

# INFLUENCIA DE AFLATOXINA B<sub>1</sub> SOBRE O CRESCIMENTO DE RATOS SUBMETIDOS A DIFERENTES CONDIÇÕES NUTRICIONAIS

*María Auxiliadora Gonçalves Lapa<sup>1</sup>, Sérgio Miguel Zucas<sup>2</sup>,  
Francisca Martins Bion<sup>1</sup>, Sylvia Ramos de Albuquerque Barros<sup>3</sup>,  
Eunice Salzano Lago<sup>1</sup> e Ramanita Mayer Varela<sup>1</sup>*

Universidade Federal de Pernambuco  
Recife, Pernambuco, Brasil

## RESUMO

O efeito da adição da aflatoxina B<sub>1</sub> foi estudado em 48 ratos *Sprague Dawley* machos, desmamados aos 21 dias de idade. Os animais constantes do grupo experimental receberam dietas: aptéica, Básica Regional do Nordeste Brasileiro (DBR, com 9.07% de proteínas) e à base de caseína comercial a 10 e 20%, acrescidas de 5 mg da aflatoxina B<sub>1</sub>/kg de ração. Os animais do grupo controle receberam dietas idênticas às do grupo experimental, todavia, sem adição da referida toxina. O peso corporal, a ingestão alimentar, protéica e da AFB<sub>1</sub> foram registradas visando detectar possíveis alterações orgânicas.

As alterações observadas, segundo o teor protéico e a qualidade das dietas utilizadas, foram agravadas pela ingestão da aflatoxina B<sub>1</sub>, evidenciando-se alterações significativas nos parâmetros estudados, sobretudo nos animais submetidos à depleção protéica e naqueles alimentados com dieta DBR e caseína comercial a 10%, em relação aos respectivos controles.

Os grupos experimentais apresentaram alterações significativas nos parâmetros estudados, sobretudo os animais submetidos à depleção protéica, e os mantidos com a dieta DBR e 10% de caseína comercial, em relação aos respectivos controles.

---

Manuscrito modificado recebido: 14-6-88.

- 1 Prof. Adjunto do Depto. de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, Recife - CEP. 50. 000, Pernambuco, Brasil.
- 2 Prof. Titular do Depto de Educação Física da Universidade do São Paulo, Brasil.
- 3 Prof. Adjunto do Depto. de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco.

## INTRODUÇÃO

Estudos realizados por diversos pesquisadores indicam que as aflatoxinas, sobretudo a B<sub>1</sub>, produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus* vêm sendo detectadas em uma grande variedade de alimentos consumidos pelo homem, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (1-15), em decorrência das condições climáticas favoráveis a proliferação do referido fungo, bem como do armazenamento e manuseio técnico inadequados.

Por outro lado, as alterações metabólicas produzidas pela ingestão de alimentos contaminados pela aflatoxina B<sub>1</sub>, vêm sendo constatadas em diversas regiões em via de desenvolvimento.

O presente trabalho serviu como ponto de partida para tentar-se definir, em ratos, as interrelações: teor protéico da dieta, ingestão de uma dose sub-letal da aflatoxina B<sub>1</sub> e possíveis repercussões sobre o organismo.

Para viabilizar esta proposição foram utilizadas dietas aprotéica, à base de caseína e a dieta básica do Nordeste brasileiro, considerado uma das áreas problemáticas mundiais, inclusive do ponto de vista nutricional, situação esta agravada pelo clima quente e úmido, favorável à proliferação desta micotoxina.

## MATERIAL E METODOS

Foram utilizados 48 ratos machos *Sprague Dawley*, pesando de 42 a 50 g, procedentes do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

Tanto os animais do grupo controle, quanto os do grupo experimental foram desmamados aos 21 dias de idade e distribuídos em 8 grupos de 6 animais, a fim de serem observados durante o período de 21 dias de experimento.

Os animais do grupo controle passaram a receber as seguintes dietas: aprotéica, dieta básica regional (DBR - 9.07% de proteína), à base de 10 e 20% de caseína comercial (Tabela 1). Os grupos experimentais receberam dietas idênticas às do grupo controle, porém acrescidas de 5 mg da aflatoxina B<sub>1</sub>/kg da ração.

A dieta básica regional (DBR) foi preparada segundo Coutinho (2), a partir de inquéritos alimentares realizados nas áreas Norte e Sul da Zona da Mata do Estado de Pernambuco, sendo constituída de uma associação alimentar à base de feijão mulatinho, farinha de mandioca, charque e milho (fubá), numa tentativa de reproduzir, experimentalmente, condições alimentares da população dessa Região.

As rações foram balanceadas com sais minerais e vitaminas hidro e lipossolúveis segundo Tagle e Donoso (16), enquanto a teor de fibra correspondem às recomendações do National Research Council.

Ao término do período experimental foi tomado o peso corporal dos animais e feito o registro da ingestão alimentar, protéica e da aflatoxina B<sub>1</sub>.

A diferença dos valores encontrados foi determinada pelo teste "t" de Student, considerando-se como limite mínimo uma probabilidade inferior a 5%.

TABELA 1

## INGREDIENTES UTILIZADOS NAS DIETAS EXPERIMENTAIS

| Constituintes            | Dieta<br>aprotéica | Básica<br>regional | Caseína<br>(10 <sup>o</sup> /o) | Caseína<br>(20 <sup>o</sup> /o) |
|--------------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Caseína                  | —                  | —                  | 13.00                           | 24.50                           |
| Feijão mulatinho         | —                  | 18.69              | —                               | —                               |
| Farinha de mandioca      | —                  | 53.54              | —                               | —                               |
| Charque                  | —                  | 8.08               | —                               | —                               |
| Milho (fubá)             | —                  | 11.11              | —                               | —                               |
| Oleo de soja             | 8.00               | 6.56               | 9.00                            | 9.00                            |
| Fibra                    | 2.00               | —                  | 2.00                            | 2.00                            |
| Vitaminas hidrossolúveis | 1.00               | —                  | 1.00                            | 1.00                            |
| Vitaminas lipossolúveis  | 1.00               | —                  | 1.00                            | 1.00                            |
| Sais minerais            | 4.00               | 2.02               | 4.00                            | 4.00                            |
| Glicose                  | 14.00              | —                  | —                               | —                               |
| Amido de milho           | 69.00              | —                  | 70.00                           | 58.50                           |
| Total                    | 100.00             | 100.00             | 100.00                          | 100.00                          |

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando a importância do estado nutricional sobre a resposta às substâncias tóxicas ingeridas, procurou-se averiguar a repercussão de uma dose sub-letal da AFB<sub>1</sub>, em ratos submetidos a diferentes condições nutricionais.

Analisando os resultados da Tabela 2, constata-se que a referida toxina afetou significativamente o ganho em peso corporal, a ingestão alimentar e consequentemente, a ingestão protéica dos grupos experimentais.

E interessante o confronto entre a ingestão da AFB<sub>1</sub> e a ração consumida. O grupo submetido à depleção protéica, embora ingerisse menor quantidade da AFB<sub>1</sub> foi o mais atingido em todos os parâmetros estudados. Quanto aos animais mantidos com as dietas DBR e caseína a 10<sup>o</sup>/o, ingeriram praticamente o mesmo teor de aflatoxina B<sub>1</sub>, apresentando uma redução no consumo alimentar de 34<sup>o</sup>/o e uma redução protéica em torno de 30 e 37<sup>o</sup>/o respectivamente, em relação aos respectivos grupos controles. O grupo mantido com 20<sup>o</sup>/o de caseína, embora tivesse ingerido maior teor da AFB<sub>1</sub> apresentou menor redução do consumo alimentar e protéico, 15 e 12<sup>o</sup>/o respectivamente (Tabela 2).

Quanto ao peso corporal observa-se que os grupos experimentais sofreram reduções significativas, em relação aos respectivos controles e, mais uma vez, os animais mantidos com as dietas DBR e caseína a 10<sup>o</sup>/o, apresentaram reduções aproximadas, 43 e 47<sup>o</sup>/o respectivamente, sendo o menos atingido o grupo mantido com 20<sup>o</sup>/o de caseína, cuja redução foi de 20<sup>o</sup>/o (Tabela 2).

TABELA 2

TEOR DE AFLATOXINA B<sub>1</sub> INGERIDA E SEU EFEITO SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR, PROTEICO E GANHO DE PESO EM ANIMAIS SUBMETIDOS A DIFERENTES CONDIÇÕES NUTRICIONAIS

| Ingestão                         | Consumo           |                  |                       | Ganho em peso (g) |
|----------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|-------------------|
|                                  | Alimentar (g)     | Protéico (g)     | AFB <sub>1</sub> (mg) |                   |
| Período experimental             |                   |                  |                       |                   |
| Grupos                           | 21 d              | 21 d             | 21 d                  | 21 d              |
| Aprotéica                        | 93.02<br>±5.49    | —<br>—           | —<br>—                | -15.15<br>±1.63   |
| Aprotéica + AFB <sub>1</sub>     | 50.66*<br>±5.36   | —<br>—           | 0.26<br>± 0.03        | -14.08<br>±2.76   |
| DBR                              | 173.64<br>±5.20   | 15.87<br>± 0.46  | —<br>—                | 46.53<br>±3.34    |
| DBR + AFB <sub>1</sub>           | 115.37*<br>±5.18  | 10.99*<br>± 0.89 | 0.58<br>± 0.02        | 26.62*<br>±3.67   |
| Caseína 100/o                    | 178.65<br>±6.16   | 17.87<br>± 0.63  | —<br>± —              | 50.92<br>±3.03    |
| Caseína 100/o + AFB <sub>1</sub> | 111.88*<br>±8.94  | 11.21*<br>± 0.85 | 0.56<br>± 0.06        | 27.05*<br>±0.92   |
| Caseína 200/o                    | 190.96<br>±7.06   | 38.19<br>± 1.41  | —<br>—                | 124.92<br>±6.80   |
| Caseína 200/o + AFB <sub>1</sub> | 161.98*<br>±19.80 | 32.68*<br>± 3.61 | 0.79<br>± 0.09        | 97.80*<br>±12.70  |

\*  $p < 0.05$  diferença significativa em relação ao grupo sem aflatoxina B<sub>1</sub>.

De um modo geral, é conhecida a influência do equilíbrio da ração sobre o efeito das substâncias tóxicas e as aflatoxinas não fogem a esta regra. Este fato tem sido constatado em vários animais (17-23).

Alguns autores evidenciaram em animais recebendo, por via oral, diferentes teores de AFB<sub>1</sub>, anorexia, alteração do balanço nitrogenado, do coeficiente respiratório e do consumo do alimento, bem como perda considerável do peso corporal e lesões hepáticas características da aflatoxicose (23-28), coincidindo estas informações com os achados do presente trabalho.

Estes efeitos não foram atribuídos, por Fehr, Delage e Richir (26) ao sabor ocasionado pela toxina, porquanto no início do experimento a

quantidade da ração ingerida foi satisfatória. Estas observações estão em discordância com o presente trabalho, no qual se constatou em relação aos grupos controles, diminuição significativa na ingestão alimentar nos grupos experimentais, já no início do experimento, sendo, entretanto, menos afetados os animais mantidos com 20<sup>o</sup>/o de caseína. Estas evidências estão coerentes com as observações de Ferrando e Henry (29) quando afirmam que teores mais elevados de proteína na dieta constituem um dos fatores que protegem o animal da aflatoxicose, supondo-se assim a instalação deste quadro.

Os resultados sugerem que, independente da adição da AFB<sub>1</sub> às dietas, o teor de 20<sup>o</sup>/o de caseína proporcionou resultados superiores aos obtidos com as dietas DBR e à base de caseína a 10<sup>o</sup>/o. As alterações observadas, segundo o teor protéico e a qualidade das dietas utilizadas, foram agravadas pela ingestão da AFB<sub>1</sub>, a qual ocasionou redução do consumo alimentar e, conseqüentemente, do teor protéico, bem como do peso corporal, sobretudo nos grupos que receberam as dietas aprotéica, DBR e com caseína a 10<sup>o</sup>/o.

Os achados deste e de inúmeros outros trabalhos experimentais, especialmente os estudos sob o enfoque epidemiológico, alertando para os problemas decorrentes do crescente aumento do consumo de alimentos contaminados pela AFB<sub>1</sub> e similares, impoem a necessidade óbvia de outras abordagens sobre o tema, como contribuição a um maior conhecimento o enriquecimento da literatura. Esta necessidade torna-se ainda mais compreensível se considerarmos as implicações decorrentes de outros fatores, sobretudo nas regiões de características semelhantes ao Nordeste brasileiro, tais como:

- Vastos contingentes populacionais acometidos de desnutrição protéico-calórica;
- Técnicas de armazenamento e manuseio de alimentos incipientes, semi-artesanais;
- Clima quente e úmido favorável à proliferação das micotoxinas.

#### SUMMARY

##### INFLUENCE OF AFLATOXIN B<sub>1</sub> ON GROWTH OF RATS SUBJECTED TO DIFFERENT NUTRITIONAL CONDITIONS

The effect of the addition of aflatoxin B<sub>1</sub> was studied in 48 male, Sprague-Dawley rats weaned at 21 days of age. The animals of the experimental group received one of the following diets to which aflatoxin B<sub>1</sub> was added (5 mg/kg ration), a protein-free diet, the regional basic diet of Northeast Brazil (RBD) containing 9.07<sup>o</sup>/o protein, and commercial casein diets (at 10 and 20<sup>o</sup>/o). The control groups were fed the same diets without aflatoxin B<sub>1</sub>. To detect possible body alterations, the body weight and food intake, as well as protein and aflatoxin B<sub>1</sub> intakes were recorded. Significant alterations were detected in the experimental groups, especially in the protein-depleted animals, and in those fed the RBD and 10<sup>o</sup>/o commercial casein diets, when compared to their controls.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bosenberg, H. Zür bedeutungder aflatoxine. *Naturwissenschaften*, **56**(7): 350-352, 1969.
2. Coutinho, E. de M. **Relações Hospedeiro-Parasito na Esquistossomose Mansonica, em Função da Dieta Básica Regional (Estudo Epidemiológico e Anátomo-Patológico)**. Tese de Livre-Docencia. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição. Recife, 1976, 109 p.
3. Davidson, C. S. Nutrition, geography, and liver diseases. *Am. J. Clin. Nutr.*, **23**(4): 427-436, 1970.
4. Davidson, C. S. Intracellular aflatoxin B<sub>1</sub>-Binding proteins in the rat liver. *Biochem. Internat.*, **14**(2): 297-302, 1987.
5. Edds, G. T. Acute aflatoxicosis: A Review. *J. Amer. Veter. Med. Assn.*, **162**(4): 304-309, 1973.
6. Emani, A., M. Suzangar & R. C. Barnett. La contamination des graines du cotonnier et des tourteaux de ces grains par l'aflatoxine. *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation*, **31**: 531-537, 1977.
7. Lafont, P. Mycotoxines et alimentation. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, **5**(2): 67-69, 1970.
8. Lafont, P. & J. Lafont. Contamination de produits céréallers et d'aliments du bétail par l'aflatoxine. *Food Cosmet. Toxicol.*, **8**: 403-408, 1970.
9. Madhavan, T. V. & C. Gopalan. The effect of dietary protein on carcinogenesis of aflatoxin. *Arch. Pathol.*, **85**(2): 133-137, 1968.
10. Moulé, Y. Mécanisme d'action des mycotoxines. *Ann. Nutr. et Alimentation*, **31**: 803-810, 1977.
11. Sabino, M. Variações de níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **40**(2): 153-158, 1980.
12. Sabino, M., E. I. Inomata & L. C. A. Lamardo. Variações dos níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> em pasta de amendoim e paçoca consumidas no Estado de São Paulo. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **42**(1-2): 39-44, 1982.
13. Sandoval, T.A.H., A.L.J. Carrer, A.J. Floreschapa & P.E. Jardel. Aislamiento de cepas de *Aspergillus sp.* productoras de aflatoxinas en alimentos de consumo humano en México. *Rev. Investig. Salud Publ.*, **36**: 161-166, 1976.
14. Schlatter, CH. Zur karzinogenitaet der aflatoxine. En: **Gesundheitsgefahrdung Durch Aflatoxine**. Zurich, 1978. Universitat Zurich, Institut fur Toxikologie der ETH, 1979. p. 51-64.
15. Sgarbieri, V. C. Aflatoxinas: Importancia em tecnologia de alimentos e em nutrição. *Bol. do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnol. de Alim.*, **18**: 24-82, 1969.
16. Tagle, M. A. & G. Donoso. Net protein utilization determinated in short and long-term experiments with rats. *J. Nutr.*, **82**(2): 173-178, 1965.
17. Albert, M. E. & C. S. Davidson. Mycotoxins: A possible cause of primary carcinoma of the liver. *Am. J. Clin. Nutr.*, **46**(3): 325-329, 1969.
18. Butler, W. H. Acute toxicity of aflatoxin B<sub>1</sub> in rats. *Brit. J. Cancer*, **18**(4): 756-762, 1964.
19. Butler, W. H. & J. M. Barnes. Carcinogenic action of groundnut meal containing aflatoxin in rats. *Food Cosmet. Toxicol.*, **6**: 135-141, 1968.
20. Clifford, J. I. & K. R. Rees. The action of aflatoxin B<sub>1</sub> on the rat liver. *Biochem. J.*, **102**(1): 65-75, 1965.
21. Hill, Charles H. Effects of aflatoxin in the liver. *Nutr. Revs.*, **27**(4): 121-123, 1969.

22. Madhavan, T. V. & C. Gopalan. Effect of dietary protein on aflatoxin liver injury in weanling rats. **Arch. Pathol.**, **80**: 123-126, 1965.
23. Rogers, A.E. & P.M. Newberne. Aflatoxin B<sub>1</sub> carcinogenesis in lipoprotein deficient rats. **Cancer Research**, **29**(11): 1965-1972, 1969.
24. DeLuca, H. F. Diet and aflatoxin toxicity. **Nutr. Revs.**, **29**(8): 181-182, 1971.
25. Dirr, H. W. & J. C. Schabort. Aflatoxin B<sub>1</sub> transport in rat blood plasma. Binding to albumin *in vivo* and *in vitro* and spectrofluorimetric studies into the nature of the interaction. **Biochem. Biophys Acta**, **881**: 383-390, 1986.
26. Fehr, P. M., J. Delage & C. Richir. Répercussions de l'ingestion d'aflatoxine sur le lapin en croissance. **Cahiers de Nutrition et de Diététique**, **5**(2): 62-64, 1970.
27. Frape, D. L. The effect of dietary fibre sources on aflatoxicosis in the weanling male rat. **Brit. J. Nutr.**, **46**(2): 315-326, 1981.
28. Frayssinet, C. & C. Lafarge. Action de l'aflatoxine sur la cellule hépatique du rat. **Cahiers de Nutrition et de Diététique**, **5**(2): 67-69, 1970.
29. Ferrando, R. & N. Henry. Déséquilibre de la ration et aflatoxicose. **Annales de la Nutrition et de l'Alimentation**, **31**: 701-710, 1977.