clínicos ocorrem frequentemente, sinais de ataxia, icterícia e, às vezes, convulsões e morte (ROCHA et al., 2014).

Na necropsia, comumente observa-se lesões tais como: aumento no tamanho, coloração amarelada e necrose do fígado, hidropericárdio, ascite, linfonodos necróticos, edema da vesícula biliar além de palidez e congestão dos rins em casos mais severos (ZLOTOWSKI et al., 2004; BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009). Ainda no que diz respeito aos achados de necropsia pode-se verificar a diminuição do tamanho da bursa e timo (SANTURIO, 2000).

As sensibilidades aos efeitos tóxicos das aflatoxinas variam de acordo com: a dose-resposta, raça, idade, composição da dieta e sexo, geralmente os machos são mais susceptíveis que as fêmeas, além disso, em frangos na fase inicial de criação (cerca de 21 dias) os efeitos deletérios são maiores, principalmente sobre o ganho de peso e podendo persistir até a fase final de criação (HUFF et al., 1986; BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009).

Outro efeito importante relacionado à ação dessas micotoxinas é a imunossupressão das aves, devido a aplasia do timo e da Bursa de Fabrício, isso gera a redução das células T, redução de componentes humorais como complemento (C4), interferon e imunoglobulinas IgY e IgA, supressão da atividade fagocitária (GIACOMINI et al., 2006). Em galinhas poedeiras ocorre uma ligeira redução do tamanho do ovo e da gema, sem comprometimento da casca (BOCHIO et al., 2017).

## **Fumonisinias**

As fumonisinias pertencem a um grupo de micotoxinas produzidas por fungos dos gêneros *Alternaria* e *Fusarium*, principalmente pelo *F.moniliforme*, esses fungos produzem seis diferentes toxinas, as como FA<sub>1</sub>, FA<sub>2</sub>, FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub> e FB<sub>4</sub>, sendo a FB<sub>1</sub>e FB<sub>2</sub> as de maior ocorrência (RIBEIRO, 2015). Porém outras espécies como *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F.anthophilum*, *F. dlamini* e *F. napiforme* também são produtores, que assim como as aflatoxinas, podem ser consideradas de ocorrência mundial (BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009).

## **Mecanismos de ação das Fumonisinias**

O mecanismo de ação de fumonisinias não foi completamente elucidado, mas alguns modelos propostos explicam determinadas doenças causadas em animais. Um deles refere-se a um bloqueio do metabolismo dos esfingolipídeos, onde devido a similaridade da FB<sub>1</sub> com esfinganina e esfingosina resulta em uma inibição competitiva nos sítios de ação, resultando em toxidez e aumento destes precursores, além de diminuição de esfingolipídios e induzindo a diminuição metabólica em vários tecidos (GASPERINI, 2011).

Uma segunda hipótese defende que o mecanismo envolve o bloqueio do metabolismo de ácidos graxos e glicerofosfolipídios, além disso, também atuam nos sítios de regulação celular, alterando a proliferação, comunicação celular, adesão, apoptose, indução de estresse oxidativo e modulação de expressão gênica (MOBIO et al., 2000).

## **Principais efeitos das fumonisinias sobre as aves**

Quando ingeridas as fumonisinias são rapidamente metabolizadas e excretadas, nas aves intoxicadas por fumonisinias, os sinais clínicos geralmente são: menor ganho de peso, diarreia, úlceras na mucosa oral e casos de mortalidade em aves de diversas idades, e na necropsia as lesões mais comuns são aumento relativo do fígado, proventrículo e moela, tal como, palidez do miocárdio, ascite, hidropericardite, edema e congestão renal (BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009).

## **Tricotecenos**

Os tricotecenos compreende um grupo de 150 micotoxinas produzidas por diversos fungos do gênero *Fusarium* sp, possuem esse nome devido a sua estrutura química composta por anel com esqueleto tetracíclico 12, 13- epoxitricocetenos. E são classificadas em tipo A, na qual se encontra as micotoxinas T-2, HT-2, 15- monoacetoxiscirpenol (15- MAS) e diacetoxiscirpenol

(DAS), e a tipo B, onde se enquadra a deoxinilvalenol (DON ou vomitoxina), as aves são mais sensíveis à toxina T-2 e DAS (MINAFRA et al., 2018).

A ocorrência de tricotecenos é significativa em culturas de inverno; como trigo, cevada, aveia, arroz e centeio cultivados em baixas temperaturas, variando entre 6°C e 24°C (DILKIN, 2002).

### **Mecanismos de ação das Tricotecenos**

Os tricotecenos são potentes inibidores da síntese protéica, RNA e DNA. Eles interrompem as ligações peptídicas, reduzindo o estágio inicial, de alongamento e terminal da síntese protéica. Gerando lise celular e inibição da mitose, o que permite a interferência em tecidos mais susceptíveis que apresentam altas taxas de regeneração, como trato gastrointestinal, pele, sistema linfático, sistema imunológico e hematopoiético (BENNETT; KLICH, 2018).

Essa toxina também induz a formação de peróxidos a partir dos lipídios, resultando na diminuição da concentração de vitamina E nas aves (BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009).

### **Principais efeitos das Tricotecenos sobre as aves**

Na intoxicação crônica envolvendo a micotoxina T-2 ou DAS, ocorre a redução no consumo de ração, redução do desempenho produtivo das aves devido as lesões na mucosa da via oral e língua ou ulcerações no palato e na comissura do bico (BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009). Em casos mais graves as lesões podem afetar o fígado gerando o seu aumento, além de erosões no estômago e intestino, o que leva a um quadro de hemorragia e óbito (KOSICKI et al., 2016).

Em poedeiras devido à dieta ineficiente ocorre a diminuição da espessura da casca de ovos, redução na conversão alimentar e diarreia (RODRIGUEZ; CARRASCO et al., 2013; RUIZ et al., 2011) e eventuais distúrbios metabólicos, imunossupressores e distúrbios nervosos, além de hemorragias.

### **Limites máximos de micotoxinas recomendados para aves de produção**

Os limites foram baseados em informações da literatura, tal como nos experimentos in vivo realizados no Laboratório de Análises Micotoxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria (LAMIC/UFSM), seguindo a legislação da ANVISA - RDC N° 7 de 18 de Fevereiro

de2011, que dispões sobre os limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Estes limites estão apresentados na tabela3.

**Tabela 3.** Limites de segurança de micotoxinas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) recomendados pelo LAMIC (Laboratório de análises micotóxicológicas) para aves de produção.

	Afla <sup>1</sup>	Fumo <sup>2</sup>	Ocra <sup>3</sup>	Don <sup>4</sup>	HT-2 <sup>5</sup>	T-2 <sup>6</sup>	Zea <sup>7</sup>	Das <sup>8</sup>
<b>Frango Inicial</b>	0	100	0	20	0	0	500	0
<b>Frango Crescimento</b>	2	500	2	500	10	50	600	200
<b>Frango Final</b>	5	500	5	1000	10	50	1000	200
<b>Poedeiras</b>	10	500	5	1000	20	100	500	500
<b>Matrizes</b>	10	500	5	1000	20	100	500	500

Aflatoxinas<sup>1</sup>, Fumonisin<sup>2</sup>, Ocratoxina<sup>3</sup>, Desoxinivalenol<sup>4</sup>, Toxina HT-2<sup>5</sup>, Toxina T-2<sup>6</sup>, Zearalenona<sup>7</sup> e Diacetoxiscirpenol<sup>8</sup>. **Fonte:** Adaptado de LAMIC, 2011.

### Medidas de prevenção e controle na contaminação por micotoxinas

As estratégias de controle de micotoxinas incluem diversas abordagens tecnológicas, essas técnicas visam reduzir a presença dos fungos nos grãos e os níveis de micotoxinas no trato digestivo dos animais. Para prevenir a ocorrência das micotoxinas na ração, uma das medidas é o plantio de grãos mais resistentes à ação dos fungos no período de pré-colheita, além do tratamento do milho antes do armazenamento, essa alternativa colabora para prevenir o crescimento dos fungos durante o período pós-colheita (DEVEGOWDA; DAWSON 2011).

Estes problemas podem ser reduzidos com a implementação de uma série de medidas tais como: boa ventilação das instalações, controle de insetos, redução no período de armazenamento da ração e peletização, adição de compostos adsorventes de micotoxinas nas rações, limpeza dos grãos e introdução de antifúngicos (SANTÚRIO, 2000; STRINGHINI et al., 2000; EMBRAPA, 2004).

Outro ponto importante é a preocupação com a higienização e manutenção de equipamentos utilizados nos processos de armazenagem, processamento e fabricação da ração, evitando danos às sementes e o acúmulo de resíduos tais com a poeira, umidade e aquecimento, favorecendo o desenvolvimento dos fungos, e conseqüentemente a contaminação por micotoxinas (BÜNZEN; HAESE, 2006).

**Tabela 4.** Pontos críticos de controle (PCC), na prevenção de micotoxinas em grãos.

Seleção de variedades de culturas resistentes a fungos
Práticas de plantio que reduzam reprodução de fungos no campo
Colheita cuidadosa para evitar danos aos grãos
Secagem adequada de grãos colhidos
Manutenção de instalações de armazenagem de rações, principalmente quanto à impermeabilização e eliminação de roedores e insetos
Limpeza frequente de comedouros para remoção de ração fermentada, especialmente em granjas que fornecem rações úmidas
Testes de rotina de toda a ração, verificando presença de micotoxinas
Adição de adsorventes de micotoxinas em rações e matérias-primas contaminadas

**Fonte:** Adaptado de EMBRAPA (2004).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta de dados

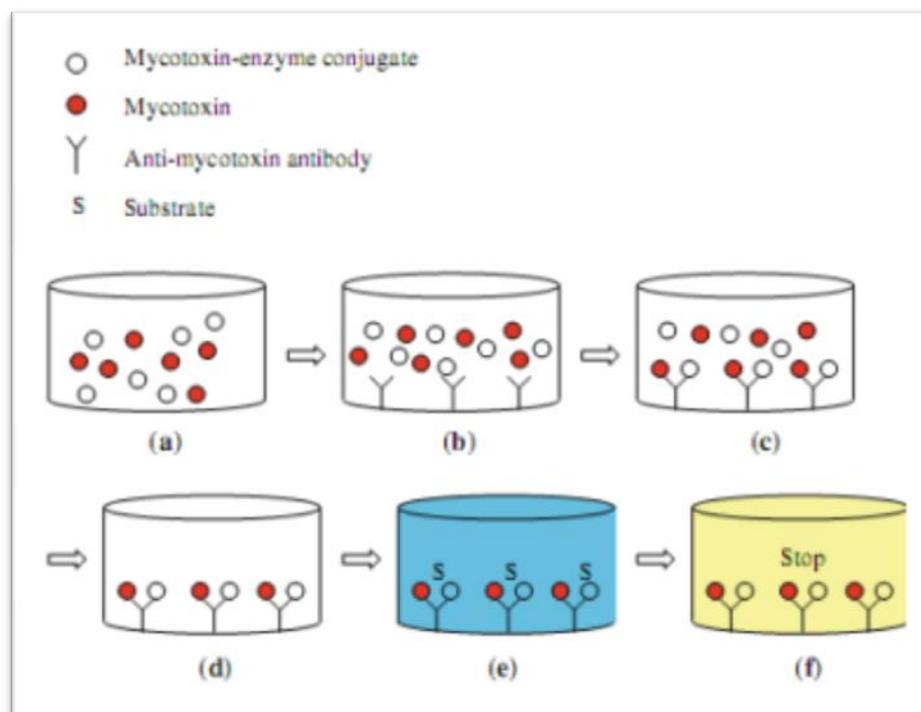
Todas as análises foram realizadas em milho destinados à avicultura, com relação à contaminação por Aflatoxinas, T-2 e Fumonisinias, no ano de 2018, foram coletados no banco de dados do Laboratório de Diagnóstico Animal (LADA). E foram avaliadas 73 amostras, de alimentos destinados à alimentação avícola, para análise de aflatoxinas, 73 amostras para análise de fumonisinias e 51 amostras de milho para análise de T-2.

### Testes Imunoenzimáticos

Foi utilizado para determinação de micotoxinas o kit AgraQuant® Total Assay da Romer Labs®, que é um ensaio por competição direta de enzimas imuno-adsorvidas (ELISA), que determina quantitativamente nível presente da micotoxina pesquisada e foi desenvolvido para o uso em milho.

## Procedimento

A micotoxina pesquisada foi extraída de uma amostra de milho triturada com solução de 70% de metanol. Esse extrato da amostra foi homogeneizado com a micotoxina e a enzima conjugada, e o conteúdo foi depositado em uma placa contendo anticorpos específicos. A micotoxina pesquisada presente na amostra e os padrões controle possibilitam a competição com a micotoxina enzima conjugada através da ligação aos anticorpos nos micropoços. Após a etapa de lavagem, um substrato enzimático foi acrescentado e a coloração azul é desenvolvida. A intensidade da cor foi inversamente proporcional à concentração da micotoxina pesquisada. A solução “stop” foi em seguida acrescentada mudando a coloração azul para a coloração amarela. E foram mensurados opticamente usando um leitor de micropoços com um filtro de absorvância de 450nm e um filtro diferencial de 630nm.



**Figura 2.** Princípio do ELISA competitivo direto para análises de micotoxinas.  
**Fonte:** ZHENG et al. (2006).

Os valores obtidos da análise de aflatoxinas, fumonisinas e T-2 foram expressos em  $\mu/\text{Kg}$ . A micotoxina T-2 foi analisada apenas em milho, por sua contaminação ocorrer principalmente no campo.

### Critérios de interpretação

Foram utilizados como referência os valores determinados pelo LAMIC, 2011.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram obtidos no levantamento de dados, do ano de 2018, do Laboratório Diagnóstico Animal (LADA), em relação à determinação de aflatoxinas, fumonisinas e T-2, presentes em milho destinados a avicultura, estão expressos na Tabela.5.

**Tabela 5.** Níveis de contaminação por Aflatoxina, Fumonisina e T2 em amostras de milho destinadas a avicultura.

<b>Amostras Positivas <sup>a</sup>/Total de amostras</b>			
	<b>Aflatoxinas</b>	<b>Fumonisinas</b>	<b>T-2</b>
<b>Frango de corte- Fase Inicial</b>	5/73	65/73	16/51
<b>Frango de corte-Fase Crescimento</b>	3/73	56/73	1/51
<b>Frango de corte - Fase Final</b>	3/73	56/73	1/51
<b>Poedeiras Comerciais</b>	1/73	56/73	0/51
<b>Matrizes</b>	1/73	56/73	0/51

<sup>a</sup> Acima do limite de acordo com LAMIC (2011).

Obteve-se então para cada estágio de desenvolvimento do frango de corte, poedeiras comerciais e matrizes valores relativos dos níveis de micotoxinas onde:

Para Aflatoxinas foram avaliadas 73 amostras de milho (100,0%), considerando amostras que se encontravam acima do limite recomendável, estabelecido pelo LAMIC (2011), obteve-se: 7% frangos de corte (fase inicial) , 4,2% frangos de corte (fase crescimento), 4,2 % frangos de corte (fase final), 1,4% poedeiras comerciais e 1,4% matrizes, com limite máximo tolerado de 0µg/Kg, 2µg/Kg, 10µg/Kg, 10µ/Kg e 10µg/Kg, respectivamente.

Para Fumonisinas foram avaliadas 73 amostras de milho (100,0%), nas amostras de fumonisinas obteve-se: 91,5% frangos de corte (fase inicial), 78,8% frangos de corte (fase crescimento), 78,8% frangos de corte (fase final), 78,8% poedeiras comerciais e 78,8% matrizes, com limite máximo tolerado de 100µg/Kg, 50µg/Kg, 500 µg/Kg, 500µg/Kg e 500µg/Kg, respectivamente.

Para a toxina T-2 foi pesquisada em 51 amostras de milho (100,0%), sendo as amostras acima do limite máximo tolerado de: 34,7% frangos de corte (fase inicial), 2,1 % frangos de corte (fase crescimento), 2,1% frangos de corte (fase final), 0% poedeiras comerciais e 0% matrizes, com limite máximo tolerado de 0 µg/Kg, 50µg/Kg, 50 µg/Kg, 100 µg/Kg e 100 µg/Kg, respectivamente.

Dentre as diversas micotoxinas presentes em grãos, mas especificamente no milho, as apresentadas neste trabalho são de grande importância na avicultura comercial, visto que, sua ocorrência gera efeitos deletérios nas aves, ou seja, afetando diretamente na produção de corte quanto poedeiras (SANTURIO, 2000). Além disso constitui a casuística do laboratório onde foi realizado o estudo.

Nas amostras analisadas constatou-se que as amostras destinadas a frangos de corte na fase inicial, apresentaram um maior percentual de amostras acima dos limites máximos recomendados pelo LAMIC, nesta fase de desenvolvimento as aves são mais sensíveis a presença das micotoxinas o que implica na baixa qualidade do seu desempenho. Segundo Berchieri Júnior et al. (2009) e Giacomini et al. (2006), nas aves em fase inicial de desenvolvimento as micotoxinas agem suprimindo os mecanismos da resposta imune, além de gerar uma redução ou aplasia nos órgãos linfóides, como a Bursa de Fabrício e o timo, isso resulta na inibição de imunoglobulinas IgY e IgA e supressão da atividade fagocitária e consequentemente em um desequilíbrio no sistema imunológico das aves.

Em comparação as amostras de Aflatoxinas e T-2 as amostras analisadas de Fumonisina foram as que apresentaram os maiores percentuais para cada fase de desenvolvimento e aptidão do frango de corte. Orsi et al. (2000) ao analisarem 195 amostras de milho recém colhidas e armazenadas no estado de São Paulo, relataram resultados positivos em 90,2% das amostras para Fumonisina B-1 e 97,4% para Fumonisina B2. Os autores associaram a presença de fumonisinas antes da fase inicial ao armazenamento, ou seja, a contaminação ocorreu no campo, isso ocorre porque os fungos do gênero *Fusarium* são comuns no campo, e essa contaminação ocorre devido ao erros durante o manejo de colheita, outro ponto importante é que o desenvolvimento desse gênero de fungo à campo no Brasil, ocorre porque o clima brasileiro fornece condições adequadas para o seu desenvolvimento fazendo com que sua ocorrência seja comum.

Em um estudo experimental realizado por Mallmann et al. 2018, com o intuito de avaliar os efeitos tóxicos da fumonisina sobre frango de corte e alertar o impacto desta toxina sobre a avicultura, os autores analisaram peso, consumo médio de ração, conversão alimentar e peso relativo de fígado, de 120 frangos de corte da linhagem Cobb®, divididas em dois tratamentos

durante 21 dias, constataram que a presença da fumonisina B<sub>1</sub> na dieta teve impacto negativo sobre o peso, bem como sobre o consumo de ração durante os 21 dias, demonstrando a necessidade de avaliações profundas sobre o impacto da contaminação por fumonisina sobre o avicultura.

Almeida et al. (2009) ao analisarem amostras de milho destinadas à alimentação de aves no estado da Bahia concluiu-se que, os resultados encontrados sugerem que das 80 amostras de milho coletadas em duas fábricas, apenas oito (10%) estavam contaminadas com níveis variáveis de 1 a 5 mg/kg, segundo os autores os baixos níveis de contaminação por aflatoxinas nas amostras analisadas, dá-se como consequência de práticas de manejo adequadas adotadas durante o processo de recebimento dos grãos, além das boas práticas agrícolas durante o desenvolvimento da cultura e pós-colheita, todavia os autores reiteram a importância da necessidade de monitoramento programado, pois desta forma contribui para redução dos prejuízos gerados pelas aflatoxicose no campo. No estudo realizado as amostras de AFLA foram as que apresentaram os menores valores para cada estágio de desenvolvimento do frango de corte tal como para poedeiras comerciais e matrizes.

Em casos de aflatoxicose no campo, a principal característica marcante é a má absorção que manifesta-se por excretas com presença de partículas de ração mal digeridas, isso ocorre segundo Osborne e Hamilton,(1981) devido a um quadro de esteatorréia ou excreção aumentada de lipídeos, essa má absorção prejudica a conversão alimentar e, conseqüentemente gera um aumento nos custos da produção. Em frango de corte além da esteatorréia ocorre uma diminuição nas atividades da lipase pancreática e diminuição nos sais biliares comprometendo assim a digestão e absorção de gorduras (SANTURIO, 2000). Em poedeiras e matrizes as aflatoxicose são responsáveis pela redução na produção de ovos, no tamanho e redução proporcional no tamanho das gemas, pois prejudica a síntese protéica e lipídica, ocorrendo inclusive um aumento na deposição de cálcio o que dificulta a eclosão, como é descrito por Dilkin e Mallmann, 2004.

As amostras destinadas a frango de corte na fase inicial ainda apresentaram níveis altos da toxina T-2 cerca de 34,7%, esse valor é considerado nocivo para o estágio de desenvolvimento do frango, como já abordado neste texto, aves no estágio inicial de desenvolvimento são mais sensíveis aos efeitos tóxicos das micotoxinas pois suprime os mecanismos da resposta imune. Kidd et al. (1997) demonstraram em um ensaio *in vitro* que a toxina T-2 manifestou ação tóxica sobre os macrófagos de frangos, inibindo a sua capacidade fagocitária, o que elucidava o efeito imunossupressor dos tricotecenos sobre as aves.

A variação presente nos níveis das micotoxinas analisadas, pode ser justificada pela variação de diversos fatores que contribuem para a contaminação pelos fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Claviceps*, *Penicillium* e *Fusarium*, tais como: cultivo, pré colheita, colheita, pós colheita, condições de transporte, armazenamento e processamento, além de fatores como clima, solo, substrato e claro manejo do solo.

Além das condições de estresse no campo que resultam no surgimento dos fungos produtores de micotoxina tais como temperatura, umidade e composição do substrato (DOHLMAN, 2003; YU et al., 2003). Santin et al. (2005), evidencia que condições de estresse no armazenamento como variações de umidade relativa, temperatura, concentração de oxigênio, dióxido de carbono e presença de insetos, colaboram com o surgimento dos fungos e consequentemente a produção de seus metabólicos tóxicos, além da perda de vigor e qualidade dos grãos.

Por isso a qualidade sanitárias dos grãos desde o campo até o silo é de suma importância na produção animal, Jobim et al. (2001), afirma que identificar possíveis problemas como a presença de micotoxinas colaboram na redução dos prejuízos econômicos, já Iamanaka et al. (2013) afirmam que, as boas práticas agrícola em conjunto com as boas práticas de fabricação são indispensáveis, e representam a principal prevenção contra a contaminação de cereais e alimentos por micotoxinas, essas práticas contribuem para o controle dos níveis baixos e aceitáveis desses metabólicos nos alimentos destinados tanto ao consumo humano quanto animal.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diante do exposto, torna-se importante a análise e estudo mais aprofundado dos danos gerados pela presença das micotoxinas nos cereais destinados tanto a alimentação animal quanto humana. Pois, a presença desses metabólicos interferem na segurança e na qualidade dos produtos de origem animal tal como no desempenho das aves e da indústria, além de gerar doenças tanto nos animais quanto no homem tais como câncer, inflamação da pele, diarreia, hemorragia, redução da hematopoiese e desordens relacionadas principalmente ao tecido hepático, imunológico, intestinal, urinário, digestivo, nervoso e de reprodução. Dessa forma é de suma importância o desenvolvimento de novos métodos e de uma intensa cooperação entre os pesquisadores para que se obtenha novos parâmetros e mecanismos que ajudem no controle desses fungos e a presenças de seus metabólicos no campo.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. V. A. F.; BOTURA, M. B.; ABREU, R. D.; BITTENCOURT, T. C. C.; BATATINHA, M.J.M. Ocorrência de aflatoxinas em milho destinado à alimentação de aves no estado da Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.3, p.353-358, 2009.

AVIPE. Associação Avícola de Pernambuco. Disponível em: > <http://www.avipe.org.br/web/?s=avicultura+industrial> <Acessado em: 11/12/2018.

BARROS, J. F.; CALADO, J. G. A Cultura do Milho. **Universidade de Évora**. 2014. Disponível em: < <https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/10804/1/Sebenta-milho.pdf>>. Acesso em 30/11/2018.

BENNET, J. W. & KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical of Microbiology Review** n.16, p.497–516, 2003.

BENNETT, J. W, KLICH, M. Mycotoxins. Disponível em: > <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC164220/><. Acesso em 10/12/2018.

BERCHIERI JUNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das Aves**. 2 ed. Campinas, São Paulo: FACTA, 2009. p.821-831.

BOCHIO, V; TAKAHASHI, S. E; GROFF, P. M. et. al., Efeitos da aflatoxina na produção avícola: Revisão. **PubVet**, v.11, n.8, p.832-839, 2017.

BOEIRA, S. P. Caracterização de efeitos tóxicos decorrente da exposição aguda à micotoxina zearalenona em camundongos. Rio Grande do Sul. Dissertação (**Mestrado em Bioquímica**) – Universidade Federal do Pampa, Rio Grande do Sul, 2012.

BÜNZEN, S. & HAESE, D. CONTROLE DE MICOTOXINAS NA ALIMENTAÇÃO DE AVES E SUÍNOS. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.3, n.1, p.299-304, 2006.

DEVEGOWDA. G, DAWSON. K. Micotoxinas: impacto na produção de aves. 2011 Disponível em: > <https://docplayer.com.br/20686477-Micotoxinas-impacto-na-producao-de-aves.html>< Acesso em: 27/11/18.

DILKIN, P. Micotoxicose Suína: Aspectos Preventivos, Clínicos e Patológicos. **Biológico**, v.64, n.2, p.187-191, 2002.

DILKIN, P.; MALLMANN, C. A. Sinais clínicos e lesões causadas por micotoxinas. **Anais do XI Encontro Nacional de Micotoxinas**. Piracicaba, 2004. Disponível em: <file:///D:/Documentos/Downloads/Sinais%20clínicos%20e%20lesoes%20causadas%20por%20micotoxinas.pdf>. Acessado em: 06/06/2019.

DOHLMAN, E. **Mycotoxin hazards and regulations: impacts on food and animal feed crop trade**. 2003. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/publications/aer828/aer828h.pdf>>. Acessado em: 07/06/19.

EMBRAPA. Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura do Milho Brasília: Embrapa/Sede. (Qualidade e Segurança dos Alimentos). Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA, 2004. Disponível em: > <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/111875/manual-de-seguranca-e-qualidade-para-a-cultura-do-milho> < Acessado em: 23/10/2018.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **EMPRAPA**. 2018. Disponível em <<https://www.embrapa.br/suinoeaves/cias/estatisticas/frangos/mundo>>. Acesso em 16/11/2018.

GASPERIN, A. M. I. Biocontrole de *Fusariumverticillioides* em milho. **Trabalho de Conclusão de Curso de graduação**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, 2011.

GIACOMINI, L., FICK, F. A., DILKIN, P., MALLMANN, C. A., RAUBER, R. H., & ALMEIDA, C. Desempenho e plumagem de frangos de corte intoxicados por aflatoxinas. *Ciência Rural*, v.36, n.1, p. 234–239, 2006.

GONÇALVES, B; SANTANA, L & PELEGRINI, P. Micotoxinas: uma revisão sobre as principais doenças desencadeadas no organismo humano e animal. **Revista de Saúde da Faciplac**, v.4, n.1, 2017.

GONÇALVES, R. A., SANTOS, J. P., TOMÉ, P. H. F., PEREIRA, R. G. F. A., ASCHERI, J. L. R. & ABREU, C. M. P. Rendimento e composição química de cultivares de milho em moagem a seco e produção de grits. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n. 3, p. 643-650, 2003.

HUFF, W. E.; KUBENA, L. F.; HARVEY, R. B.; CORRIER, D. E.; MOLLENHAUER, H. H. Progression of aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science**, v.65, p.1981-1989, 1986.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S. & TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, n.7,p.138-161, 2010.

JECFA. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**. Geneva: World Health Organization; Fifty-sixth meeting, 2001.

JECFA. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**. Geneva: World Health Organization; Fifty-sixth meeting, 2001.

JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade de seus produtos. P.242-261. Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas (2001 – Maringá). **Anais do Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas**. 2001.

KEMPKEN, F.; ROHLFS, M. Fungal secondary metabolite biosynthesis – a chemical defence strategy against antagonistic animals. *Revista.FungalEcology*, v. 3, n. 3, p. 107-114, 2010. Disponível em:< <http://www.journals.elsevier.com/fungal-ecology>>. Acesso em 24/11/18.

KIDD, M.T.; QURESHI, M.A.; HAGLER JR., W.M. et al. T-2 Tetraol is cytotoxic to a chicken macrophage cell line. **Poultry Science**, v. 76, n. 2, p. 311-313, 1997.

KOSICKI, R., BŁAJET-KOSICKA, A., GRAJEWSKI, J. & TWARUŻEK, M. Multiannual mycotoxin survey in feed materials and feedingstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v.215, p. 165-180, 2016.

KOSZTRZEPA, I.; ALBERTO, P. A.; ANDRETTA, I.; REMUS, A.; KIPPER, MARCOS. Meta-análise de interações produtivas de fumonisinas na alimentação de frangos de corte. In: **I Congresso de ciência e tecnologia da UTFPR**, Paraná, 2011.

LEUNG, M. C. K.; DIAZ-LLANO, G.; SMITH, T. K. Mycotoxins in pet food: a review on worldwide prevalence and preventative strategies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.9.623-9.635, 2006.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P; GIACOMINI, L; RAUBER , R. H. Intoxicação Experimental de Frangos de Corte com Fumonisina B1. 2018 Disponível em: > <file:///D:/Documentos/Downloads/Intoxicacao%20experimental%20de%20frangos%20de%20corte%20com%20fumonisina%20B1.pdf> <. Acessado em: 12/ 06/19.

MINAFRA, C. S.; RODRIGUES, D. R.; VACARI, I. C. M.; DUARTE, V.; SANTOS, F. R.; SILVA, W. J.; GOUVEIA, A. B. V. S.; PAULO, L. M.; SANTOS, J. B.; SILVA, J. M. S. Lesões orais em frangos de corte provocadas por micotoxinas do milho: Revisão. **PubVet**, v.12, n.7, p.832-839, 2018.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **MAPA**. 2017. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/saude-avicola>>. Acessado em 16/11/2018.

MOBIO, T. A.; ANANE, R.; BAUDRIMONT, I.; CARRATÚ, M. R.; SHIER, T. W.; DANO, S. D.; UENO, Y.; CREPPY, E. E. Epigenetic properties of fumonisin B1: cell cycle arrest and DNA base modification in C6 glioma cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, SaDiego, v.164, p.91-96, 2000.

NAVARRO, R.B. Sistemas intensivos de produção de leite e segurança alimentar: aflatoxinas e resíduos de organofosforados e carbamatos. Dissertação (**Mestrado em Zootecnia**) Universidade Estadual Maringá, Maringá, 2011.

NEWMAN, K. The biochemistry behind esterified glucomannans – titrating mycotoxins out of the diet. In: **Alltech's 16th Annual Symposium**, p.369-382, 2000.

ORSI, R. B.; CORRÊA, B.; POSSI, C. R.; SCHAMMASS, E.A.; NOGUEIRA, J; N.; DIAS, S. M. S.; MALOZZI, M. A. M .Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. **Journal of Stored Products Research**, v.36, p. 75-87, 2000.

OSBORNE, D. J; HAMILTON, P. B. Decreased pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis. **Poultry Science**, v. 60, p.1818-22, 1981.

ROCHA, T. M.; ANDRADE, M. A.; SANTANA, E. S.; FAYAD, A. R.; MATIAS, T. D. Aspectos clínicos, patológicos e epidemiológicos de doenças imunossupressoras em aves. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.10, n.18, p.355-379, 2014.

RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y., RUIZ, M. J., FONT, G. & BERRADA, H. Exposure estimates to Fusarium mycotoxins through cereals intake. **Chemosphere**. v.93, p. 2297-2303, 2013.

RUIZ, M. J., MACÁKOVÁ, P., GARCÍA, A. J. & FONT, G. Cytotoxic effects of mycotoxin combinations in mammalian kidney cells. **Food and Chemical Toxicology**, v.49, p. 2718- 2724, 2011.

SANTIN, E. et al. Mould growth and mycotoxin production. **The Mycotoxin Blue Book**. Nottingham, UK: Nottingham University Press, p.225-234, 2005.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.1, p. 1-12, 2000.

SILVA, L. C. Fungos e micotoxinas em grãos armazenados. **Universidade Federal do Espírito Santo**. Disponível em: ><http://www.agais.com/fungos.htm>< Acessado em: 11/12/2018.

STRINGHINI, J. H.; MOGYCA, N. S.; ANDRADE, M. A.; ORSINE, G. F.; CAFÉ, M. B.; BORGES, S. B. Efeito da qualidade do milho no desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 191-198, 2000.

TAHIR, M., SHIM, M., WARD, N. E., SMITH, C., FOSTER, E., GUNEY, A. C. & PESTI, G. M. Phytase na other nutrients componentes of feed ingredients for poultry. **Poultry Science**, v. 91, p. 928-935, 2012.

YU, J.; MOHAWED, S.M.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T.E. Substrate-induced lipase gene expression and aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p.1334-1342, 2003.

ZLOTOWSKI, P.; CORRÊA, A. M. R.; ROZZA, D. B.; DRIEMEIER, D.; MALLMANN, C. A.; MIGLIAVACCA, F. A. Surto de Aflatoxicose em Suínos no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 207-210, 2004.