

Agentes biológicos no controle de aflatoxinas em piscicultura

Aquicultura, micotoxinas, peixes, probióticos, *Saccharomyces cerevisiae*.

Raizza Eveline Escórcio Pinheiro^{1*}
Aline Maria Dourado Rodrigues¹
Mabell Nery Ribeiro¹
Diego Helcias Cavalcante¹
Carina Maricel Pereyra²
Maria Christina Sanches Muratori³

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal do Piauí. Centro de Ciências Agrárias, Campus Ministro Petrônio Portela, CEP: 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil. *E-mail: raizza_eveline@hotmail.com

² Centro de Investigación y Transferencia. Instituto de Ciencias Básicas y Aplicadas. Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina

³ Departamento de Morfofisiologia Veterinária. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

RESUMO

A presente revisão mostra a possibilidade de controlar a contaminação de aflatoxinas por agentes biológicos em aquicultura. Várias estratégias (físicas, químicas e biológicas) têm sido desenvolvidas para controlar, reduzir, inativar ou eliminar a disponibilidade destas micotoxinas. Muitos estudos estão sendo conduzidos para a descontaminação de aflatoxinas em alimentos para animais, incluindo a utilização de micro-organismos benéficos que podem se ligar as aflatoxinas no trato gastrointestinal reduzindo o grau de absorção. Existem produtos comerciais destinados a alimentos para peixes, que estão disponíveis como prebióticos e probióticos e são formadas por estirpes de bactérias e leveduras e são muito utilizados em ensaios de adsorção de micotoxinas. Portanto, estes alimentos funcionais podem ser capazes de reduzir a quantidade de micotoxinas presentes no trato gastrointestinal.

Palavras-chave: aquicultura, micotoxinas, peixes, probióticos, *Saccharomyces cerevisiae*.



Nutri·Time

Revista Eletrônica

Vol. 12, Nº 05, set/out de 2015

ISSN: 1983-9006

www.nutritime.com.br

A Revista Eletrônica Nutritime é uma publicação bimensal da Nutritime Ltda. Com o objetivo de divulgar revisões de literatura, artigos técnicos e científicos e também resultados de pesquisa nas áreas de Ciência Animal, através do endereço eletrônico: <http://www.nutritime.com.br>.

BIOLOGICAL AGENTS IN THE CONTROL OF AFLATOXINS IN AQUACULTURE

ABSTRACT

The present revision shows the possibility to control the aflatoxins contamination by biological agents in aquaculture. Several strategies (physical, chemical and biological) have been developed to control, reduce, inactivate or eliminate the availability of these mycotoxins. Many studies are being conducted for the decontamination of aflatoxins in feed, including, the use of beneficial microorganisms that can bind aflatoxins in the gastrointestinal tract reducing the degree of absorption. There commercial products destined to fish feed that are available as prebiotics and probiotics and are formed by strains of bacteria and yeasts used in most assays adsorption of mycotoxins. Therefore, these functional foods could be able to reduce the amount of the mycotoxins present in gastrointestinal tract.

Keywords: aquaculture, mycotoxins, fish, probiotics, *Saccharomyces cerevisiae*.

INTRODUÇÃO

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por certos fungos, que são capazes de gerar efeitos deletérios em homens e animais (PITT e HOCKING, 2009). De um modo geral, já foram identificadas mais de 400 micotoxinas, sendo as de maior impacto produzidas por fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Alternaria*. Cada um destes gêneros podem produzir vários tipos diferentes de micotoxinas. Na mesma forma, diferentes espécies de fungos podem produzir o mesmo tipo de toxina. Entre as principais micotoxinas, a aflatoxina B₁ (AFB₁) destaca-se por ser o carcinógeno hepático mais potente demonstrado em várias espécies de animais e é responsável por desencadear efeitos teratogênicos, mutagênicos e carcinogênicos (KLICH, 2007). Os efeitos dependem da espécie e susceptibilidade do animal, da dose e do tempo de exposição (HUSSEIN e BRASEL, 2001).

A contaminação por micotoxinas pode ser gerada em qualquer segmento da cadeia de produção do alimento: algumas se formam sobre os grãos que crescem no campo, na matéria-prima ou o produto acabado armazenados em condições desfavoráveis durante longos períodos de tempo (WITHLOW e HAGLER, 2002). A ingestão de alimentos contaminados é a principal via de exposição dos animais. A grande estabilidade química que apresentam as micotoxinas permite a permanência no alimento mesmo após a remoção dos fungos pelos processos normais de industrialização e embalagem (TRISTAN, 2002).

Há uma preocupação com a presença de AFs em produtos destinados à acuicultura. Alimentos contaminados com aflatoxinas (AFs) são responsáveis por causar danos em várias espécies cultivadas em ambiente aquático, gerando desequilíbrios fisiológicos, redução do crescimento, alterações histo-morfológicas, principalmente no fígado (icterícia, lesões hepáticas) e conseqüentemente oferecem riscos à saúde do consumidor, pela presença da toxina na musculatura de peixes (BOONYARATPALI et al., 2001; GOPINATH et al., 2012), causando prejuízos econômicos como redução no desempenho produtivo, queda na produção e mortalidade dos animais (KUBITZA, 2010).

Diferentes estratégias de prevenção e controle sobre a contaminação de micotoxinas têm sido desenvolvi-

das (MALLMANN et al., 2006). Dentre estas, a melhor forma de controle das micotoxinas baseia-se na utilização de condições desfavoráveis para o desenvolvimento de fungos. Caso este controle não seja eficiente, podem ser utilizados procedimentos físicos, químicos e biológicos que propiciem redução de contaminantes tóxicos nos alimentos (RAHAIE et al., 2012). Uma das alternativas promissoras é a descontaminação biológica realizada por bactérias e leveduras que tenham propriedades probióticas. Estes micro-organismos quando adicionados aos alimentos contaminados são capazes de adsorver micotoxinas no trato gastrointestinal para serem eliminadas pelas fezes.

Fungos micotoxigênicos

Os fungos podem ser saprófitos ou parasitos, viver em matéria orgânica, na água, no solo, na superfície ou no interior de animais e vegetais (GIMENO, 2000; BURTON e ENGELKIRK, 2005). Em determinadas condições são capazes de produzir micotoxinas e podem causar efeitos nocivos à saúde em humanos e animais (RAJEEV BHAT et al., 2010).

Os fungos micotoxigênicos mais conhecidos abrangem quatro gêneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Alternaria* (PITT; HOCKING, 2009). O gênero *Aspergillus* destaca-se pelo grande número de espécies existentes, a taxonomia atual reconhece umas 185 delas (KIRK et al., 2001). Destas 20 espécies foram documentadas por causar imunossupressão e algumas enfermidades em homens e animais (KLICH, 2007). O gênero tem sido dividido em várias seções, sendo a seção *Flavi* com espécies economicamente importantes, como o *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nominus*, por serem produtores de AFs (REDDY et al., 2009). Os fungos pertencentes ao gênero *Penicillium* são de crescimento rápido e na grande maioria, de ambientes terrestres. Algumas espécies são produtoras de micotoxinas. Os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* são comumente encontrados como contaminantes de produtos durante a secagem e o armazenamento, sendo denominados fungos de armazenamento (SWEENEY e DOBSON, 1998). Fungos do gênero *Fusarium* e *Alternaria* são encontrados na natureza e conhecidos como fitopatógenos e produtores de micotoxinas. Estão frequentemente associados na etapa de pré-colheita de cereais contaminados ou imediatamente após (RUPOLLO et al., 2006; PITT e

HOCKING, 2009). As micotoxinas de *Fusarium* mais importantes são: zearalenona (ZEA), deoxinivalenol (DON) e fumonisinas B (FBs). As principais espécies produtoras de metabólitos secundários deste gênero são *F. graminearum* e *F. verticillioides* (PITT et al., 2000). As espécies do gênero *Alternaria* sintetizam mais de 70 metabólitos tóxicos para plantas, pessoas e animais, tais como: altenariol, altenusinas e macrosporinas (OSTRY, 2008).

Micotoxinas

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por certos fungos filamentosos, sendo responsáveis por causar uma resposta tóxica (micotoxicose) quando ingerida por animais e humanos (PITT, 2000).

Atualmente, existem mais de 400 micotoxinas que causam vários prejuízos às pessoas e aos animais, afetando funções, promovendo danos no crescimento, além de desenvolverem quadros de neoplasias, mutagênese, teratogênese, imunossupressão, entre outras (ŁAZICKA e ORZECOWSKI, 2010). Dentre as mais conhecidas pela toxicidade estão a aflatoxinas B (AFB), ocratoxina A (OTA), tricotecenos, zearalenona (ZEA), patulina, citrinina e as fumonisinas B (FBs) (RODRIGUEZ-AMAYA e SABINO, 2002).

Globalmente, são reconhecidas como contaminantes de alimentos e sua presença pode resultar em micotoxicoses crônicas ou agudas dependendo da quantidade de toxina ingerida e do tempo de exposição (MAGAN e ALDRED, 2007). Em alguns casos pode haver a ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas, potencializando os efeitos tóxicos sobre o organismo susceptível (POZZI, 2000). Os órgãos frequentemente afetados são o fígado, rins, cérebro, músculos e o sistema nervoso (BORGES et al., 2002).

O impacto econômico provocado pelas micotoxinas inclui baixa produtividade, ganho de peso e eficiência alimentar reduzida, maior incidência de doenças que causam supressão do sistema imunitário, interferência nas taxas de reprodução, podendo levar inclusive, a morte de animais (HUSSEIN e BRASEL, 2001).

A contaminação de rações por micotoxinas pode variar de acordo com vários fatores, como: tipo de fungo, umidade do substrato, temperatura ambiente, aeração, métodos de processamento, produção, armazenamento dos produtos e tipo e disponibilidade do substrato (MALLMANN et al. 2006; PITT e HOCKING, 2009). Podem entrar na cadeia alimentar humana e animal por contaminação direta e indireta de alimentos. A contaminação direta ocorre quando o alimento é contaminado por fungo e promove a formação de micotoxinas. A forma indireta ocorre quando um ingrediente foi previamente contaminado por fungos e mesmo após ter sido eliminado durante o processamento, as micotoxinas ainda permanecerão no produto final (FRISVAD e SAMSON, 1992).

No campo, alterações no comportamento ou desempenho, aumentada susceptibilidade a doenças infecciosas e o aparecimento de sinais clínicos não específicos tornam difícil o estabelecimento da relação causa-efeito e do diagnóstico clínico da doença (DUARTE et al., 2011). Sendo assim, as micotoxicoses podem ser confundidas com doenças causadas por outros micro-organismos patogênicos.

Alimentos produzidos a partir de carne ou leite de animais que foram previamente alimentados por rações contaminadas podem conter níveis acumulados de micotoxinas (ŁAZICKA e ORZECOWSKI, 2010). Deste modo, a presença de micotoxinas em matérias primas ou alimentos, requerem um monitoramento eficaz para prevenir o aparecimento de micotoxicoses na produção animal, reduzir perdas econômicas e minimizar os riscos para a saúde humana e animal.

Aflatoxinas

As AFs são toxinas produzidas principalmente pelas espécies *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*. Diferentes AFs foram detectadas, mas apenas quatro tipos (AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂) foram encontradas como contaminantes naturais de rações e ingredientes. São comumente encontradas em diversos alimentos, especialmente em cereais como milho, trigo, sorgo e arroz, em subprodutos de cereais e em uma série de alimentos para humanos, tais como: produtos de salsicharia, vinhos, leguminosas, frutas, leites e derivados (MALLMANN et al., 2006; FERREIRA, et al., 2006; GIMENO e MARTINS, 2011).

A aflatoxina B₁ (AFB₁) é o mais importante carcinógeno formado (KLICH, 2007), responsável por desencadear toxicidade aguda e crônica e gerar danos cancerígenos, mutagênicos, hepatotóxicos e imunossupressores aos homens e animais (FERREIRA et al., 2006; ŁAZICKA e ORZECOWSKI, 2010). Aflatoxicoses crônicas resultam em câncer no fígado, órgão alvo primário desta toxina, sendo que na forma aguda podem levar a morte (BENNETT e KLICH, 2003). É classificada como carcinogênico do grupo I pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer, devido a relação com o carcinoma hepatocelular humano em várias regiões da África e no sudeste da Ásia (WOGAN, 1992; WANG e GROOPMAN, 1999). A extensão e a intensidade da intoxicação com AFs depende da idade do animal, sexo, massa corporal, dieta, resistência a infecções, presença de outras micotoxinas, bem como dos agentes farmacológicos presentes no alimento (ŁAZICKA e ORZECOWSKI, 2010).

Considerando a toxicidade das AFs, o Brasil, através do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece limites para alimentos de consumo animal, matérias primas e rações através da Portaria nº. 07, de 9 de novembro de 1988, sendo somente para AFs B₁, B₂, G₁ e G₂ limites de no máximo 50 µg/Kg (BRASIL, 1988). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da RDC Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, determina os Limites Máximos Toleráveis (LMT) para AFs, OTA, fumonisina B₁ (FB₁), ZEA, DON e patulina em alimentos de consumo humano (BRASIL, 2011). Os LMT para AF B1, B2 G1 e G2, variam de 0,5 a 20,0 µg/Kg em alimentos prontos para o consumidor e matérias-primas (BRASIL, 2011).

Aflatoxinas em piscicultura

As AFs são importantes em piscicultura, sua presença exerce um impacto econômico negativo relevante, podendo gerar graves problemas de saúde, após exposição à alimentação contaminada. Anormalidades como crescimento deficiente, desequilíbrios fisiológicos e histológicos são alterações que resultam na redução da produtividade e rentabilidade de cultivo (BOONYARATPALI et al., 2001; GOPINATH et al., 2012).

A contaminação de micotoxinas em espécies aquáticas se dá principalmente através da ingestão de rações contaminadas, visto que o aumento de uso de cereais como ingredientes de ração proporciona o aparecimento destas toxinas (EL-SAYED et al., 2009). No Brasil foram realizados estudos para detecção de micotoxinas na ração destinada a alimentação de peixes (Tabela 1).

O primeiro relato de mortalidade de peixes por micotoxinas foi realizado no início da década de 60, na Califórnia com trutas arco-íris que consumiram ração contendo farelo de algodão contaminado por AFs (HALVER, 2001). Posteriormente, o efeito cancerígeno de AFs foi estudado em diferentes espécies de peixes, como salmonídeos, truta arco-íris, bagre do canal, tilápia do Nilo e carpas indianas (JANTRAROTAI e LOVELL, 1990; TACON, 1992; TUAN et al., 2002; MURJANI, 2003; ROYES e YANONG, 2005). Resíduos de AFs foram encontrados em vários tecidos do corpo de camarões após quatro semanas de alimentação com dieta contaminada (BOONYARATPALI et al., 2001). Estudos mais aprofundados sobre os efei-

TABELA 1. Incidência de micotoxinas em alimentos destinados à aquicultura no Brasil

Região	Toxina	Nº de amostras pesquisadas	Incidência (%)	Concentração	Referência
Paraná (Londrina)	AFs	42	61,9	ND a 15,60 µg/g	Hashimoto, 2003
	FBs		76,2	ND a 11,22 µg/g	
Paraná (região Norte e Oeste)	AFs	100	21	7,84 a 26,49 µg/kg	Buck, 2005
	OTA			28,8 a 175,8 µg/kg	
Piauí	AFs	22	22,7	0,25µg/kg a 360µg/kg	Calvet et al., 2009
	FBs		98	0,3 a 4,94 µg/g	
Rio de Janeiro	AFs	60	55	Níveis não quantificados	Barbosa et al., 2013
	OTA		3,3		

tos causados pela administração de AFs em dietas de *Oreochromis mossambicus* evidenciaram alterações celulares, demonstradas por rupturas de membrana lisossomal de tilápias, de acordo com o aumento na concentração de toxina (SUCHITRA e BABU, 2012). São vários os prejuízos que as micotoxinas causam às espécies aquáticas, dentre alguns dos efeitos ocasionados aos peixes estão a redução do crescimento, do hematócrito, de glicose no sangue, repressão do sistema imune e tumores no fígado (TUAN et al., 2002; VIEIRA et al., 2006).

Controle de micotoxinas

A preocupação com o impacto proporcionado pelas micotoxinas sobre a saúde humana e animal levou ao desenvolvimento de pesquisas para prevenir sua formação, inativar ou reduzir sua biodisponibilidade em produtos contaminados (HERNANDEZ-MENDOZA et al., 2009). Para o desenvolvimento de métodos adequados de controle de micotoxinas torna-se extremamente necessário o entendimento dos fatores que permitem o crescimento do fungo e a produção de micotoxina (MALLMANN e DILKIN, 2007; GIMENO e MARTINS, 2011).

Após mais de 40 anos de sua descoberta, processos de prevenção e controle das micotoxinas, ainda não apresentam um modelo seguro e eficaz como solução definitiva (PRADO et al., 2006). A prevenção do aparecimento de condições propícias para o desenvolvimento de fungos é a melhor forma de controle para micotoxinas. A utilização de tecnologias de cultivo adequadas, de fungicidas, o monitoramento constante da produção agrícola associado ao controle das condições adversas (ŁAZICKA e ORZECOWSKI, 2010, JUODEIKIENE et al., 2012) são medidas preventivas para redução da contaminação de alimentos. Por outro lado, a utilização de mecanismos de controle físicos, químicos e biológicos vem sendo constantemente pesquisada, propiciando respostas significativas para a redução de contaminantes tóxicos de alimentos (TURBIC et al., 2002; CAST 2003; GIMENO e MARTINS, 2011; RAHAIE et al., 2012).

De acordo com a Comissão de Regulação da Comunidade Européia (EC, 386/2009) os agentes detoxificantes são as substâncias que podem suprimir ou reduzir a absorção, promover a excreção ou modificar

o modo de ação de micotoxinas. Segundo Tapia-Salazar et al. (2010) estes agentes podem ser classificados em adsorventes, capazes de reduzir a biodisponibilidade de micotoxinas; agentes biotransformadores, que degradam estas toxinas em metabólitos menos tóxicos e agentes protetores, que tem a finalidade de proteção contra danos a nível celular, ocasionado pelo consumo destes agentes tóxicos.

Bactérias, leveduras e fungos filamentosos, tem sido testada para serem utilizados no controle biológico de contaminação de AFs (RAHAIE et al., 2012). Entre os diferentes tipos de micro-organismos utilizados, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias ácido lácticas (BAL) têm proporcionado bons resultados (EL-NEZAMI et al., 1998). Alguns estudos mostram que cepas de *Bacillus subtilis* podem ser capazes de inibir o crescimento de *Aspergillus* e adsorção de AFB₁ (FOLDES et al., 2000; HAI, 2006).

Aditivos antimicotoxinas

No processo de adsorção são utilizados compostos com propriedades adsorventes para ligar-se eficientemente à determinada micotoxina, reduzindo assim, a ação tóxica da mesma no organismo. No Brasil, estes produtos são denominados aditivos antimicotoxinas (AAM) (BRASIL, 2006). Nesta classificação estão incluídos os produtos que, quando adicionados a alimentos para animais, sejam capazes de adsorver, inativar, neutralizar ou biotransformar micotoxinas (GIMENO e MARTINS, 2006).

Para a comprovação da capacidade de adsorção destes produtos são realizados testes *in vitro* e *in vivo*. Os estudos *in vitro* são importantes para demonstrar inicialmente a afinidade de AAM à micotoxinas. A maior parte destes aditivos exerce efeito de quimio-adsorção e deve ser capaz de unir-se eficazmente às micotoxinas e bloqueá-las no trato gastrointestinal de animais, devendo dar lugar a compostos estáveis e irreversíveis que posteriormente são eliminados pelas fezes. Mallmann et al. (2006) relataram a obtenção de percentuais de adsorção de micotoxinas de 90% em suco gástrico e intestinal para avaliações *in vitro*, porém estes percentuais não corresponderam ao desempenho apresentado pelos produtos nos ensaios *in vivo*. Vários estudos realizados em outros países mostram a existência de metodologias diferentes para

realização de ensaios de adsorção *in vitro*, tornando difícil a comparação dos resultados. No entanto, no Brasil já foi estabelecida uma metodologia para registro de AAM em produtos destinados à alimentação animal (BRASIL, 2006).

Micro-organismos para controle de aflatoxinas

Atualmente, uma das alternativas promissoras no processo de controle de micotoxinas é a detoxificação biológica, sendo que as bactérias ácido-láticas (BAL) e as leveduras *Generally Recognized As Safe* (GRAS) constituem uma das ferramentas importantes da biotecnologia, tornando-se uma alternativa válida na descontaminação de micotoxinas. BAL são um grande grupo de bactérias geneticamente diversas, classificadas como gram-positivas, cujo produto de sua fermentação é o ácido lático (BOVO et al., 2010). A colonização do trato gastrointestinal por este grupo de micro-organismos, assim como por algumas leveduras, como a *S. cerevisiae* podem inibir o efeito tóxico de alguns compostos.

Estudos têm sido realizados com o intuito de identificar a habilidade e os mecanismos de remoção das micotoxinas por estes agentes (EL-NEZAMI et al., 1998). Alguns mostram que *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* foram capazes de remover AFB₁ de soluções líquidas em experimentos realizados *in vitro* (HASKARD et al., 2001; PIZZOLITTO et al., 2011).

As bactérias lácticas contribuem para a biotransformação de micotoxinas em metabólitos que não são prejudiciais aos animais e o reduzido pH sucessivamente inibe o desenvolvimento de esporos fúngicos (ŁAZIČKA e ORZECZOWSKI, 2010). A atividade inibidora de BAL pode ser resultante da produção de ácidos orgânicos, dióxido de carbono, etanol, peróxido de hidrogênio, diacetil, reuterina e outros metabólitos; pelo crescimento competitivo; pela diminuição do pH causada pela produção de ácidos; ou por uma combinação de todos estes fatores (BIANCHINI e BULLERMAN, 2010).

Porém, em alguns estudos anteriores, BAL foram considerados ligantes ineficientes de micotoxinas, o que pode ser justificado pela estirpe de bactéria utilizada, concentração bacteriana, tempo de incubação ou pH (BOLOGNANI et al., 1997; EL-NEZAMI et al., 1998).

El-Nezami et al. (1998) relataram a capacidade dessas bactérias para remover AFB₁ de meios líquidos contaminados artificialmente e observaram que esse processo depende da estabilidade do complexo formado, visto que no caso da ligação não ser forte o suficiente, a micotoxina pode ser liberada da parede celular do trato gastrointestinal, caracterizando a ineficiência da adsorção. Shahin (2007) observou um aumento significativo da estabilidade do complexo formado com AFB₁, bem como de sua capacidade de remoção ao utilizar algumas estirpes bacterianas que haviam sido submetidas a tratamentos térmicos ou com ácidos e Haskard et al. (2001), em seus estudos, constataram ser o tratamento ácido o mais eficiente, na maioria dos casos.

Assim como BAL, espécies Gram positivas do gênero *Bacillus* possuem grande potencial para serem usadas como agentes de controle biológico (FOLDES et al., 2000; HAI, 2006). Em pesquisas realizadas com cepas isoladas de *Bacillus*, Gao et al. (2011) encontraram remoção de 81,5% de AFB₁ e demonstraram que estas possuem alta resistência quando simuladas condições semelhantes de conteúdo estomacal e intestinal de animais, assim como também contra patógenos deste ambiente.

Entre os agentes biológicos que podem ser utilizados para remoção de micotoxinas, as leveduras da espécie *S. cerevisiae* têm sido alvo de diversas investigações (DEVEGOWDA et al., 1996; BAPTISTA et al., 2004). As leveduras possuem vantagens em relação a outros micro-organismos pela capacidade de assimilar grande variedade de substratos, facilidade na extração de sua biomassa e alta velocidade de crescimento (ICIDCA, 1999). Já existem muitos relatos sobre a utilização de leveduras como aditivo na dieta de animais para melhoria dos efeitos tóxicos das micotoxinas (SANTIN et al., 2003). A adição destes componentes em produtos comerciais ainda tem como benefícios a capacidade de suportar altas temperaturas, sendo fator importante, visto que as rações passam por processos de peletização e também são capazes de resistir às condições químicas e físicas do trato digestivo dos animais (PERRY, 1995).

De acordo com Juodeikiene et al. (2012) a utilização de estirpes dos componentes de *S. cerevisiae* e BAL

com capacidade elevada de ligação de micotoxinas, podem ser utilizadas como aditivos em pequenas quantidades para muitos alimentos, sem alterar as características do produto final. O processo de descontaminação biológica tem alcançado bons resultados e estudos mais avançados já relatam a utilização de enzimas específicas de certos micro-organismos que alteram a estrutura de micotoxinas, transformando-as em compostos menos ativos como agentes patogênicos (JUODEIKIENE et al., 2012).

Compostos à base de micro-organismos em piscicultura

Os peixes possuem bactérias livres no trato gastrointestinal, diferentemente dos animais domésticos que possuem microflora permanente. A colonização do trato gastrointestinal destes sofre influência de componentes ambientais, então sua microbiota pode mudar rapidamente em função do fluxo de micro-organismos provenientes do ambiente e do alimento (ABIDI, 2003). Em virtude disto é essencial o controle de metabólitos tóxicos advindos do habitat destas espécies, para evitar o aparecimento de micotoxinas.

A utilização de alimentos funcionais que contenham micro-organismos benéficos pode auxiliar no processo de descontaminação de micotoxinas. Quando possuem cepas viáveis, são denominados probióticos e atuam benéficamente no organismo do animal, promovendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal (FULLER, 1989). Já outros compostos, são formados por micro-organismos que receberam tratamento, ou pela extração de seus componentes.

Além de atuarem na prevenção de enfermidades, estes produtos são uma alternativa para reduzir a utilização de antibióticos na aquicultura. A inclusão de cepas viáveis na dieta de peixes modifica a microbiota intestinal por meio da competição com os micro-organismos indesejáveis por sítios de adesão e nutrientes, produção de substâncias antibacterianas e enzimas (FULLER, 1989; CYRINO et al., 2010). De acordo com Fuller (1989), a atuação de produtos comerciais formados por micro-organismos desencadeia a produção de compostos antimicrobianos; promovem alteração do metabolismo microbiano, pelo aumento ou diminuição da atividade enzimática e estímulo da imunidade do hospedeiro.

Uma diversidade de micro-organismos tem sido utilizada como probióticos, incluindo espécies de *Bacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, e leveduras como o *Saccharomyces* (COLLINS e GIBSON, 1999). As bactérias gram-positivas utilizadas são produtoras de ácido lático, habitantes naturais do trato gastrointestinal e atuam efetivamente como probióticos aderindo ao epitélio intestinal e colonizando o trato. Espécies de *B. subtilis* são utilizados combinados, isolados ou, às vezes, associadas a leveduras e outros agentes com a finalidade de auxiliar bactérias produtoras de ácido lático na sua colonização (MARUTA, 1993).

Pinheiro (2013) ao simular o pH do estômago e do intestino de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com soluções tampão fosfato salino (PBS), avaliou a capacidade antimicotóxica de compostos à base de leveduras secas de cervejaria e de probióticos comerciais utilizados na alimentação animal para adsorção *in vitro* de AFB₁ e verificou que os mesmos podem vir a reduzir a quantidade de AFB₁ ingerida ocasionalmente por tilápias do Nilo em rações contaminadas.

A levedura da cana-de-açúcar (*S. cerevisiae*) vem sendo utilizada na dieta de diferentes espécies animais, incluindo peixes. Segundo Hisano et al. (2004), leveduras e derivados do seu processamento se destacam por sua biossegurança e fácil incorporação à mistura durante o processamento da ração. A levedura seca ou desidratada é uma das formas mais utilizadas, sendo obtida, em grande parte, dos resíduos de processamento em fábricas de cervejarias, resultando assim, em um composto mais concentrado. Especificamente, extratos de parede celular de leveduras possuem alto conteúdo de polissacarídeos não amiláceos (glucanos e mananos), com propriedades que beneficiam o sistema imune e interferem positivamente na microbiota intestinal de peixes (HISANO et al., 2008). Diversos autores relataram os efeitos positivos dos probióticos na piscicultura (Tabela 2).

Certas espécies de leveduras e de BAL são adicionadas aos alimentos para animais com propriedades probióticas, mas, além disso, possuem habilidade para adsorver micotoxinas. Diversos trabalhos mostraram os efeitos benéficos da ingestão de compostos formados por micro-organismos, mas ainda são pou-

Tabela 2. Benefícios de probióticos utilizados em aquicultura

Probióticos	Espécies de peixes	Benefícios	Referencias
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>	Truta arco-íris <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Maior taxa de sobrevivência de peixes expostos a diversos patógenos	Raida et al., 2003
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus acidophilus</i>	Tilápia	Aumento da taxa de sobrevivência e do ganho de peso	Aly et al., 2008
<i>Alteromonadaceae</i>	Juvenis de linguado <i>Solea senegalensis</i>	Melhoria na taxa de crescimento	Saenz de Rodrigues et al., 2009
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	Tilápias do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i>	Atividades enzimáticas de amilase, protease e lipase no trato gastrointestinal	Essa et al., 2010
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		Atividade de amilase, no entanto as atividades de protease e lipase não foram afetadas.	
<i>Bacillus subtilis</i>	Truta arco-íris <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Parâmetros bioquímicos; agente no controle de <i>Streptococcus</i>	Kamgar et., 2013

cos os estudos onde se avalia a capacidade de adsorção de micotoxinas por estes (BAPTISTA et al., 2004; PEIRANO, 2008; PIZZOLITTO et al., 2011; RAHAIE et al., 2012; PINHEIRO, 2013).

Estudos relacionados à capacidade de detoxificação biológica por produtos à base de bactérias e leveduras priorizam testar a administração destas cepas puras, sendo também importante a elaboração de experimentos com produtos formados por um sinergismo de espécies e pela extração de componentes importantes disponíveis no mercado e utilizados frequentemente na alimentação para animais.

CONCLUSÃO

O controle de AFs por micro-organismos podem auxiliar no processo de redução da quantidade disponível desta micotoxina em piscicultura, todavia é necessário a realização de mais estudos in vitro e in vivo para verificação da capacidade antimicotóxica e da viabilidade econômica da inclusão destes produtos na alimentação animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIDI, R. Use of probiotics in larval rearing of new candidate species. **Aquaculture**, v. 8, p. 5-16, 2003.
- ALY, S.M. et al. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 25, p. 128-136, 2008.
- BAPTISTA, A. et al. The capacity of manno-oligosaccharides, thermolysed yeast and active yeast to attenuate aflatoxicosis. **World Journal of Microbiology e Biotechnology**, v. 20, p. 475-481, 2004.
- BARBOSA, T.S. et al. Mycobiota and mycotoxins present in finished fish feeds from farms in the Rio de Janeiro State, Brazil. **International Aquatic Research**, v. 5, p. 01-09, 2013.
- BENNETT, J.W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, p. 497-516, 2003.
- BIANCHINI, A.; BULLERMAN, L.B. Biological control of molds and mycotoxins in foods. In: ACS SYMPOSIUM SERIES. Mycotoxin prevention and control in agriculture. Washington: **American Chemical Society**, 2010. p. 1-16.
- BOLOGNANI, F.; RUMNEY, C. J.; ROWLAND, I.R. Influence of carcinogen binding by lactic acid producing bacteria on tissue distribution and in vivo mutagenicity of dietary carcinogens. **Food Chemical Toxicology**, v. 535, p. 35-45, 1997.
- BOONYARATPALI, M. et al. Effects of aflatoxin B1 on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). **Aquaculture Research**, v.32, p. 388-398. 2001. Supplement.

- BORGES et al. Contagem de fungos no controle de qualidade da ervamate (*Ilex paraguariensis* st. hil) e isolamento de gêneros potencialmente micotoxigênicos. **Boletim CPPA**, v. 20, p. 10-103, 2002.
- BOVO, F. et al. Descontaminação de aflatoxinas em alimentos por bactérias ácido-láticas. **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, p. 15-21, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 130, de 24 de maio de 2006**. Estabelece protocolos para reavaliação do uso de adsorventes de micotoxinas como aditivo autorizado na alimentação animal. D.O.U., Brasília, DF, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria MA/SNAD/SFA nº. 07, de 09 de novembro de 1988**. Fixa padrões de tolerância para aflatoxinas em alimentos para consumo animal: matérias primas e rações. D.O.U., Brasília, DF, 1988. Seção I, p. 21.968.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011**. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. D.O.U., Brasília, DF, 2011. Seção I.
- BUCK, E.L. **Micotoxinas em ração comercial para peixes**. 2005. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, Paraná.
- BURTON, G.R.W; ENGELKIRK, P.G. **Microbiologia para as ciências da saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 426 p.
- CALVET, R. M. et al. Aflatoxinas B1 em ração de camarão cultivados no litoral do Piauí. In: Congresso Latino-Americano de Analistas de Alimentos, 2., Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, 8., Belo Horizonte, 2009. **Anais...** Belo Horizonte. Anais Eletrônico, 2009.
- CAST. Council for Agricultural Science and Technology. Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems, **Task Force Report n °139**, Ames, USA. 2003.
- COLLINS, M.D.; GIBSON, G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **The American Journal Clinical Nutrition**. v. 69, p. 1052-1059, 1999.
- CYRINO, J.E.P. et al. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010. Suplemento Especial.
- DEVEGOWDA, G.; ARVIND, B.; MORTON, M.G. Saccharomyces cerevisiae and mannanoligosaccharides to counteract aflatoxicosis in broilers. In: AUSTRALIAN POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM, 1996. **Proceedings...** v. 8, p. 103-106.
- DUARTE, S.C. et al. Ochratoxin A in feed of food-producing animals: an undesirable mycotoxin with health and performance effects. **Veterinary Microbiology**, v. 154, p. 1-13, 2011.
- EL-NEZAMI, H. et al. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B₁. **Food Chemichal Toxicology**, v. 36, p. 321-326, 1998.
- EL-SAYED, Y.S. et al. Acute toxicity of ochratoxin-A in marine water-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Chemosphere**, v. 75, p. 878–882, 2009.
- ESSA, M.A. et al. Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive enzymes activities of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*, v. 05, p. 143-162, 2010.
- FERREIRA, H. et al. Aflatoxinas: um risco à saúde animal. **Ambiência**, v. 2, p. 113-127, 2006.
- FOLDES, T. et al. Isolation of Bacillus strains from the rhizosphere of cereals and *in-vitro* screening for antagonism against phytopathogenic, food-borne pathogenic and spoilage microorganisms. **Journal Applied Microbiology**, v. 89, p. 840–846, 2000.
- FRISVAD, J.C.; SAMSON, R.A. Filamentous fungi in food and feeds. In: BHATNAGAR, D.; LILLEHOJ, E. B.; ARORA, D. K. **Handbook of applied mycology: foods and feeds**. New York: Mercel Dekker, INC., 1992. v. 3, p. 31-68.
- FULLER, R. Probiotics in man and animal. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365-378, 1989.
- GAO, X. et al. Isolation of Bacillus subtilis: screening for aflatoxins B1, M1, and G1 detoxification. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 957-962, 2011.
- GIMENO, A. **Revision genérica del problema de los hongos y de las micotoxinas en al alimentación animal**. México, 2000. Disponível em: <http://www.micotoxinas.com.br/boletim4.htm>.> Acesso em: 25 dez. 2012.

- GIMENO, A.; MARTINS, M.L. **Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos**. 3. ed. Mexico: Inc. USA, 2011. 127 p.
- GIMENO, A.; MARTINS, M.L. **Mycotoxins and mycotoxicosis in animals and humans**. 2. ed. Mexico: Inc. USA, 2006. 127 p.
- GOPINATH, R. et al. Ultrastructural changes in the hepatopancreas of *Penaeus monodon* Fabricius 1798 given aflatoxin B1 diets. **Aquaculture Research**, v. 43, p. 32–43, 2012.
- HAI, N.N. *Bacillus subtilis* possibly used for aflatoxin control. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON BIOTECHNOLOGY IN AGRICULTURE, 2006, USA. **Proceedings...** Nong Lam University Ho Chi Minh City, 2006. p. 75-77.
- HALVER, J.E. My 50 years in fish nutrition. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 615–622, 2001.
- HASHIMOTO, E.H. et al. Bromatologia e contaminação com fumonisina e aflatoxina em rações utilizadas na piscicultura da região de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, p. 123-132, 2003.
- HASKARD, C.A. et al. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 3086-3091, 2001.
- HERNANDEZ-MENDOZA, A. et al. Screening of *Lactobacillus casei* strains for their ability to bind aflatoxin B₁. **Food Chemical Toxicology**, v. 47, p. 1064-1068, 2009.
- HISANO, H. et al. Digestibilidade aparente de rações contendo levedura íntegra, levedura autolisada e parede celular pela tilápia do Nilo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, p. 281-287, 2008.
- HISANO, H. et al. Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v. 26, p. 171-179, 2004.
- HUSSEIN, H.S.; BRASEL, J.M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v. 167, p. 101–134, 2001.
- ICIDCA. Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados da Cana-de-açúcar. **Manual dos derivados da cana-de-açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço, derivados do melão, outros derivados, resíduos, energia**. Brasília: ABIPTI, 1999. p. 49-301.
- JANTRAROTAI, W.; LOVELL, R.T. Sub chronic toxicity of dietary aflatoxin B1 to channel catfish. **Journal of Aquatic and Animal Health**, v. 2, p. 248–254, 1990.
- JUODEIKIENE, G. et al. Mycotoxin decontamination aspects in food, feed and renewables using fermentation processes. In BARTKIENE et al. **Structure and function of food engineering**. Rijeka: InTech, 2012. p. 171-204.
- KAMGAR, M. et al. Studies on *Bacillus subtilis*, as potential probiotics, on the biochemical parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to challenge infections. **Advanced Studies in Biology**, v. 05, p.37-50, 2013.
- KIRK, P.M., et. al. **Dictionary of the Fungi**. 9th edn. Wallingford, UK: CAB International. 2001.
- KLICH, M.A. *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, p. 713-722, 2007.
- KUBITZA, F. Micotoxinas e seus efeitos sobre os peixes. **Panorama da Aquicultura**, v.20, p.14-23, 2010.
- ŁAZICKA, K.; ORZECOVWSKI, S. The characteristics of the chosen mycotoxins and their toxic influence on the human and animal metabolism. **Natural Science**, v. 2, p. 544-550, 2010.
- MAGAN, N.; ALDRED, D. Why do fungi produce mycotoxins? In: DIJKSTERHUIS, J. (Ed.). **Food mycology - Multifaceted approach to fungi and food**. New York: CRC Press, 2007. p. 121–133.
- MALLMANN, C.A. et al. Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. In: CONFÉRENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2006, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2006. p. 213-224.
- MALLMANN, C.A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e micotoxicoses em suínos**. Santa Maria: Pallotti, 2007. 238 p.
- MARUTA, K. Probióticos e seus benefícios. In: CONFÉRENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1993, p. 203-219.
- MURJANI, G. **Chronic Aflatoxicosis to Fish and Its Relevance to Human Health**. Central Institute of Fresh Water Aquaculture. India, 2003.
- OSTRY, V. Alternaria mycotoxins: An overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. **World Mycotoxin Journal**, v.1, p. 175-188, 2008.

- PEIRANO, M.S. **Uso potencial de *Saccharomyces cerevisiae* como aditivo alimentario para la decontaminación biológica de micotoxinas**. 2008. Trabajo final para optar al título de Microbióloga - Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Rio Cuarto, 2008.
- PERRY, F.G. Biotechnology in animal feeds and feeding, an overview. In: WALLACE, R. J.; CHES-SON, A. **Biotechnology in animal feeds and feeding**. New York: VCH, 1995. p. 1-15.
- PINHEIRO, R.E.E. **Eficiência antimicotoxina de composto à base de leveduras secas de cervejaria e de probióticos comerciais para adsorção *in vitro* de aflatoxina B₁**. 2013. 52f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí.
- PITT, J.I. Toxigenic fungi: which are important. **Medical Mycology**, v. 38, p. 17-22, 2000. Supplement 1.
- PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and food spoilage**. 3 ed. New York: Springer, 2009.
- PIZZOLITTO R.P. et al. Binding of aflatoxin b₁ to lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae in vitro*: a useful model to determine the most efficient microorganism. In: GUEVARA-GONZALEZ, R. G. **Aflatoxins - Biochemistry and molecular biology**. Argentina: InTech, 2011, p. 323 – 346.
- POZZI, C.R. **Efeitos da administração oral prolongada de fumonisina B₁ e aflatoxina B₁ em ratos (*Rattus norvegicus*)**. 2000. 178f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- PRADO, G. et al. Efeito da irradiação gama (60Co) na frequência fúngica de amendoim *in natura* em função do tempo de prateleira. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 930–936, 2006.
- RAHAIE, S. et al. Evaluation of aflatoxin decontaminating by two strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in pistachio nuts. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 1647–1653. 2012.
- RAIDA, M.K. et al. Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B.licheniformis* (BIO-PLUS2B). **Journal of Fish Diseases**, v. 26, p. 495 – 498, 2003.
- RAJEEV BHAT, R.R.V. et al. Mycotoxins in food and feed – Present status and future concerns. **Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 51-81, 2010.
- REDDY, K.R.N. et al. Potential of botanicals and bio-control agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. **Food Control**, v. 20, p. 173– 178, 2009.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; SABINO, M. Pesquisa em micotoxinas no Brasil: a última década em foco. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 33, p. 1-11, 2002.
- ROYES, J.B.; YANONG, R.P.E. **Moulds in fish feeds and aflatoxicosis**. University of Florida, IFAS Extension, 2005.
- RUPOLLO, G. et al. Efeito da umidade e do período de armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 30, p. 118-125, 2006.
- SAENZ DE RODRIGUEZ, M.A. et al. Effect of dietary administration of probiotics on growth and intestine functionality of juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858). **Aquaculture Nutrition**, v. 15, p. 177-185, 2009.
- SANTIN, E. et al. Evaluation of the efficiency of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. **International Journal Poultry Sciences**, v. 2, p. 241–244, 2003.
- SHAHIN, A.A.M. Removal of aflatoxin B₁ from contaminated liquid media by dairy lactic acid bacteria. **International Journal of Agriculture e Biology**, v. 9, p. 71-75, 2007.
- SUCHITRA, V.; BABU, P. Aflatoxin B₁ induced alterations in the stability of the lysosomal membrane in *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852). **Aquaculture Research**, v. 43, p. 1170–1175, 2012.
- SWEENEY, M.J.; DOBSON, A.D.W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, v. 43, p. 141-158, 1998.
- TACON, A.G.J. Nutritional fish pathology. morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. Rome: **FAO Fish Technical Paper**, 1992. 75p.
- TAPIA-SALAZAR, M. et al. Uso de sequestrantes para disminuir la toxicidad de micotoxinas en alimentos

- para acuicultura. **X Avances en Nutrición Acu-ícola**. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, San Nicolás de los Garza, México. p. 514-546. 2010.
- TRISTAN, T.Q. **Dinâmica toxicológica de aflatoxinas em alimentos de origen animal em Aguascalientes y Querétaro**. Santiago de Querétaro: Consejo Nacional de Ciência y Tecnología; Edición Comunicación del Centro, 2002.
- TUAN, N.A. et al. Growth and hepatic lesions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B1. **Aquaculture**, v. 212, p. 311-319, 2002.
- TURBIC, A. et al. Selective *in vitro* binding of dietary mutagens, individually or in combination, by lactic acid bacteria. **Food Additives Contaminants**, v. 19, p. 144-152. 2002.
- VIEIRA, V.L.P. et al. Alterações metabólicas e hematológicas em jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com rações contendo aflatoxinas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, p. 49-55, 2006.
- WANG, J.-S. AND GROOPMAN, J.D. DNA damage by mycotoxins. **Mutation Research**. v. 424, p. 167–181. 1999.
- WHITLOW L.W., HAGLER W.M. Mycotoxins in feeds. **Feedstuffs**. v. 74, p. 1-10. 2002.
- WOGAN, G.N. Aflatoxins as risk factors for hepatocellular carcinoma in humans. **Cancer Research**. v. 52, p. 211–218. 1992.