



Panorama da AQUICULTURA

ALGA KAPPAPHYCUS

uma alternativa para
maricultores catarinenses

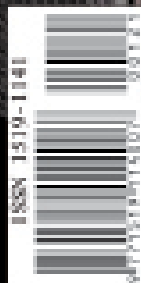
MICOTOXINAS

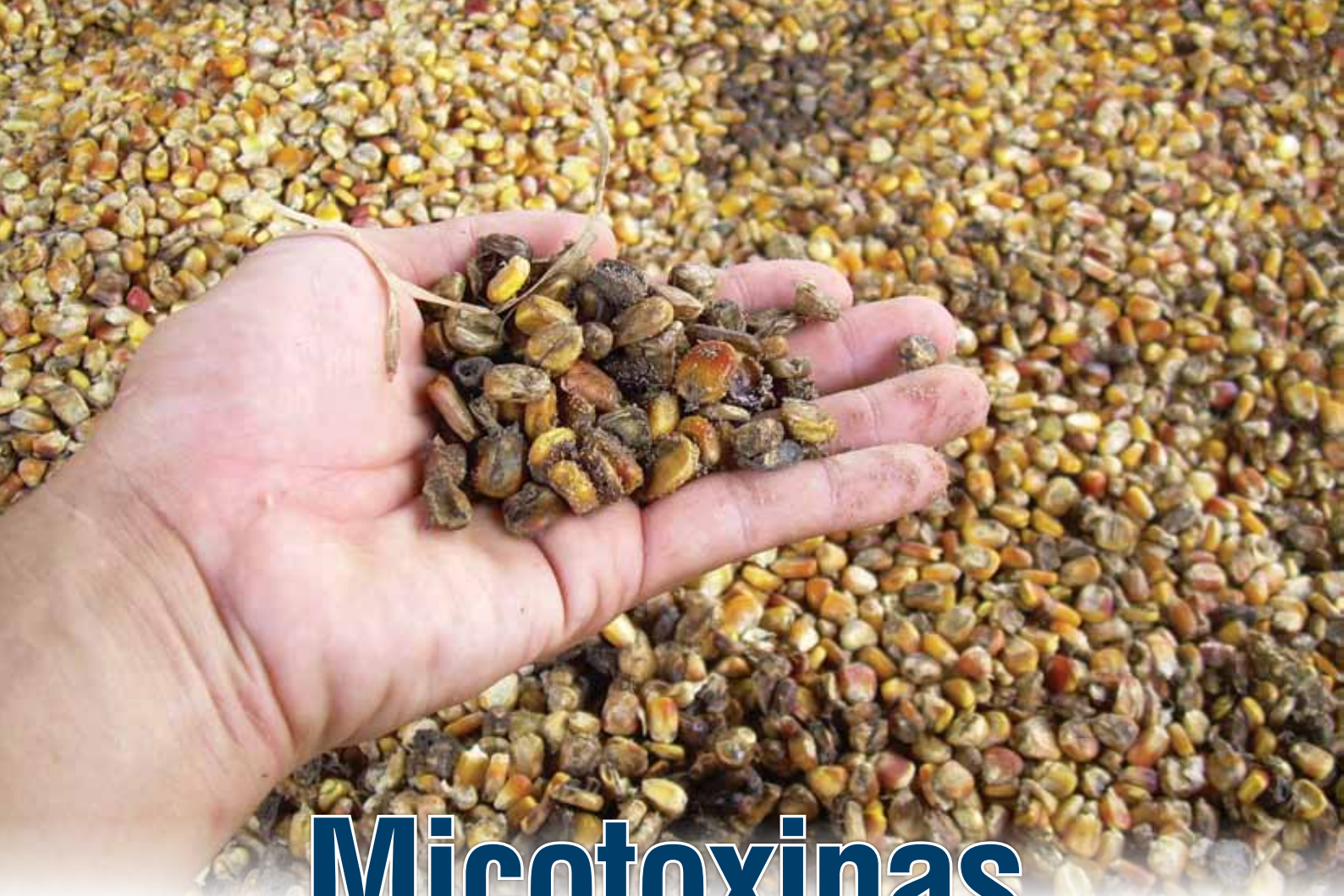
e seus efeitos
sobre os peixes



PEIXE TRANSGÊNICO EM BREVE NA SUA MESA

2050: desafios e oportunidades para a aquicultura • A retomada da carcinicultura no Brasil • Aquaculture Europe 2010 • Viagem ao futuro da aquicultura • Nova marca de produtos para nutrição animal • AquaCiência 2010 • A crise do salmão no Chile e as lições para a piscicultura brasileira





Micotoxinas

e seus efeitos sobre os peixes



Por:
Fernando Kubitza, Ph. D.
Acqua Imagem Serviços Ltda
fernando@acquaimagem.com.br

Micotoxinas são substâncias tóxicas produzidas por fungos e que podem estar presentes em diversos alimentos e provocar efeitos deletérios sobre a saúde do ser humano e dos animais. Mais de 200 micotoxinas já foram identificadas, sendo as de maior impacto na redução do desempenho produtivo e da saúde animal, as micotoxinas produzidas por fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Entre as principais merecem destaque a aflatoxina B1 (AFB1), o ácido ciclopiazônico (CPA), a ocratoxina A (OA), a fumonisina B1 (FB1), a zearalenona (ZEA), a deoxinivalenol (DON), e a toxina T-2.

As micotoxinas podem causar efeitos carcinogênicos (AFB1, CPA, FB1 e OA), neurotóxicos (FB1 e CPA), estrogênico (zearalenona), nefrotóxicos (tóxicos às células renais – ocratoxina A), dermatotóxicos (causando lesões na pele - DON) e, ainda, imunossupressivos (redução na resposta imunológica - AFB1, OA e toxina T-2). Por isso há uma grande preocupação com a presença de micotoxinas nos ingredientes usados no preparo de rações, em particular nos grãos (milho, trigo, cevada) e subprodutos do processamento de plantas oleaginosas (os farelos de soja, amendoim, girassol, algodão, entre outros). Os efeitos das micotoxinas podem ir desde uma pequena redução no desempenho produtivo (redução no crescimento e uma piora na conversão alimentar) a distúrbios metabólicos, fisiológicos, nervosos e reprodutivos, que podem resultar em depressão da resposta imunológica, falha no funcionamento de órgãos vitais, significativa queda de produção e mortalidade dos animais, com grandes prejuízos econômicos.

Em 1985, a Organização Mundial de Saúde estimou que 25% dos grãos no mundo estavam contaminados com micotoxinas e de lá para cá a expectativa é de que este percentual tenha se elevado ainda mais. No Brasil, um levantamento realizado pelo LAMIC (Laboratório de Análises Micotoxicológicas - Universidade de Santa Maria - RS) identificou a presença de aflatoxina B1 em 50% das amostras de milho analisadas. Considerando que o milho é um dos principais ingredientes usados nas rações animais no Brasil e em diversos outros países, é muito provável que um grande percentual das rações teste positivamente para a presença de micotoxinas, seja em concentrações seguras ou de risco para o consumo animal.

Enquanto na suinocultura e avicultura já há um grande esclarecimento e atenção quanto aos riscos da presença de micotoxinas nas rações, na aquicultura o assunto tem sido pouco considerado. O primeiro relato de mortalidade de peixes atribuída à intoxicação por micotoxinas foi registrado no início da década de 60 na Califórnia com truta arco-íris que consumiram ração contendo farelo de algodão contaminado por aflatoxinas. No entanto, apenas recentemente, com a intensificação do cultivo de algumas espécies, como o catfish americano e a tilápia, os efeitos das micotoxinas em organismos aquáticos vem sendo avaliados com maior rigor. Os sinais clínicos da intoxicação por micotoxinas se assemelham aos sinais clínicos de doenças, dificultando o diagnóstico preciso do problema, que muitas vezes acaba sendo confundido e tratado como enfermidade, com pouca eficiência e alto custo, resultando em consideráveis perdas econômicas nas criações.

Como as micotoxinas contaminam as rações?

Micotoxinas podem estar presentes em grãos (milho, sorgo, trigo, entre outros) e farelos vegetais (farelo de soja, de trigo, de algodão, girassol, amendoim, entre outros) usados como ingredientes nas rações animais. A contaminação dos grãos com estes fungos pode ocorrer ainda no campo (pré-colheita) ou durante o armazenamento destes grãos e farelos. Assim, rações produzidas com grãos e farelos contaminados já podem conter significativas quantidades de micotoxinas na saída da fábrica. O desenvolvimento dos fungos e a produção de micotoxinas podem continuar ocorrendo durante o transporte, onde não é incomum as rações pegarem chuvas ou mesmo umidade em cargas mal arrumadas e protegidas. No entanto, o maior risco de contaminação por fungos e acúmulo de micotoxinas ocorre durante o armazenamento das rações, que invariavelmente é feito em local inadequado e sob condições adversas (goteiras no telhado, umidade nas paredes e solo, local pouco ventilado e quente, presença de animais e insetos, entre outras não conformidades).

Em alguns casos a colonização por fungos e o desenvolvimento de micotoxinas também podem ocorrer durante o uso das rações. Isso é comum, por exemplo, na criação de peixes em tanques-rede, onde os peletes ficam presos às telas ou aos flutuadores dos comedouros, bem como podem ficar sobre as coberturas dos tanques-rede após a alimentação. Partículas finas (pó) de ração também podem ficar aderidas no interior de

alimentadores automáticos, servindo de substrato para o desenvolvimento de fungos (bolores). Estes peletes e os finos de rações contaminados por bolores podem acumular grandes quantidades de micotoxinas e, eventualmente, acabam indo para a água e ingeridos pelos peixes.

Sinais clínicos mais comuns na intoxicação dos peixes por micotoxinas

Os sinais clínicos da intoxicação dos peixes por micotoxinas variam em função da espécie, dos tipos de micotoxinas envolvidos, das concentrações destas nas rações, do período ao qual o animal é submetido ao alimento contaminado, dentre outros fatores. Animais mais jovens (pós-larvas e alevinos) são mais sensíveis do que juvenis e adultos. Algumas evidências encontradas nos estudos com micotoxinas indicam que peixes de clima frio são menos tolerantes à micotoxina na ração comparado a peixes cultivados em águas tropicais, e que animais mais jovens (pós-larvas e alevinos) são mais sensíveis do que juvenis e adultos.

Intoxicações leves podem quase passar despercebidas pelos produtores. Geralmente provocam uma redução no apetite e no crescimento dos peixes, e piora nos índices de conversão alimentar. Os peixes podem apresentar diarreias e, em alguns casos, até rejeitar ou regurgitar o alimento oferecido. Outros sinais mais específicos, como lesões (carcinomas) no fígado e nos rins, anemias (baixa contagem de glóbulos vermelhos e redução no nível de hemoglobina no sangue), icterícia (ou amarelão), distúrbios reprodutivos e nervosos, vômitos, diarreias, entre outros, podem ocorrer dependendo da micotoxina, de sua concentração na dieta e do tempo em que o animal está submetido ao alimento contaminado.

Intoxicações crônicas (quando os peixes são expostos por períodos prolongados a níveis tóxicos, porém não letais, das micotoxinas) podem provocar o aparecimento de lesões despigmentadas na pele, opacidade nos olhos (cataratas), podridão de nadadeiras e pigmentação amarelada da pele. Os animais podem apresentar letargia, ou mesmo distúrbios nervosos na forma de espasmos musculares, natação errática e curvatura do corpo. Outro sinal clínico frequente é a palidez das brânquias, indicativo de anemia nos peixes. Estas anemias são resultados da redução na contagem e no volume percentual (hematócrito) dos glóbulos vermelhos, bem como na concentração de hemoglobina no sangue. Também podem ser decorrentes de hemorragias em órgãos internos como o fígado e rins. Alterações na forma (aumento de tamanho) e lesões em órgãos internos, como os rins, fígado, baço e o coração. O fígado pode ficar aumentado, com excessivo acúmulo de gordura e lesões cancerígenas (carcinomas) que se apresentam como lesões de cor amarelo pálido que, em alguns casos, também podem ser visualizadas nos rins. Lesões nas células renais e no baço também são comuns nos

casos de micotoxicoses, prejudicando a produção de células sanguíneas e a filtragem do sangue (insuficiência renal). Os animais ficam com a resistência imunológica debilitada, favorecendo a ocorrência de doenças bacterianas com maior frequência e aumentando significativamente a mortalidade.

Pelo fato dos sinais clínicos da intoxicação crônica por micotoxinas serem muito semelhantes aos sinais clínicos de doenças bacterianas, os produtores e técnicos, em geral, acabam lançando mão do uso de medicamentos que muito pouco, ou em nada, melhoram o quadro clínico dos animais. Alguns antibióticos podem até mesmo agravar a situação, devido sua ação tóxica ao fígado, muitas vezes já comprometido pela ação das micotoxinas. Deste modo, é preciso realizar uma adequada avaliação dos sinais clínicos e o rastreamento de potenciais micotoxinas nas rações que foram utilizadas durante o cultivo.

Em grande parte dos casos, quando os sinais clínicos são notados, a ração que desencadeou o problema já foi toda utilizada, mas o reflexo persiste com a nova ração, que pode não apresentar quantidades detectáveis de micotoxinas. Assim, uma boa prática seria o armazenamento de amostras de 1 quilo de todas as rações utilizadas, colhidas na chegada dos produtos na propriedade, e armazenadas por um período de pelo menos 6 meses, em local fresco e seco (geladeira, de preferência) em embalagens com o mínimo de ar possível em seu interior. Assim, no caso de alguma dúvida quanto à presença de micotoxinas em um lote particular de ração, a amostra preservada poderá ser enviada para análise em um laboratório especializado (ver referências ao final desta matéria). Naturalmente que, em grande parte dos casos, as contaminações por micotoxinas acontecem durante o armazenamento das rações sob condições adversas, como elevada umidade do ar ou no local, altas temperaturas, risco de respingos de chuva ou goteiras, locais pouco ventilados e sujos, onde pode haver grande inóculo de fungos, presença de insetos, roedores e outros animais, sacos mal acomodados e empilhados, em contato direto com o piso ou com as paredes do depósito, entre outras. Assim, uma ração que originalmente chegou à propriedade isenta ou com níveis aceitáveis de micotoxinas, pode acumular micotoxinas durante o seu armazenamento. Daí, então, a importância de co-

lher uma amostra logo na chegada da ração e bem preservá-la para verificar se a contaminação já existia no produto no momento de sua chegada na piscicultura ou se ocorreu durante o armazenamento na propriedade.

0 efeito das aflatoxinas sobre peixes e camarões

As aflatoxinas são as micotoxinas mais predominantes nos ingredientes usados nas rações para animais no Brasil e no mundo. Produzidas por fungos do gênero *Aspergillus* (*A. flavus* e *A. parasiticus*), as aflatoxinas são reunidas em quatro tipos de acordo com o potencial de toxidez: o tipo B1 é o mais tóxico (100%), o B2 apresenta 50% da toxidez do B1, o tipo G1 cerca de 25% e o tipo G2 cerca de 12,5%. A aflatoxina B1 (AFB1), a mais tóxica das aflatoxinas, é também um dos mais potentes compostos cancerígenos naturais para os animais. Em um levantamento realizado por 10 anos pelo laboratório LAMIC (Santa Maria – RS) foi constatado que cerca de 50% das amostras de milho grão foram positivas para aflatoxinas, com níveis médios de 14 ppb e nível máximo de 14.000 ppb ou 14 ppm (**ver nota de rodapé na página 17**). Considerando que o milho é um dos principais ingredientes nas rações animais, é quase certo que a grande maioria das rações teste positiva para a AFB1. Em um levantamento de campo realizado nas Filipinas foi registrada a presença de aflatoxinas em 95% das amostras de rações para peixes. Em 22% destas amostras a concentração de aflatoxinas excedeu a 50 ppb. Tal concentração seria letal para peixes sensíveis como a truta arco-íris, porém toleráveis para espécies de peixes tropicais como a tilápia e o catfish americano. Na Tabela 1 são sumarizados os principais sinais clínicos de intoxicação por aflatoxina B1 em algumas espécies de peixes e camarões.

Aflatoxinas e truta arco-íris – a truta arco-íris parece ser uma das espécies de peixes mais sensíveis à presença de aflatoxina B1 nas rações. Em 1960 houve um episódio de massiva expressão de hepatocarcinomas em trutas na Califórnia intoxicadas com aflatoxina presente em uma ração contendo farelo de algodão contaminado. Cerca de 14% dos peixes alimentados por 15 meses com ração

Espécie	Sinais clínicos	Nível prejudicial na ração (em ppb e em mg/kg)
Tilápia	Reduzido crescimento e pior conversão alimentar. Letargia, natação errática, olhos opacos. Lesões no corpo e podridão das nadadeiras. Alterações no fígado. Redução no número de glóbulos vermelhos.	> 1.800 ppb (1,8 mg/kg)
Catfish americano	Crescimento foi reduzido. Menor número de hemácias (menor hematócrito). Menor concentração de hemoglobina no sangue. Lesões na mucosa intestinal. Lesões no fígado, baço e rins. Aumento no tamanho dos rins. Necrose de glândulas gástricas. Palidez dos órgãos internos. Regurgitação do alimento.	> 1.000 ppb (> 1 mg/kg)
Truta arco-íris	Brânquias pálidas e reduzido número de glóbulos vermelhos (hemácias). Tumores no fígado.	> 0,4 ppb (> 0,0004 mg/kg)
Camarões	Redução no crescimento. Alterações no hepatopâncreas. Maior incidência de doenças de casca.	> 70 ppb (> 0,07 mg/kg)

Tabela 1 – Sinais clínicos da aflatoxicose e níveis prejudiciais de aflatoxina B1 na ração para diversas espécies de peixes e camarões

contendo 0,4 ppb de aflatoxina (0,0004 mg de aflatoxina/kg de ração) desenvolveram tumores no fígado. A incidência de tumores no fígado atingiu 58% dos peixes, quando estes foram alimentados por 8 meses com aquela mesma ração. Após 12 meses, a incidência de tumores no fígado atingiu 83% das trutas alimentadas com esta mesma ração. A dose letal (LD₅₀) de aflatoxina B1 em truta foi estimada em cerca de 0,8mg/kg de peso vivo.

Aflatoxinas e catfish americano (bagre do canal) – o catfish americano é mais tolerante a presença de micotoxinas na ração do que a truta arco-íris. Peixes mantidos em aquários e alimentados por 12 semanas com ração contendo até 0,275 mg de aflatoxina total por quilo (275 ppb de aflatoxina na ração) apresentaram ganho de peso e sobrevivência semelhante ao de peixes que foram alimentados com ração sem aflatoxina. Em outro experimento realizado em tanques de terra, catfish alimentados por 130 dias com ração contendo pelo menos 88 ppb de aflatoxina (0,088 mg/kg de ração) não apresentaram piora no desempenho, tampouco redução no hematócrito (volume de glóbulos vermelhos) comparados a peixes que receberam dieta praticamente livre de aflatoxina (1 ppb de aflatoxinas totais). Em outro estudo, peixes foram alimentados por 10 semanas com rações contendo até 135 ppb de aflatoxina e depois desafiados com a bactéria *Edwardsiella ictaluri* (que causa septicemia entérica no catfish). A mortalidade dos peixes que receberam dietas com aflatoxina não diferiu da mortalidade observada nos peixes que receberam a ração controle, sem aflatoxina. Sinais de intoxicação do catfish por aflatoxina parecem ocorrer somente sob doses bem mais elevadas. Peixes alimentados com ração contendo 10 mg de aflatoxina B1 por quilo (10.000 ppb) por 10 semanas apresentaram reduzido crescimento, menor número de hemácias (menor hematócrito) e menor concentração de hemoglobina no sangue. Foram ainda registradas lesões moderadas no fígado, aumento no tamanho (hiperplasia) dos rins e necrose das glândulas gástricas. Peixes que receberam ração contendo 12 ppm de aflatoxina (12.000 ppb ou 12 mg/kg de ração) regurgitaram o alimento. A injeção de 12 mg de aflatoxina por quilo de peso resultou em reduzido crescimento e conversão alimentar, queda de 90% no volume de glóbulos vermelhos, palidez nos órgãos internos e lesões na mucosa intestinal e nos órgãos produtores de células sanguíneas, como o baço e os rins.

Aflatoxinas e tilápia – diversos estudos foram realizados sobre micotoxinas em rações para tilápias. Com ração contendo 0,94 mg de aflatoxina/kg (940 ppb) fornecida por 25 dias não foi registrada alteração no crescimento ou na conversão alimentar. No entanto, rações contendo 1,8 mg de AFB1/kg (1.800 ppb) oferecidas por 75 dias resultou em redução no ganho de peso e aparecimento de lesões no fígado, indicando o início do desenvolvimento de câncer. Em outro estudo com tilápia do Nilo alimentada com ração contendo aflatoxina em doses equivalentes ou superiores a 2,5 mg/kg (2.500 ppb) foi observada uma redução no crescimento e piora na conversão alimentar, bem como uma redução no número de glóbulos

vermelhos (hemáceas). Tilápias alimentadas com ração contendo 0,25mg de aflatoxina/kg (250 ppb) não apresentaram alterações comparadas ao tratamento controle. Em outra investigação com tilápia do Nilo, animais alimentados por 8 semanas com ração contendo 10mg de AFB1/kg apresentaram fígado anormal. Sob dose de 100 mg de AFB1 por quilo de ração, além de perda de peso, os animais apresentaram danos significativos no fígado e mortalidade de até 60% após 8 semanas de ingestão da ração contaminada. Nas Filipinas foi relatado um quadro curioso de aflatoxicose em tilápias produzidas em tanques de terra, com os peixes adquirindo uma coloração amarelada na pele (icterícia ou amarelão). Estes peixes, que consumiram alimentos sabidamente contaminados com aflatoxinas apresentaram apetite reduzido, letargia, natação errática, olhos opacos (evoluindo para cataratas e mesmo cegueira), lesões no corpo e podridão das nadadeiras (em particular a nadadeira caudal) e alterações no fígado.

Aflatoxinas e camarões – Os efeitos das micotoxinas sobre os camarões ainda são pouco conhecidos. Alterações no hepatopâncreas, reduzido crescimento e maior incidência de doenças na casca (exoesqueleto) foram observados em camarões alimentados com rações contendo 74 ppb de aflatoxina B1. Para juvenis de camarão tigre (*Penaeus monodon*) níveis de AFB1 entre 50 e 100 ppb não afetaram o crescimento. Isso só ocorreu com níveis acima de 500 ppb. Concentrações de 50 a 1.000 ppb também não alteraram a sobrevivência. No entanto, juvenis alimentados com ração contendo 2.500 ppb apresentaram 26% de sobrevivência. Severas alterações histológicas foram visualizadas no hepatopâncreas de camarões alimentados por 8 semanas com ração contendo entre 100 e 2.500 ppb de AFB1.

Aflatoxinas em suínos e aves – Para suínos, concentrações de AFB1 acima de 300 ppb produzem efeitos tóxicos. Além da perda de apetite, reduzido crescimento e piora na conversão alimentar, suínos intoxicados por aflatoxina B1 apresentam lesões hepáticas, imunossupressão, icterícia (amarelão), diarreias, manchas púrpuras na pele, letargia, entre outros sinais clínicos. A dose letal nestes animais é da ordem de 0,6 mg/kg (600 ppb). Concentrações de até 50 ppb de aflatoxinas na ração (0,05 mg/kg de ração) são consideradas seguras na produção de suínos. Em aves a intoxicação por aflatoxina resulta em aumento na deposição de gordura no fígado (esteatose), aumento na gordura fecal (esteatorréia), palidez da pele e mucosas (devido a menor absorção e deposição de carotenóides na pele). Redução na postura, no tamanho dos ovos e no tamanho da gema. Níveis de aflatoxina B1 considerados seguros para aves estão abaixo de 10 ppb, sendo recomendado níveis zero para pintinhos de 1 dia e, no máximo, 5 ppb para frango de corte em terminação.

Nota: 1 ppb (parte por bilhão) é uma medida de concentração que significa a presença de uma parte de micotoxina em um bilhão de partes de ração. Assim, 1 ppb equivale a 1 miligrama (mg) de micotoxina por tonelada de ração. **1 ppm (parte por milhão)** equivale a uma parte de micotoxina em um milhão de partes de ração, ou seja, 1 miligrama (mg) de micotoxina em um quilo de ração ou 1 grama (= 1.000 mg) de micotoxina por toneladas de ração. Assim, 1 ppm equivale a 1.000 ppb. Uma ração ou alimento contendo 20 ppb de micotoxina, contém 20 miligramas (mg) de toxina por tonelada. Uma ração ou alimento contendo 20 ppm de micotoxina, contém 20 gramas (g) de micotoxina por tonelada ou 20 mg de micotoxina por quilo de ração.

Outras micotoxinas e seus efeitos sobre os peixes

Além das aflatoxinas, outras micotoxinas podem prejudicar o desempenho produtivo e a saúde dos animais aquáticos e terrestres. Entre muitas, o ácido ciclopiazônico (micotoxina ainda mais potente que a aflatoxina B1 e encontrada em amostras de alimentos associada às aflatoxinas), a fumonisina (encontrada com grande frequência em rações para aves e suínos no Brasil), a deoxinivalenol (DON), a toxina T-2 e a ocratoxina. Os sinais clínicos e as doses prejudiciais destas micotoxinas para peixes e camarões são reunidos na Tabela 2.

Ácido ciclopiazônico (CPA) é produzido por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Em alguns casos tem sido encontrado em amostras de alimentos, geralmente associadas às aflatoxinas. Em experimentos realizados com alevinos de **catfish americano** foi verificado que o CPA é uma micotoxina mais potente do que a aflatoxina B1. Enquanto foi necessária uma concentração de 10 ppm (10 mg/kg) de aflatoxina para reduzir o crescimento dos alevinos, este mesmo efeito foi notado com apenas 0,1 ppm (0,1 mg/kg) de CPA. Assim, o risco de intoxicação dos animais por esta toxina parece ser ainda maior do que pelas aflatoxinas, particularmente em regiões tropicais (quentes e úmidas). Ainda com o catfish americano, um estudo com alevinos demonstrou que animais injetados com 7mg de CPA por quilo de peso vivo apresentaram convulsões e morreram em cerca de 30 minutos após a administração da toxina. **Em aves**, além do reduzido ganho de peso, os sinais clínicos mais comuns de intoxicação por CPA incluem vômitos, distúrbios neurológicos (convulsões, contrações do corpo e maior sensibilidade ao toque), degeneração e necrose hepática, lesões hemorrágicas no coração, na moela e no baço. A presença de erosões na moela é o sinal clínico mais marcante da intoxicação por CPA. **Em suínos** a intoxicação por ácido ciclopiazônico, além de perda de apetite e redução no ganho de peso, os animais também podem apresentar febre, diarreia, desidratação, ataxia, e imobilidade, levando-os ao óbito.

Fumonisinas são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium* (*Fusarium vertilloides*). Possuem estrutura química similar à esfingosina e à esfinganina, substâncias que inibem a ação da enzima ceramida sintetase, importante no metabolismo de lipídios e formação dos esfingolipídios. Esfingosina e esfinganina na forma livre são tóxicas às células e o acúmulo destas substâncias pode causar toxidez às células hepáticas e renais. As fumonisinas são encontradas no milho e no farelo de soja. A fumonisina B1 (FB1) é a mais tóxica de todas e corresponde a cerca de 70-80% das fumonisinas presentes em grãos de milho contaminados. Concentrações elevadas de fumonisinas (entre 10 e 250 ppm ou 10.000 e 250.000 ppb) foram registradas em amostras de grãos de milho obtidas em diversos países. Em um estudo realizado na cidade de Recife, foi detectada a presença de fumonisina B1 em 71 das 74 amostras de produtos derivados de milho (canjica, farinha, fubá, flocos e quirera), porém em concentrações relativamente baixas (entre 20 e 8.600 ppb). Em 3.751 amostras de alimentos usados para animais na região sul do Brasil, cerca de 40% foram positivas para a presença de fumonisina B1, a uma concentração média de 590 ppb. Concentrações elevadas, ao redor de 68.000 ppb foram registradas em amostras de alimentos relacionados à ocorrência de leucoencefalomalácea em equinos (necrose e amolecimento da massa encefálica branca). **Catfish americano** - a toxidez da fumonisina B1 foi avaliada em alevinos de 1g, que apresentaram reduzido ganho de peso quando alimentados com rações contendo 10 mg de FB1 por quilo (10.000 ppb) por 14 semanas. Lesões no fígado foram observadas com 20 mg de FB1/kg de ração. Para alevinos de 30g, a redução no ganho de peso somente foi notada a partir de 80 mg de FB1/kg de ração (80.000 ppb), no entanto não foi observada diferença na mortalidade. Com 320 mg de FB1 por kg de ração a mortalidade de alevinos de catfish foi de 70%. Em outro experimento foi registrada redução no consumo de alimento e no crescimento em peixes alimentados por 12 semanas com rações contendo concentrações iguais ou maiores que 40 mg de FB1/kg. O catfish aparenta ser mais tolerante à presença de fumonisina na ração comparado às aves e suínos. **Em aves**, além do prejuízo ao crescimento e conversão alimentar, a intoxicação por fumonisina B1 pode ocasionar hemorragia na pele (petéquias) e aumento no tempo

Micotoxina	Espécie	Sinais clínicos	Nível prejudicial na ração (em ppb e em mg/kg)
CPA (ácido ciclopiazônico)	Catfish americano	Redução no crescimento. Convulsão e morte (injetado 7mg/kg de peso vivo)	> 100 ppb (0,1 mg/kg)
Fumonisina	Catfish americano	Redução no crescimento.	> 10.000 ppb (10mg/kg)
Deoxinivalenol (DON)	Truta arco-íris	Reduzido crescimento e pior conversão alimentar. Rejeição da ração em doses de 20 mg/kg.	> 100 ppb (> 0,1 mg/kg)
Deoxinivalenol (DON)	Catfish americano	Redução no ganho de peso.	> 15.000 ppb (> 15 mg/kg)
Deoxinivalenol (DON)	Camarão branco (<i>L. vannamei</i>)	Redução no crescimento.	> 200 ppb (> 0,2 mg/kg)
Ocratoxina A	Catfish americano	Crescimento reduzido, lesões no rim e maior susceptibilidade à infecção por <i>Edwardsiella ictaluri</i> . Mortalidade elevada com ração contendo > 4 mg/kg.	> 2.000 ppb (> 2 mg/kg)
Toxina T-2	Catfish americano	Aumento na mortalidade após desafio com a bactéria <i>Edwardsiella ictaluri</i> .	> 2.000 ppb (> 2 mg/kg)
Toxina T-2	Camarão marinho	Redução no crescimento. Danos ao hepatopâncreas (> 1.000 ppb). Inflamação do tecido hematopoiético (> 1.000 ppb)	> 100 ppb (> 0,1 mg/kg)

Tabela 2 – Sinais clínicos da aflatoxicose e níveis tóxicos de aflatoxina B1 na ração para diversas espécies de peixes e camarões



Rações com presença de bolor. Os peletes ficam com coloração pálida e sem brilho, contrastando com a coloração mais viva e brilhante de peletes sem bolor

de coagulação sanguínea. Há um aumento (hiperplasia) dos rins e do fígado. Para aves de corte o limite máximo de fumonisina aceitável nas rações é de 100 mg/kg. **Suínos** são mais sensíveis à fumonisina, que afeta principalmente o pulmão, o coração e o fígado, ocasionando problemas respiratórios, edema pulmonar e morte. Lesões hepáticas (no fígado) e na mucosa do esôfago ocorrem como sinais de intoxicações sub-agudas, diminuindo o desempenho produtivo (crescimento e conversão alimentar). O limite de fumonisina recomendado nas rações para suínos é 10 mg/kg.

Deoxinivalenol ou vomitoxina (DON) é uma toxina do grupo dos tricotecenos, produzida pelo fungo *Fusarium graminearum*. Este fungo ocorre em plantas como o milho e o trigo. Portanto a DON pode ser encontrada em rações animais compostas por estes grãos e seus subprodutos. O nome vomitoxina vem do fato de que animais, como as aves e suínos que consomem ração contendo mais do que 4 ppm de DON podem apresentar vômito. Juvenis de **truta arco-íris** alimentados com ração contendo doses entre 1 e 13 mg de DON/kg apresentaram sensível redução no ganho de peso e piora na conversão alimentar. Rações contendo 20 mg de DON/kg foram recusadas pelos peixes, mas sem registro de sinais clínicos, nem mortalidade. Para o **catfish americano** não foram registrados efeitos negativos da DON em níveis de até 10 mg/kg de ração (10 ppm). No entanto, rações contendo entre 15 e 18 mg de DON por quilo resultaram em reduzido ganho de peso, sem registro de vômitos nos animais. Para o **camarão branco** (*Litopenaeus vannamei*) doses de deoxinivalenol (DON) na ração entre 200 e 1.000 ppb reduziu o ganho de peso, mas não afetou a conversão alimentar, nem a sobrevivência comparada a uma dieta controle. Níveis de DON de até 2.000 ppb não causou nenhuma supressão no crescimento do camarão tigre (*Penaeus monodon*). **Em aves e suínos**, a toxidez crônica por DON pode resultar em anorexia, reduzido ganho de peso ou emagrecimento, má absorção dos nutrientes e imunossupressão. Toxidez aguda pode desencadear diarreia, vômito, destruição dos glóbulos brancos (leucocitose), hemorragia e morte. Doses de até 0,2 mg/kg de ração (200 a 400 ppb) são consideradas aceitáveis para aves e suínos.

Toxina T-2 – é outra toxina do grupo dos tricotecenos, produzida por fungos do gênero *Fusarium* durante a contaminação de grãos como o trigo e a aveia. Para a **truta arco-íris**, doses de T-2 de 0,2 mg/kg ou 0,4 mg/kg de ração fornecida por 12 meses não afetou o crescimento, nem resultou no desenvolvimento de lesões carcinogênicas no fígado dos animais. No entanto, para o **catfish americano**, dietas contendo 0,625 ppm de toxina T-2 resultou em reduzido ganho de peso. Doses de T-2 entre 1,25 e 5,0 ppm ocasionaram redução nos valores de hematócrito. Peixes alimentados por 6 semanas com rações contendo 1 ou 2 mg/kg de T-2 apresentaram

mortalidade de 84 e 99% dos animais após desafio com a bactéria *Edwardsiella ictaluri*, comparada a uma mortalidade de 68% no grupo controle que não recebeu a micotoxina. A micotoxina T-2 também afetou o crescimento do **camarão marinho** *Litopenaeus vannamei* em doses de 0,1 ppm (100 ppb). Já para o camarão tigre (*Penaeus monodon*) o crescimento somente foi afetado a doses de 2 mg/kg. Níveis de micotoxina T-2 entre 1 e 2 ppm resultou em severos danos ao hepatopâncreas em ambas as espécies, com inflamação e perda de contato entre o tecido hematopoiético e o órgão linfóide após 8 ou 10 semanas recebendo a ração com T-2. **Nas aves**, foram registradas lesões orais. Redução na produção de ovos e na espessura da casca. Distúrbios nervosos (tremores ao andar). Hemorragia no intestino delgado, no fígado e em outros órgãos. Necrose dos tecidos e órgãos produtores de células sanguíneas. A T-2 é tóxica para os macrófagos, reduzindo a resposta imunológica dos animais.

Ocratoxinas também são produzidas por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Existem diversas formas de ocratoxinas, sendo a ocratoxina A (OA) o metabólito mais tóxico produzido pelo fungo *Aspergillus ochraceus*, que empresta seu nome a esta toxina. A ocratoxina A é comumente encontrada no milho, no trigo, na cevada e em outros cereais, sendo uma das micotoxinas predominantes nas regiões mais frias do hemisfério norte. No entanto, esta toxina também ocorre em regiões tropicais, porém com menor prevalência em amostras de grãos e alimentos quando comparada a outras micotoxinas. O efeito tóxico da ocratoxina A foi demonstrado no **catfish americano**. Peixes que foram alimentados com uma ração contendo entre 2 e 4 mg de OA/kg (entre 2.000 e 4.000 ppb de ocratoxina A) tiveram o crescimento prejudicado, apresentaram lesões no rim e se mostraram mais susceptíveis à infecção pela bactéria *Edwardsiella ictaluri*, responsável pela septicemia entérica no catfish. A **ocratoxina A** pode se acumular na musculatura dos animais e, portanto, pode causar danos nos rins de pessoas que ingerirem produtos animais contaminados com esta micotoxina. Em estudos realizados com o catfish americano foi verificado que a ocratoxina A se acumula pouco a pouco no fígado e nos músculos do peixe e que, após a interrupção na ingestão desta micotoxina, o processo de eliminação da mesma do músculo também é bastante lento. Já em **truta arco-íris** que receberam injeção intravenosa de ocratoxina radioativa, não foi observado

acúmulo da toxina no músculo, mas sim nos rins dos peixes. A LD 50 (dose letal que mata 50% dos indivíduos) foi estimada em 4,67 mg/kg de peso vivo quando administrada por injeção intraperitoneal em trutas. O **sea bass** (*Dicentrarchus labrax*), peixe marinho cultivado na Europa e parecido com o robalo, é uma das espécies de peixes mais sensíveis a ocratoxina A. Sinais de distúrbios nervosos e respiratórios foram registrados em sea bass intoxicados com esta micotoxina. A dose oral letal para 50% dos peixes em um intervalo de 96 horas (LD₅₀- 96h) foi equivalente a 0,285 mg de ocratoxina A por quilo de peso vivo. **Em suínos** a intoxicação por ocratoxina A resulta em lesões no fígado e nos rins, diminuindo a capacidade de filtragem do sangue e de concentração da urina. Pode ocorrer mortalidade, que em alguns casos pode chegar a 90% do plantel. Doses de 0,2 mg de AO/kg de ração são suficientes para provocar perda de desempenho e doenças renais em suínos.

Sinergismo entre micotoxinas e outros compostos

Os produtores, técnicos e patologistas devem considerar com precaução os valores aqui apresentados como limites tóxicos para as principais micotoxinas para os peixes, pois estes valores geralmente resultam de estudos laboratoriais realizados com a inclusão de uma única micotoxina na ração. No campo a realidade pode ser bem diferente, visto que as rações podem apresentar mais do que um tipo de micotoxina, aumentando o efeito tóxico para os animais ou, mesmo, podem conter substâncias específicas que potencializam os efeitos de uma micotoxina em particular (sinergismo). Por exemplo, **em alevinos de truta arco-íris** alimentadas por 30 dias com uma ração contendo 20 ppb de aflatoxina B1, a incidência de tumores no fígado em um período de 12 meses aumentou de 36% para 85% quando na ração foi incorporado um ácido graxo ciclopropenóico (metil stercolate). Provavelmente foi esta a associação envolvida na mortalidade de trutas na Califórnia alimentadas com ração contendo farelo de algodão, ingrediente rico em ácidos graxos ciclopropenóicos, e que se apresentou contaminado com aflatoxina B1. **Para o catfish americano** foi observada interação sinérgica entre a fumonisina B1 e a moniliformina (micotoxina também produzida por fungos do gênero *Fusarium*). Alevinos alimentados com ração contendo as duas micotoxinas (40 e 40 mg/kg) apresentaram ganho de peso 42% inferior ao tratamento controle. Quando consumidas isoladamente, foi registrada redução de 23% (moniliformina) ou 16% (fumonisina B1) em relação ao controle. Também foi registrado sinergismo entre aflatoxina B1 e toxina T-2 no peixe mosquito (*Gambusia affinis*). A dose letal (DL₅₀) com as duas substâncias combinadas foi pouco menor que 60% da dose estimada com base na toxidez das duas micotoxinas utilizadas isoladamente.

Prevenção de problemas com micotoxinas

Como as micotoxinas podem estar presentes nos ingredientes usados na produção de rações, particularmente os grãos e farelos vegetais, é importante que os fabricantes de ração implementem uma rotina de monitoramento (rastreamento e quantificação) das micotoxinas mais prováveis nestes ingredientes. Embora menos comum, farinhas de vísceras animais também podem conter micotoxinas e seus metabólitos devido à possibilidade de acúmulo dos mesmos nos tecidos e órgãos de animais que consumiram rações contendo micotoxinas. Além do controle da qualidade da matéria-prima, é preciso cuidar da limpeza de equipamentos (moinhos, misturadores, secadores e silos



Armazenamento correto das rações, com os sacos empilhados sobre paletes e afastados da parede



Sacos de ração inadequadamente acondicionados, em contato com o piso e com as paredes do depósito

de armazenamento) de forma a evitar a manutenção de fungos e resíduos de ração contaminados dentro da linha de produção. A adequada secagem da ração é fundamental para minimizar problemas com o desenvolvimento de fungos e acúmulo de micotoxinas na ração. A umidade dos peletes deve ficar abaixo de 13%. A adição de antifúngicos como o ácido propiônico na ração também ajuda a diminuir o desenvolvimento de fungos, principalmente se o produto não foi adequadamente secado ou caso o produto venha a incorporar mais umidade durante o transporte ou armazenamento.

Grande parte da contaminação por micotoxinas ocorre devido ao inadequado armazenamento nas pisciculturas. Invariavelmente os sacos de rações são acondicionados em locais inadequados, quentes, com precária ventilação e umidade (goteiras, infiltrações e umidade no piso). Durante o armazenamento as

embalagens devem ficar afastadas das paredes pelo menos 20 a 30 cm e posicionadas sobre paletes, para evitar o contato direto dos sacos com uma eventual umidade do piso. O local deve ser bem ventilado e fresco. Compartimentos climatizados com aparelho de ar condicionado são ideais, mantendo a temperatura mais baixa, por exemplo, ao redor de 24°C, e o ar seco. No entanto, isso geralmente é considerado um exagero e luxo em muitas pisciculturas. Vale lembrar que estamos falando aqui de um insumo que representa cerca de 60 a 80% do capital de giro empregado em um empreendimento aquícola e, portanto, deveria ser tratado com todo o cuidado que merece e precisa para não se deteriorar. Também é recomendável impedir o contato de animais com as rações (ratos, cachorros, galinhas, bodes, etc.) e realizar a inspeção e controle periódico de insetos no local de armazenamento. A manutenção de adequada limpeza também é fundamental para diminuir o potencial de inóculo da ração por fungos e seus esporos, prevenindo as contaminações.

As compras devem ser planejadas de forma que as rações sejam usadas no menor intervalo de tempo possível. O ideal é realizar a aquisição de rações mensalmente, evitando que os produtos fiquem mais do que 30 dias armazenados na piscicultura (salvo se as condições de armazenamento forem realmente bem adequadas). Evite usar ou comprar produtos com a validade vencida, mesmo sob condições especiais de preço. Além do risco destas rações conterem alguma micotoxina (que dependerá da qualidade da matéria-prima usada, dos cuidados no processamento e das condições de armazenamento do produto, entre outros fatores), os níveis de algumas vitaminas nos produtos vencidos podem estar bem abaixo dos níveis especificados no rótulo, devido à degradação de vitaminas durante o armazenamento do produto. Também pode ocorrer rancificação de gorduras e formação de bolores. Caso a oferta do fornecedor seja tentadora demais ou a situação de caixa da piscicultura não esteja tão confortável e a oferta de uma ração barata tenha vindo bem a calhar, verifique com atenção as condições sensoriais do lote de ração vencida (especificamente para a presença de bolores, cheiro de mofo, cheiro de ranço, presença de insetos – carunchos ou gorgulhos, etc.). Mesmo que a aparência do produto esteja normal, ainda assim é recomendável usar a ração vencida de forma intercalada com um produto dentro do prazo de validade, como forma de amenizar o risco de ocorrência de alguma desordem nutricional.

Outras boas práticas na prevenção de problemas com micotoxinas estão relacionadas com a limpeza geral dos depósitos de rações, silos de armazenamento, alimentadores mecanizados ou automáticos e comedouros. Em tanques-rede sempre há sobras de rações sobre as coberturas ou mesmo aderidas aos comedouros (telas ou flutuantes). Devido à elevada umidade local e mesmo aos espirros de água durante a alimentação dos peixes, estas partículas de rações podem ficar muito contaminadas por fungos e conter níveis mais elevados de micotoxinas. Eventualmente estas partículas (ou peletes) caem na água e são ingeridas pelos peixes. Dependendo da concentração de micotoxinas nestes peletes, o peixe pode se intoxicar e até mesmo morrer. Doses relativamente baixas de micotoxinas (de 0,3 a 5 mg/kg de peso vivo) podem ser

letais para algumas espécies de peixes. Alguns peletes bem mofados podem conter estas quantidades de micotoxinas.

Detecção da presença de micotoxinas na ração

A possibilidade de uma ração conter micotoxinas pode ser avaliada através da atenta observação de amostras das rações. A presença de bolores e cheiro de mofo é um indicativo do risco de contaminação por micotoxinas. Luz negra (luz ultravioleta com comprimento de onda de 365 nanômetros) pode ser utilizada na inspeção das amostras de ração. Rações contaminadas por micotoxinas geralmente apresentam uma fluorescência amarelo esverdeada semelhante ao brilho de um vaga-lume, quando exposta a luz negra.

Testes rápidos de campo podem ser usados para verificar a presença de algumas micotoxinas nas rações (Aflatoxinas, Fumonisinias e Deoxinivalenol). Estes testes são fáceis de usar e rápidos, sendo muito úteis em um primeiro rastreamento para micotoxinas. Caso uma ração teste positiva para alguma micotoxina, uma amostra pode ser enviada a um laboratório especializado para refinamento da análise e quantificação das micotoxinas presentes. Ao final desta matéria são relacionados algumas páginas da web para obter informações mais detalhadas sobre alguns testes disponíveis no mercado.

O envio periódico de amostras das rações para um laboratório especializado no rastreamento e quantificação de micotoxinas em rações animais é um procedimento preventivo eficaz para evitar problemas com micotoxinas. O investimento nestas análises não é muito elevado para grandes empreendimentos aquícolas. Já para pequenos produtores, uma saída seria realizar isso conjuntamente, para dividir os custos com estas análises de rotina. Seguramente este procedimento evitará despesas futuras e prejuízos com episódios de intoxicação e mortalidade associados à presença de micotoxinas e que geralmente são diagnosticados como doenças e, assim, tratados com medicamentos a um custo elevado e de forma ineficaz. ■

Laboratórios especializados em análises de micotoxina

Departamento de Agroindústrias, Alimentos e Nutrição
Esalq-USP (Piracicaba, SP)
<http://www.lan.esalq.usp.br/emicotoxinas.html>

Laboratório de Análises Micotoxicológicas
Universidade Federal de Santa Maria (Santa Maria-RS)
<http://www.lamic.ufsm.br/>

Laboratório de micotoxicologia e contaminantes alimentares
Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, SC)
<http://www.labmico.ufsc.br/servicos.htm>

Testes rápidos para micotoxinas

<http://www.envirologix.com/library/as101bgPORTinsert.pdf>
<http://www.solcampo.com.br/aflacheck.htm>
<http://www.solcampo.com.br/DONCheck.htm>
http://www.romerlabs.com.br/pdts_kits.html#AGRASTRIP
http://www.labstore.com.br/produtos_det.php?id_produto=93