

## Aflatoxicose aguda em suínos no Nordeste do Brasil

Acute Aflatoxicosis in Swines in Northeastern Brazil

**Robério Gomes Olinda<sup>1</sup>, Joseney Maia Lima<sup>2</sup>, Ricardo Barbosa de Lucena<sup>3</sup>,  
André Menezes do Vale<sup>2</sup>, Jael Soares Batista<sup>2</sup>, Claudio Severo Lombardo de Barros<sup>4</sup>,  
Franklin Riet-Correa<sup>1</sup> & Antônio Flávio Medeiros Dantas<sup>1</sup>**

### ABSTRACT

**Background:** Aflatoxins are hepatotoxic mycotoxins derived from the secondary metabolism of toxigenic fungi belonging to the genus *Aspergillus*, especially *A. flavus* and *A. parasiticus*. Aflatoxin B1 is the most important metabolite, because of its deleterious effect mainly to the liver, especially for its carcinogenic, mutagenic and haemorrhagic properties, and usually is detected in higher concentrations in contaminated substrates. This paper reports the epidemiological, clinical, pathological and toxicological aspects of an outbreak of acute aflatoxicosis in pigs raised in Northeastern Brazil.

**Case:** The cases occurred in a complete cycle farm, in the city of Mossoró, Rio Grande do Norte, Northeastern Brazil, in pigs ingesting low quality (moldy) corn being produced and processed on the farm. Sixty (73.1%) out of 82 two to five-months old pigs were clinically affected and 54 (65.8%) died. All animals showed fever, weight loss, tachycardia, tachypnea, lethargy, muscle tremors, muscle weakness and diarrhea. The clinical course ranged from five to 48 hours. Adult pigs were not affected. At necropsies, generalized jaundice, ascites, hydropericardium, petechial hemorrhages in the mesentery, subcutaneous edema and mesocolon were observed. The liver was yellow-orange with reddish diffuse multifocal areas, enlarged and extremely friable. Histologically there was swelling of hepatocytes with severe diffuse hepatocellular fatty degeneration, centrilobular hepatocellular necrosis, proliferation of bile ducts and cholestasis. High concentrations of aflatoxin B1 were determined in the corn (3400 µg/kg) and ration (1460 µg/kg).

**Discussion:** The diagnosis of aflatoxicosis was based on epidemiological investigation associated with clinical and pathological findings and confirmed by high levels of aflatoxin B1 found in samples of corn and feed. Of the numerous types of aflatoxin reported, the most common is the B1, which is typically produced by *Aspergillus* fungi. In intensive pig farms, management conditions increase the chances of occurrence of intoxications caused by the poor quality of the grain (especially maize) by the poor quality of the grain (especially maize) used in the diet formulation. In the present report the corn was severely degraded and kept in physical conditions that favor the proliferation of aflatoxins. In addition, young animals, which are more susceptible, were the only ones affected with 73% morbidity and 65.8% mortality. In cases of spontaneous aflatoxicosis morbidity in pigs can vary from 10 to 100% and mortality is high when the diet has a high concentration of aflatoxins as observed in this outbreak (3400 and 1460 µg/kg of B1 in corn and food, respectively). Increases in serum ALT levels indicate hyperacute, acute or chronic active hepatocellular damage; a toxic hepatitis in this case. Furthermore, the increased serum AST suggest the existence of extensive and progressive hepatocellular damage, because this enzyme is synthesized mitochondrial level. Legislation in Brazil, determines that the maximum tolerated aflatoxin concentrations are 50 parts per million (ppm) or 50 µg/kg in food included in the diet formulation for animal consumption and 20 ppb in corn grain for human consumption. Differential diagnosis of aflatoxicosis include leptospirosis and intoxication by *Crotalaria retusa* or other pyrrolizidine alkaloids-containing plants.

**Keywords:** aflatoxicosis, mycotoxins, toxic hepatitis, swine.

**Descritores:** aflatoxicose, micotoxinas, hepatite tóxica, suínos.

## INTRODUÇÃO

As aflatoxinas são micotoxinas hepatotóxicas oriundas do metabolismo secundário de fungos tóxicos pertencente ao gênero *Aspergillus*, especialmente *A. flavus* e *A. parasiticus*. A aflatoxina B1 (AFB1) é o metabólito mais importante, devido a sua ação deletéria principalmente ao fígado, sobretudo pelas suas propriedades carcinogênicas, mutagênicas e hemorrágicas, e por ser normalmente detectada em maiores concentrações nos substratos contaminados [9].

Os casos de aflatoxicose relatados no Brasil em bovinos [11] e/ou monogástricos, em especial nas aves e nos suínos [12,17], têm sido associados ao consumo de grãos de milho. Em cães, a aflatoxicose é atribuída principalmente às rações comerciais com níveis elevados de aflatoxinas [8], apesar de que, dietas à base de derivados de milho, arroz e/ou farelo de amendoim também já foram mencionadas como causas da toxicose [5,15].

Os suínos e os cães são os mamíferos mais suscetíveis aos efeitos das aflatoxinas, provavelmente devido às características intrínsecas a esses animais, que possuem baixa concentração da glutathione S-transferase (GST) no citosol dos hepatócitos, fundamental enzima detoxificante, que se constitui na principal via de conjugação das aflatoxinas [2]. Este trabalho descreve os achados epidemiológicos, clínico-patológicos e toxicológicos de um surto de aflatoxicose em suínos na região Nordeste do Brasil.

## CASO

Os dados relacionados às características epidemiológicas do surto foram obtidos mediante visita à propriedade, sendo obtidos os dados referentes à época do ano, tipo de criação, faixa etária, alimentação, raça, sexo, vermifugações e vacinações. Os sinais clínicos e a evolução da doença foram descritos pelo médico veterinário responsável. O surto ocorreu durante o mês de maio de 2012, em uma granja de suínos com ciclo completo no município de Mossoró, Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil.

Na propriedade havia 82 suínos crias de animais F1 proveniente do cruzamento de Landrace x Large White. Os animais não eram vacinados e nem vermifugados. A alimentação era formulada na fazenda, misturando-se grãos de milho moído, farelo de trigo, soja, sal e premix para a espécie. O milho que estava sendo usado na ração tinha sido produzido

na fazenda e devido à baixa qualidade comercial do grão o proprietário estocou para ser utilizado como alimento para os animais. O grão foi armazenado em sacos de 40kg em contato com o piso e sem ventilação no ambiente durante um período de três meses.

Do total de 82 animais com 2-5 meses de idade, 60 (73,1%) suínos de ambos os sexos adoeceram, sendo que destes, 12 eram da creche, com 60 dias de idade, 34 na fase de crescimento com três meses de idade e oito na fase de terminação, com meses de idade. Morreram 54 suínos (65,8% do rebanho), com sinais clínicos semelhantes. Havia ainda, dez matrizes e dois reprodutores que eram alimentados com a mesma ração, mais não tiveram alterações clínicas. Os leitões não estavam ingerindo a ração.

Os sinais clínicos incluíam febre de até 40.6°C, perda de peso, taquicardia, taquipneia, apatia, tremores musculares, fraqueza muscular, urina amarelo citrino e diarreia leve, ocasionalmente tingida de sangue. O curso clínico da doença variou de cinco a 48 horas, com morte de animais nas fases de creche, crescimento e terminação.

Em sete suínos foi colhido sangue para avaliação de função hepática (aspartato aminotransferase [AST], alanina aminotransferase [ALT], gama-glutamyl transferase [GGT]) e dosagem de proteínas séricas (proteína total [PT], albumina [AL] e globulinas [GL]). Os exames de bioquímica sérica revelaram valores elevados de alanina aminotransferase (ALT) em todos os animais, aspartato aminotransferase (AST) em quatro animais (suínos 1, 2, 3 e 7) e Gama-glutamyl transferase (GGT) em três animais (suínos 3, 5 e 6). Já os valores de proteínas totais (PT), albumina e globulinas estavam muito abaixo dos valores de referência estabelecido para a espécie (Tabela 1).

Os animais que morreram ou foram eutanasiados *in extremis*, foram necropsiados e fragmentos de órgãos da cavidade torácica, abdominal e sistema nervoso central foram coletados, fixados em formol tamponado a 10%, processados rotineiramente, cortados em secções de 5 µm e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE).

No período do surto foram necropsiados 20 animais. Na necropsia, os achados foram de icterícia acentuada, ascite, hidropericárdio, hemorragias petequiais no mesentério e edema no tecido subcutâneo e mesocólon. O fígado estava aumentado de tamanho, difusamente amarelo-alaranjado, com áreas multifocais avermelhadas, e extremamente friáveis ao corte

(Figura 1). A vesícula biliar estava edematosa. Histologicamente as lesões estavam restritas ao fígado e incluíam acentuada e difusa degeneração gordurosa hepatocelular (Figura 2A), severa tumefação de hepatócitos e marcada necrose hepatocelular principalmente na região centrolobular (Figura 2B). Havia ainda ocasional proliferação de ductos biliares e colestase intra-hepática moderada.

Um pool de amostras do milho e da ração utilizada na alimentação dos lotes de suínos foram submetidas para análise toxicológica pelo método de cromatografia em camada delgada (TLC). Verificou-se que o milho estava severamente mofado e foi detectada a presença de aflatoxinas AFB1, AFB2 e fumonisinas no milho e na ração usada na alimentação dos suínos (Tabela 2).

**Tabela 1.** Valores da análise bioquímica sérica em suínos intoxicados naturalmente com aflatoxinas

Animal	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	GGT (UI/L)	PT (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulinas (g/dL)	Relação A/G
1	92	99	38	2,8	1,1	1,7	0,64
2	436	80	29	3,2	1,3	1,9	0,68
3	387	159	101	3,2	1,4	1,8	0,78
4	82	96	16	4,2	2	2,2	0,9
5	33	92	66	4,4	1,2	3,2	0,375
6	64	118	72	3,2	1,5	1,7	0,88
7	87	61	48	4,2	1,4	2,8	0,5
Valores de referência <sup>a</sup>	32-84	31-58	10-60	7,9-8,9	1,8-3,3	5,2-6,4	-

<sup>a</sup>Kaneko et al. [6].

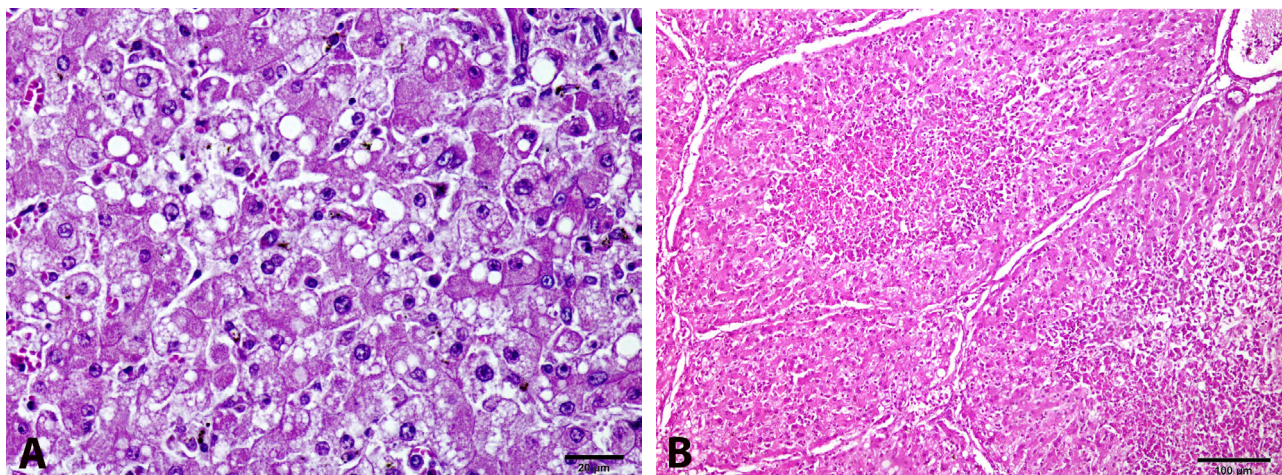
**Tabela 2.** Quantificação de micotoxinas em milho e ração de suínos com aflatoxicose.

Amostra	A <sub>w</sub> <sup>a</sup>	Micotoxinas µg/kg					
		Aflatoxinas				Fumonisinias	
		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	FB1	FB2
Milho	0,650	3400	350	ND <sup>b</sup>	ND	632	160
Ração	0,689	1460	150	ND	ND	384	ND

<sup>a</sup>Atividade de água. <sup>b</sup>Não detectado.



**Figura 1.** Aflatoxicose aguda em suínos. Observa-se fígado aumentado de tamanho, difusamente amarelo-alaranjado e com áreas multifocais avermelhadas.



**Figura 2.** Fígado de suíno com aflatoxicose aguda. (A) Há tumefação e vacuolização difusa e moderada dos hepatócitos. HE [Bar= 20 µm]. (B) Nota-se marcada áreas multifocais de necrose hepatocelular e hemorragia na região centrolobular. HE [Bar = 100 µm].

### DISCUSSÃO

O diagnóstico de aflatoxicose foi baseado na investigação epidemiológica associado aos achados clínico-patológicos e confirmado pela determinação de altos níveis de aflatoxina AFB1 nas amostras de milho e na ração (Tabela 2). Dos numerosos tipos de aflatoxina relatadas, a mais comum é a AFB1, a qual é tipicamente produzida por fungos do gênero *Aspergillus*. São metabólitos tóxicos que causam vários efeitos cancerígenos, tóxicos e teratogênicos [9]. Nas criações intensivas de suínos as condições de manejo aumentam as possibilidades de ocorrerem intoxicações provocadas pela ingestão de cereais de baixa qualidade (especialmente o milho) que são adicionados à misturas de grãos e/ou como constituinte da formulação da ração para os animais. No presente relato foi adicionada à ração milho bastante degradado e conservado em condições físicas que favoreceram a proliferação de aflatoxinas. Além disso, os animais jovens, que são mais susceptíveis [17], foram os únicos acometidos neste surto. A morbidade foi de 73% e mortalidade de 65,8%. A alta frequência da doença explica-se pela faixa etária dos animais afetados (2-5 meses), que são mais susceptíveis, e pelas altas concentrações de aflatoxinas no alimento, 3400 e 1460 µg/kg de AFB1 no milho e ração, respectivamente. Em casos espontâneos de aflatoxicose em suínos a morbidade pode variar de 10 a 100% e a mortalidade é elevada quando a dieta tem alta concentração de aflatoxinas [10].

Os surtos relatados de aflatoxicose em suínos são escassos no Brasil. Nessa espécie, a doença geralmente cursa com evolução subaguda a crônica após a

exposição à quantidade baixa a moderada de toxinas por um longo intervalo de tempo [12]. Clinicamente os animais apresentam um quadro caracterizado pela redução da eficiência reprodutiva, diminuição da conversão alimentar e redução na taxa de crescimento e no ganho de peso [3]. Além disso, é importante salientar as consequências negativas da ingestão de níveis baixos de aflatoxinas que levam a um quadro subclínico da doença, ocorrendo marcada perda de produtividade em uma criação suínica [17].

No fígado, as características histológicas nos animais deste surto incluíam principalmente degeneração gordurosa e necrose hepatocelular centrolobular. Essas lesões permitiram classificar a evolução da intoxicação em aguda. As lesões crônicas de aflatoxicose são constituídas majoritariamente por proliferação do epitélio dos ductos biliares, fibrose periportal, hepatomegalocitose e graus variáveis de esteatose hepatocelular [16]. Uma característica marcante nestes casos tóxicos agudos é a agressão aos hepatócitos periacinares (centrolobulares), pois nesta região há grande concentração de enzimas microsossomais (citocromo P-450), que constituem parte do processo de detoxificação de uma ampla variedade de xenobióticos. Outros agravantes são a baixa tensão de oxigênio e níveis reduzidos de glutathione peroxidase [1]. Particularmente, nos casos de aflatoxinas (AFB1), após serem absorvidas são biotransformadas pelo sistema microsossomal hepático em metabólitos muito tóxicos. Essa forma ativada da AFB1 é o composto identificado como 8,9-óxido, que modifica as estruturas celulares e, conseqüentemente, a sua atividade biológica [4].

Aumentos nos níveis séricos de ALT indicam lesão hepatocelular hiperaguda/aguda ou crônica ativa causada nesse caso por uma hepatite de origem tóxica. Além disso, o aumento nos níveis séricos de AST sugere a existência de lesões hepatocelulares progressivas e extensas, pelo fato dessa enzima ser sintetizada a nível mitocondrial. A hipoalbuminemia observada nesses casos, é justificada pela grande quantidade de toxinas consumidas pelos animais, uma vez, que a aflatoxina B1 é absorvida imediatamente ligada, de forma reversível, à albumina sanguínea e, em menor escala, a outras proteínas plasmáticas. Formas de aflatoxinas ligadas e não ligadas a proteínas séricas distribuem-se para os tecidos, especialmente para o fígado, onde geralmente provocam insuficiência hepática, levando a alteração nas propriedades funcionais e na síntese das proteínas [14]. Aumentos dos níveis séricos de GGT nos animais 3, 5 e 6 sugerem a ocorrência de um comprometimento extenso a nível hepático-colestático, com um grau de lesão que indica colangite, possivelmente secundária

hepatite, resultando em extravasamento e indução desta enzima, também por fatores tóxicos [6]. Nos animais que o valor de GGT normal, presumisse-se que o comprometimento colestático ainda não havia ocorrido ou não eram evidentes pela quantificação na bioquímica sérica.

A legislação no Brasil, determina o limite máximo tolerado de aflatoxina de 50 ppb (50 µg/kg) em alimentos incluídos na formulação de ração para consumo animal e de 20 ppb em grãos de milho para consumo humano [7]. No diagnóstico diferencial de aflatoxicose deve ser incluída principalmente a leptospirose e a intoxicação por *Crotalaria* spp. ou plantas que contenham alcaloides pirrolizidínicos, já que as alterações clínicas e patológicas nas duas condições são muito semelhantes [13].

**Declaration of interest.** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

#### REFERENCES

- 1 Biehl M.L. & Buck W.B. 1987. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. *Journal of Food Protection*. 50: 1058-1073.
- 2 Coppock R.W. & Jacobsen B.J. 2009. Mycotoxins in animal and human patients. *Toxicology and Industrial Health*. 25: 637-655.
- 3 Dilkin P. 2002. Micotoxicose suína: aspectos preventivos, clínicos e patológicos. *Biológico*. 64: 187-191.
- 4 Forrester L.M., Neal G.E., Judá D.J., Glancey M.J. & Lobo C.R. 1990. Evidence for involvement of multiple forms of cytochrome P-450 in aflatoxin B1 metabolism in human liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 87: 8306-8310.
- 5 Gomes A.R., Marcolongo-Pereira C., Sallis E.S.V., Pereira, D.I.B., Schild A.L., Faria R.O. & Meireles M.C.A. 2014. Aflatoxicose em cães na região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34: 162-166.
- 6 Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th edn. San Diego: Academic Press, 904p.
- 7 Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 2002. *Resolução RDC nº 274 de 15 de outubro de 2002*. Aprova o Regulamento Técnico sobre limites máximos de aflatoxinas no leite, amendoim e milho. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Sec. I, 16 de outubro de 2002.
- 8 Maia P.P. & Siqueira M.E.P.B. 2002. Occurrence of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in some Brazilian pet foods. *Food Additives & Contaminants*. 19: 1180-1183.
- 9 Mallmann C. A. & Dilkin P. 2007. *Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos*. Santa Maria: Gráfica Editora Pallotti, 238p.
- 10 Mallman C.A. & Dilkin P. 2012. Micotoxinas e suas interações na suinocultura. In: Sobestiansky J. & Barcellos D. (Eds). *Doenças dos Suínos*. 2.ed. Goiânia: Cãnone Editorial, pp.581-606.
- 11 Pierezan F., Oliveira Filho J.C., Carmo P.M., Lucena R.B., Rissi D.R., Togni M. & Barros C.S.L. 2010. Surto de aflatoxicose em bezerros no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30: 418-422.
- 12 Schoenau L.S.F., Varaschin M., Salles M.W.S., Santurio J.M. & Barros C.S.L. 1994. Aflatoxicose em suínos. *Ciência Rural*. 24: 349-354.
- 13 Ubiali D.G., Boabaid F.M., Borges, N.A., Caldeira F.H., Lodi L.R., Pescador C. A., Souza M.A. & Colodel E. M. 2011. Intoxicação aguda com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae) em suínos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31: 313-318.

- 14 Wyatt R.D. 1991. Poultry. In: Smith J.E. & Henderson R.S. (Eds). *Mycotoxins and Animal Foods*. Boca Raton: CRC Press, pp.553-605.
- 15 Wouters A.T.B., Casagrande R.A., Wouters F., Watanabe T.T.N., Boabaid F.N., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2013. An outbreak of aflatoxin poisoning in dogs associated with aflatoxin B1-contaminated maize products. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 25: 282-287.
- 16 Zachary J.F. & McGavin M.D. 2013. *Bases da Patologia em Veterinária*. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1324p
- 17 Zlotowski P., Corrêa A.M.R., Rozza D.B., Driemeier D., Mallmann C.A. & Migliavacca F.A. 2004. Surto de aflatoxicose em suínos no Estado do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 24: 207-210.