

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Veterinária

Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

Mariana Kelly Luiz Reis

**ANÁLISE BROMATOLÓGICA E PESQUISA DE MICOTOXINAS EM
ALIMENTOS NÃO CONVENCIONAIS PARA CÃES ADULTOS,
COMERCIALIZADOS EM BELO HORIZONTE – MG**

Belo Horizonte

2021

Mariana Kelly Luiz Reis

**ANÁLISE BROMATOLÓGICA E PESQUISA DE MICOTOXINAS EM
ALIMENTOS NÃO CONVENCIONAIS PARA CÃES ADULTOS,
COMERCIALIZADOS EM BELO HORIZONTE – MG**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre na área de concentração de Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marília Martins Melo.

Belo Horizonte

2021

R375a Reis, Mariana Kelly Luiz ,1993 -
Análise bromatológica e pesquisa de micotoxinas em alimentos não convencionais para cães adultos, comercializados em Belo Horizonte - MG/ Mariana Kelly Luiz Reis. -2021.

61 f.:il.

Orientadora: Marília Martins Melo

Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do Título de Mestre.

Área de concentração: Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Bibliografia: f.53 a 61.

I. Cão – Alimentação e rações - Teses - 2. Microbiologia - Teses – 3. Nutrição animal – Teses - I. Melo, Marília Martins – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária- III. Título.

CDD – 636 085

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

MARIANA KELLY LUIZ REIS

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina e Cirurgia Veterinária.

Aprovado(a) em 28 de maio de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Marília Martins Melo - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Walter Motta Ferreira

Dr.(a). Kelly Moura Keller

Dr.(a). Ana Flávia Machado Botelho



Documento assinado eletronicamente por **Marília Martins Melo, Professora do Magistério Superior**, em 29/05/2021, às 20:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Ana Flávia Machado Botelho, Usuário Externo**, em 31/05/2021, às 19:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Walter Motta Ferreira, Membro de comissão**, em 01/06/2021, às 11:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Kelly Moura Keller, Professora do Magistério Superior**, em 01/06/2021, às 16:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0726530** e o código CRC **0DA46C29**.

Dedico esse trabalho à minha amada mãe,

Anilce Silva.

AGRADECIMENTOS

Como não poderia deixar de ser, agradeço primeiramente à Deus, por me permitir ter saúde e forças para conquistar meus objetivos.

Gostaria de agradecer à minha família que sempre acreditou em mim, mesmo quando eu mesma não acreditava, e que me deu tanta força durante toda a minha jornada. Obrigada mãe Anilce Silva, irmã Aline Cristine Luiz Rosa e pai Jairo Raimundo dos Reis, e à minha avó Erenita Pereira da Silva e tia Carmelita das Dores Silva (*in memoriam*). Obrigada também à minha amiga Tamiris Roberta Calixto, por me dar forças, me aguentar durante minhas crises de ansiedade e sempre torcer por mim. Agradeço também às minhas amigas Brenda Silva Rosa da Luz e Sandra Matos Rodrigues por todo apoio. Amo muito vocês.

Gostaria de agradecer imensamente à minha orientadora Marília Martins Melo, por tanta paciência, dedicação, por me ensinar tanto e me fazer apaixonar mais ainda pelo mundo acadêmico. Obrigada por ter me aceitado como sua orientada de braços abertos e ter me ajudado tanto. Quero ser pelo menos metade do exemplo de profissional que a senhora é.

Meu agradecimento à CAPES, pela concessão da bolsa que permitiu que eu me dedicasse ao máximo durante esse período.

Obrigada ao Dr. Vitor Márcio Ribeiro, meu eterno professor, de quem tenho o prazer de fazer parte de sua equipe e contar com todo apoio desde o início da minha jornada, e por me inspirar tanto todos os dias a ser uma profissional melhor. Obrigada também ao Dr. Marthin Raboch Lempek por ter me apresentado à professora e ter acreditado na minha capacidade.

Agradeço também à equipe do LAMICO: Professora Kelly Moura Keller, à técnica Dra. Gabriela Lago Biscoto e à Doutoranda Mariana Paiva Rodrigues, pela imensa ajuda com a pesquisa de micotoxinas.

Agradeço à Liliana Kwong Kwai Ling, doutoranda em Zootecnia, pela dedicação e disposição em me ajudar tanto com as análises bromatológicas, além do suporte do Prof. Walter Motta Ferreira, sempre disponível quando precisávamos, com tamanha boa vontade, esclarecendo nossas dúvidas ao longo do percurso.

Agradeço também aos meus colegas de equipe, Laís Botelho e Luís Filipe Castro pelo suporte durante meus dias com a rotina mais louca. Não teria conseguido sem a ajuda de vocês.

E por fim, mas não menos importante, agradeço também pela oportunidade de conviver com tantos animais diariamente. Eles são minha força para seguir em frente e buscar ser cada dia melhor.

“Se a aparência e a essência das coisas coincidissem, a ciência seria desnecessária”

(Karl Marx).

RESUMO

A alimentação não convencional para cães, comumente denominada alimentação natural, tem ganhado o mercado com a promessa de oferecer um alimento mais saudável, natural e livre dos aditivos utilizados nas indústrias. Porém, os estudos são escassos e não corroboram com essas especulações. Foram adquiridas 44 amostras de 15 empresas que comercializavam seus produtos na cidade de Belo Horizonte (MG), com variados ingredientes. Foram realizadas observações sobre as características dos produtos, além da análise bromatológica em 15 amostras, sendo uma de cada empresa, para quantificação do teor de proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, cálcio e fósforo, pesquisa bacteriológica em uma amostra e micológica em 12 amostras, além da pesquisa das micotoxinas aflatoxinas, fumonisinas, deoxinivalenol, T2, ocratoxina e zearalenona em 44 amostras. Como principais resultados, foi observado que somente seis empresas possuíam registro no MAPA. Sobre a composição do produto, somente 60% das empresas informaram em rótulo. Constatou-se inadequação em amostras de duas empresas que forneceram os alimentos com peso inferior ao informado na embalagem, chegando a 25% do peso descrito em forma de água livre. Já na análise bromatológica, somente 40% das empresas suplementaram os alimentos com alguma fonte de vitaminas e/ou minerais, e apenas uma apresentou relação Ca:P entre 1:1 e 2:1, conforme recomendado para a espécie. Com exceção de uma amostra, todas apresentaram teor de proteína bruta acima de 30% na matéria seca, contendo cortes cárneos padrão de consumo humano. Sobre a pesquisa microbiológica, foram isoladas as bactérias *Enterobacter cloacae* e *Buttiauxella* sp e também foram isolados fungos micotoxigênicos em 58% das amostras analisadas. Já na pesquisa de micotoxinas, foi encontrado um total de 27% das amostras contaminadas, sendo 23% com T-2 e 4% com aflatoxinas. Diante do apresentado, conclui-se que os alimentos não convencionais analisados nesse estudo, apresentaram risco micotoxicológico e poderiam provocar deficiências nutricionais.

Palavras chaves: alimentação natural; seguridade alimentar; microbiologia; nutrição de cães; toxicologia.

ABSTRACT

Unconventional dog food, commonly referred to as natural dog food, has been gaining market share with the promise of offering a healthier, natural, and additive-free dog food. However, studies are scarce and do not support these speculations. A total of 44 samples were acquired from 15 companies that commercialized their products in the city of Belo Horizonte (MG), with varied ingredients. Observations on the characteristics of the products were made, in parallel with bromatological analysis in 15 samples, one from each company, to quantify the content of crude protein, ethereal extract, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, calcium and phosphorus, bacteriological research in one sample and mycological research in 12 samples. In addition to research of the mycotoxins aflatoxins, fumonisins, deoxynivalenol, T2, ochratoxin and zearalenone in 44 samples. As main results, it was observed that only six companies were registered in MAPA. About the composition of the product, only 60% of the companies informed on the label. Inadequacy was found in samples from two companies that supplied the food with weight lower than that informed on the package, as much as 25% of the described weight was free water. As for the bromatological analysis, only 40% of the companies supplemented the food with some source of vitamins and/or minerals, and only one presented a Ca:P ratio between 1:1 and 2:1, as recommended for the species. With the exception of one sample, all had crude protein content above 30% in dry matter, containing standard cuts of meat for human consumption. About the microbiological research, *Enterobacter cloacae* and *Buttiauxella* sp bacteria were isolated, and mycotoxigenic fungi were also isolated in 58% of the analyzed samples. In mycotoxin research, 27% of the samples were found to be contaminated, 23% with T-2 and 4% with aflatoxins. In view of the presented, it is concluded that the unconventional foods analyzed in this study presented a mycotoxicological risk and could cause nutritional deficiencies.

Keywords: Natural food; Food security; Microbiology; Dog nutrition; Toxicology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura química dos seis tipos de aflatoxinas	21
Figura 2	Fígado de um cão labrador intoxicado experimentalmente por aflatoxina	22
Figura 3	Ausência de coagulação 8 horas após necropsia de um cão intoxicado experimentalmente com aflatoxina	22
Figura 4	Estrutura química das fumonisinas FB ₁ , FB ₂ , FB ₃ , FB ₄	23
Figura 5	Estrutura química da zearalenona	24
Figura 6	Estrutura química da ocratoxina	24
Figura 7	Estrutura química da micotoxina T2	25
Figura 8	Estrutura química da micotoxina DON	26
Figura 9	Aspecto macroscópico da amostra AN	35
Figura 10	Gráfico com o teor (%) de umidade das amostras de alimentos não convencionais para cães	37
Figura 11	Gráfico demonstrativo do teor de proteína bruta na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães	38
Figura 12	Gráfico demonstrativo do teor de extrato etéreo na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães	40
Figura 13	Gráfico demonstrativo do teor de FDN na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães	42
Figura 14	Gráfico demonstrativo do teor de FDA na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães	42
Figura 15	Gráfico demonstrativo do teor de hemicelulose na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães	43
Figura 16	Gráfico demonstrativo do teor de matéria mineral na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães	44
Figura 17	Gráfico demonstrativo de valores de cálcio e fósforo das amostras de alimentos não convencionais para cães	45
Figura 18	Gráfico demonstrativo da relação cálcio:fósforo das amostras de alimentos não convencionais para cães	47

Figura 19	Frequência de isolamento, em porcentagem, dos gêneros fúngicos isolados das amostras de alimentos não convencionais para cães	48
Figura 20	Gráfico com o percentual de amostras de alimentos não convencionais para cães que foram pesquisadas micotoxinas	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Limites de detecção (LoD) e quantificação (LoQ) em ppb para aflatoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas, ocratoxina A, T-2 e zearalenona	32
Tabela 2	Amostras de alimentos não convencionais para cães positivas para T-2 e sua composição	50
Tabela 3	Amostras de alimentos não convencionais para cães positivas para AFLA e sua composição	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AFLA	Aflatoxinas
A.O.A.C.	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
Ca	Cálcio
DON	Deoxinivalenol
DRCB	Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Agar
EE	Extrato Etéreo
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
EV UFMG	Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FDT	Fibra Dietética Total
FEDIAF	Federação Europeia da Indústria de Alimentos para Animais de Estimação
FUMO	Fumonisinias
Kg	Quilograma
LAMICO	Laboratório de Micotoxinas da UFMG
LoD	Limites de Detecção
LoQ	Limites de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MCC	Ágar MacConkey
mm	Milímetros
MM	Matéria Mineral
MN	Matéria Natural
MS	Matéria Seca
nm	Nanômetros
OTA	Ocratoxina A
P	Fósforo
PB	Proteína Bruta
T-2	Toxina T-2
ZEA	Zearalenona

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Geral	17
2.2 Específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Alimentos não convencionais para cães	18
3.2 Micotoxinas	20
3.2.1 Aflatoxinas	21
3.2.2 Fumonisinias	23
3.2.3 Zearalenona	23
3.2.4 Ocratoxinas	24
3.2.5 T-2	25
3.2.6 Deoxinivalenol	26
3.2 Micotoxinas em <i>pet food</i>	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 Local	29
4.2 Amostras	29
4.3 Análise bromatológica	30
4.4 Pesquisa microbiológica	31
4.4.1 Pesquisa bacteriológica	31
4.4.2 Pesquisa micológica	31
4.5 Pesquisa de micotoxinas	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Características das amostras	34
5.1.1 Empresas registradas no MAPA	34
5.1.2 Apresentação do produto	34
5.1.2.1 Características dos produtos	34
5.1.2.2 Custos	35
5.1.2.3 Disponibilidade de cardápios	35
5.1.2.4 Informação sobre composição	35
5.1.2.5 Níveis de garantia	36
5.2 Análise bromatológica	36

5.2.1 Umidade	36
5.2.2 Proteína bruta	38
5.2.3 Extrato etéreo	39
5.2.4 Fibras	41
5.2.5 Matéria mineral	44
5.2.5.1 Cálcio e fósforo	45
5.3 Pesquisa microbiológica	48
5.3.1 Pesquisa micológica	48
5.3.2 Pesquisa bacteriológica	49
5.4 Micotoxinas	49
6 CONCLUSÕES	53
7 PERSPECTIVAS	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos não convencionais, também chamados de “alimentos naturais”, estão ganhando cada vez mais adeptos no mercado *pet food*, a nível mundial (Becker *et al.*, 2012; Connolly *et al.*, 2014). O foco mercadológico é a não adição de conservantes artificiais, inclusão de matérias primas utilizadas para alimentação humana, entre outros. Porém, ainda não há comprovação científica de tais características gerem benefícios. (Oliveira *et al.*, 2014).

Pelo aumento da demanda por uma alimentação mais saudável e diferenciada para os *pets*, oriundo em grande parte da humanização dos mesmos, algumas empresas iniciaram a comercialização destes produtos, a fim de atender à exigência do mercado. Porém, devido aos impostos e demais burocracias para tornar a empresa legalizada, como ter um responsável técnico, alguns optam por permanecer com as atividades clandestinamente, e muitas vezes produzem alimentos sem orientação de um profissional capacitado, como um veterinário ou zootecnista.

Os riscos em adquirir produtos de empresas clandestinas são diversos. Podem ser riscos nutricionais, não atendendo as necessidades mínimas previstas para a espécie (Debraekeleer *et al.*, 2010), riscos sanitários, visto que há chances de não haver um profissional capacitado para fiscalizar as boas práticas de fabricação dos produtos, além dos riscos da presença de contaminantes e substâncias tóxicas, oriundos da matéria-prima adquirida ou do processo de produção e estocagem (Van Bree *et al.*, 2018; Pedrinelli *et al.*, 2019).

O *marketing* desses produtos faz com que consumidores os adquiram acreditando serem opções mais saudáveis do que os alimentos convencionais industrializados. Por ser uma tendência relativamente recente, não há muitos estudos sobre eles, quando comparado com os alimentos industrializados. Em contrapartida, há diversos estudos demonstrando a presença de micotoxinas e outros contaminantes em rações comerciais, corroborando com o senso comum de que o consumo desses produtos pode oferecer riscos à saúde dos animais (CDCP, 2008; Dobson *et al.*, 2008; Wilson, Hooser, 2012; Błajet-Kosicka *et al.*, 2014).

A seguridade alimentar é intensamente abordada tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária. Diversas condições podem favorecer o crescimento de bactérias e fungos em um alimento, mesmo com baixa umidade, como é o caso de *Salmonella* spp. em alimentos secos comerciais (Behravesht *et al.*, 2010). Estudos sobre infecção por *Salmonella* spp. em cães e gatos alimentados com dietas cruas já está bem descrito na literatura, destacando-se o risco

zoonótico pela convivência próxima dos humanos com estes animais (Finley *et al.*, 2007; Nemser *et al.*, 2014; Giacometti *et al.*, 2017; Jones *et al.*, 2019). Todavia, estudos que pesquisam o aspecto microbiológico e a presença de micotoxinas em alimentos não convencionais cozidos comercializados, como as amostras deste estudo, ainda não foram realizados.

Essas dietas não convencionais, quando não formuladas adequadamente, ajustando tanto macronutrientes quanto micronutrientes, podem levar a graves deficiências nutricionais, prejudicando a saúde do animal. Atualmente, diversas receitas têm sido divulgadas livremente na internet sendo que, através de estudos, foi demonstrado que as mesmas não atendem as necessidades nutricionais mínimas (Debraekeleer *et al.*, 2010; Pedrinelli *et al.*, 2017; Pedrinelli *et al.*, 2019). Essas receitas são amplamente utilizadas pelos proprietários de animais de estimação, que acreditam estar ofertando o melhor para seus animais.

Os relatos de algumas doenças nutricionais como o hiperparatireodismo secundário nutricional em cães, após a crescente oferta de alimentos comerciais completos para os animais de estimação, eram escassos. Porém tem se observado um aumento do número de casos devido à utilização destes alimentos não convencionais de forma não orientada, pela falta de suplementação adequada principalmente visando a relação cálcio:fósforo da dieta (Shmalberg, 2013; Wilson *et al.*, 2019).

Tendo em vista a crescente demanda por esse tipo de alimento e a escassez de estudos sobre o tema em questão, faz-se necessário a avaliação bromatológica, além da pesquisa microbiológica e de micotoxinas em alimentos não convencionais cozidos, objetivando maiores esclarecimentos e contribuição para o meio científico e para os profissionais da área.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar análise bromatológica e investigar a presença de micotoxinas em alimentos não convencionais para cães adultos, comercializados na cidade de Belo Horizonte (MG).

2.2 Específicos

- Observar e descrever as características dos produtos no que diz respeito a: registro no MAPA, apresentação do produto, disponibilidade de cardápios, custos, rotulagem.
- Realizar análise bromatológica (umidade, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, matéria mineral, cálcio e fósforo) nos alimentos não convencionais para cães.
- Realizar a pesquisa microbiológica (micológica e bacteriológica) dos alimentos não convencionais para cães.
- Pesquisar a presença de micotoxinas (aflatoxinas, ocratoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas, zearalenona e T-2) nos alimentos não convencionais para cães.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Alimentos não convencionais para cães

O termo “alimentação não convencional” é utilizado para definir dietas geralmente compostas por ingredientes da alimentação humana, como carnes, legumes, grãos, entre outros, seja crua ou cozida (Parr e Remillard, 2014), ou também que sigam tendências da nutrição humana, como dietas vegetarianas ou veganas para cães e gatos (Freeman *et al.*, 2011).

A busca por uma alimentação alternativa, vista por algumas pessoas como uma opção mais saudável e uma forma de oferecer o mesmo alimento consumido por eles, pode ocorrer também devido aos casos divulgados esporadicamente sobre morte de animais de estimação, pela presença de algum contaminante em rações comerciais (Saad e França, 2010; Bruchim *et al.*, 2012). A possibilidade de maior controle sobre o que é oferecido a eles justifica essa busca, além do apelo pela humanização dos animais de companhia. Além disso, em alguns casos como de pacientes oncológicos, em que o apetite pode estar comprometido pela doença ou pelo tratamento, dietas não convencionais podem ser uma alternativa para o suporte nutricional (Bianco *et al.*, 2020).

Existem relatos na literatura da aplicabilidade bem-sucedida com esse tipo de alimentação. Essa pode ser uma ferramenta importante no manejo de diversas doenças e comorbidades, por ser possível alterar a composição e formular de acordo com o que for mais recomendado para determinado quadro clínico. A exemplo disso, Segev *et al.* (2010) relataram o caso de um cão com doença renal crônica alimentado com dieta caseira de baixo teor de potássio que evoluiu positivamente do quadro de hipercalemia. Também foi relatado sucesso no manejo de cães com epilepsia (Masino *et al.*, 2019), de um filhote de cão com insuficiência renal (Gerstner e Liesegang, 2016) e em um cão com histórico de dermatite necrolítica superficial e diabetes (Jaffey *et al.*, 2020).

Uma das maiores preocupações no que diz respeito a um alimento não convencional é o quesito nutricional. Somente a combinação de ingredientes não é capaz de suprir toda a necessidade nutricional dos animais, seja com relação ao teor de vitaminas, minerais e, algumas vezes, de aminoácidos (Streiff *et al.*, 2002). Nestes casos, a suplementação adequada é imprescindível para tornar o alimento completo e balanceado (Parr e Remillard, 2014).

A maioria dos relatos apontam para alterações decorrentes da deficiência de cálcio. Os ingredientes utilizados na formulação são ricos em fósforo e possuem baixo teor de cálcio e,

segundo Remillard (2008), essa relação pode chegar a 1:10 sem a suplementação adequada com uma fonte que seja biodisponível ao animal. As alterações são vistas a longo prazo em animais adultos (Diquélou *et al.*, 2005), porém se manifestam mais rapidamente e com consequências graves quando em filhotes (Taylor *et al.*, 2009; Tal *et al.*, 2018; Dodd *et al.*, 2019).

Mesmo quando formulada adequadamente, ainda existem riscos de deficiência nutricional do paciente devido às alterações que são feitas pelos proprietários no momento do preparo e fornecimento. Halfen *et al.* (2017) demonstraram, por meio dos resultados de um questionário, que cerca de 60% dos proprietários fizeram modificações na composição da dieta, sem o consentimento do responsável pela formulação, colocando em risco a saúde de seu animal. Oliveira *et al.* (2014) também entrevistaram proprietários que forneciam dieta caseira para seus cães e encontraram que 40% não pesavam adequadamente a quantidade prescrita, além de quase 35% não utilizarem o suplemento da maneira correta. Esses dados são alarmantes, pois apontam que, mesmo com um profissional tecnicamente capacitado para formulação, ainda há riscos de o animal apresentar alterações clínicas decorrentes de erro no manejo nutricional.

Além disso, muitas vezes o proprietário não é orientado sobre o alto custo para fornecer uma dieta caseira completa, em comparação com dietas secas convencionais, e só percebe quando inicia a dieta para o animal. Este fato pode favorecer a troca dos ingredientes ou a suspensão da suplementação sem adequada orientação (Vendramini *et al.*, 2020). Outro fator deletério do uso de uma dieta úmida como a não convencional em relação a dieta comercial seca é o maior acúmulo de cálculos dentários, influenciando na saúde oral e sistêmica, além do bem-estar do paciente (Bucklay *et al.*, 2011).

Apesar de serem comumente definidos como “alimentos naturais”, no trabalho de Pedrinelli *et al.* (2019) foi relatada a presença de chumbo, mercúrio, vanádio, cobalto e urânio, com valores acima do limite máximo tolerável, em dietas que foram produzidas a partir de receitas disponíveis na *internet*, tanto para cães quanto para gatos. Os resultados deste estudo com relação a análise de macro e micronutrientes também corroborou com os achados de Oliveira *et al.* (2014) e Halfen *et al.* (2017). Mais de 84% das dietas analisadas apresentaram três ou mais nutrientes abaixo do recomendado para as espécies do estudo e nenhuma estava totalmente completa, do ponto de vista nutricional.

3.2 Micotoxinas

Em meados dos anos 1960, em Londres, houve alta morbidade e mortalidade de perus por causas até então desconhecidas. Os animais acometidos apresentavam idades variadas e o curso da doença era relativamente rápido. Após investigações epidemiológicas, clínicas e anatomopatológicas, além da exclusão de outras possibilidades, foi sugerido uma causa nutricional, por correlacionarem o uso da farinha de amendoim de origem brasileira para alimentar esses animais como um fator comum (Blount, 1961).

Com o grande prejuízo econômico e a pressão acerca do fato, as investigações avançaram e foi então que se identificou pela primeira vez a presença de uma substância, hoje conhecida como aflatoxina, produzida pelo fungo *Aspergillus flavus* (Blount, 1961).

A palavra micotoxina é de origem grega e latim, “*mykes*” e “*toxican*” respectivamente, que designa toxina fúngica (Iamanaka; Oliveira; Taniwaki, 2010). Elas são consideradas produtos secundários do metabolismo produzidos por alguns fungos durante seu crescimento e podem contaminar os alimentos desde a produção e até mesmo após a colheita (Turner *et al.*, 2009; Anfossi *et al.*, 2016).

A produção da micotoxina depende do tipo de fungo envolvido, além de fatores ambientais adequados, principalmente no que diz respeito a umidade e temperatura, mas a composição do alimento, o pH e a oxigenação também influenciam, além de outros fatores (Pereira *et al.*, 2002; Pitt e Hocking, 2009). A contaminação pode ocorrer no processo de produção, na fase de colheita ou mesmo do armazenamento dos grãos após a colheita (De Brito, 2011). Porém, determinada concentração ainda pode continuar presente no alimento mesmo após a eliminação do fungo responsável por sua produção (Richard *et al.*, 2003) ou de algum processamento do qual o alimento será submetido, como após a extrusão nas rações comerciais de cães e gatos (Bullerman e Bianchini, 2007).

Os efeitos das micotoxinas sobre o organismo, de uma maneira geral, podem ser diversos, incluindo efeitos carcinogênicos, mutagênicos, imunológicos, neurotóxicos, hematopoiéticos, hepatotóxicos, nefrotóxicos, dermatológicos, além da possibilidade de provocar efeitos deletérios para o sistema reprodutor (Bennet e Klich, 2003; Richard *et al.*, 2003). Seu consumo pode ser fatal de acordo com a quantidade e a via de ingestão. Além disso, o potencial de toxicidade também sofre variação de acordo com a espécie exposta, grupo de

micotoxinas envolvido e também pode estar relacionado com a presença de mais de um tipo micotoxina (Guterres *et al.*, 2017; Pleadin *et al.*, 2019).

Dentre os principais gêneros de fungos micotoxigênicos, encontram-se o *Aspegillus*, *Penicillium* e o *Fusarium* (Richard *et al.*, 2003). E as micotoxinas mais comumente encontradas são aflatoxinas, fumonisinas, zearalenona e ocratoxinas (Singh *et al.*, 2018).

3.2.1 Aflatoxinas

As aflatoxinas são micotoxinas produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, e são classificadas em 6 tipos: B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ e M₂ (Figura 1), sendo a B₁ considerada mais tóxica de todas (Bennet e Klich, 2003).

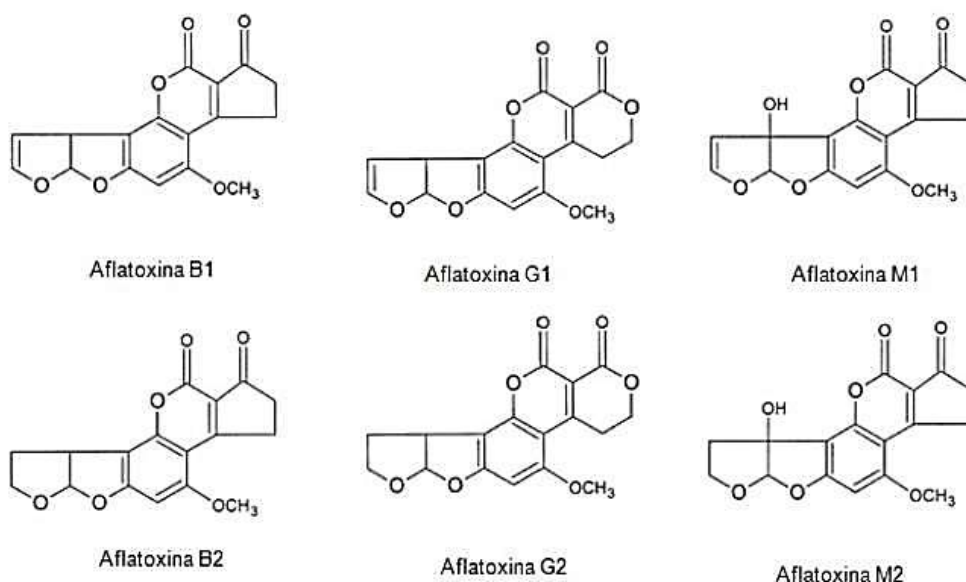


Figura 1. Estrutura química dos seis tipos de aflatoxinas.
Fonte: Souto *et al.* (2017)

A estrutura química das aflatoxinas é do tipo cumarínica, que juntamente com o comprometimento da função hepática, provoca um quadro de coagulopatia (Bennet e Klich, 2003; Rumbeiha, 2000). As figuras 2 e 3 ilustram essa alteração em um cão experimentalmente contaminado com aflatoxina por via oral, através do consumo de alimento contaminado (Muzolon, 2008).

Seus efeitos podem ser agudos, levando a morte (Guterres *et al.*, 2017) ou crônicos, onde a intoxicação se manifesta em meses (Richard *et al.*, 2003). Os principais sinais são de hepatotoxicidade, porém as aflatoxinas também podem levar à nefrotoxicidade e imunossupressão (Rumbeiha, 2000).



Figura 2. Fígado de um cão labrador intoxicado experimentalmente por aflatoxina, apresentando-se aumentado, com bordas arredondadas, além de coloração pálida.
Fonte: Muzolon, 2008.

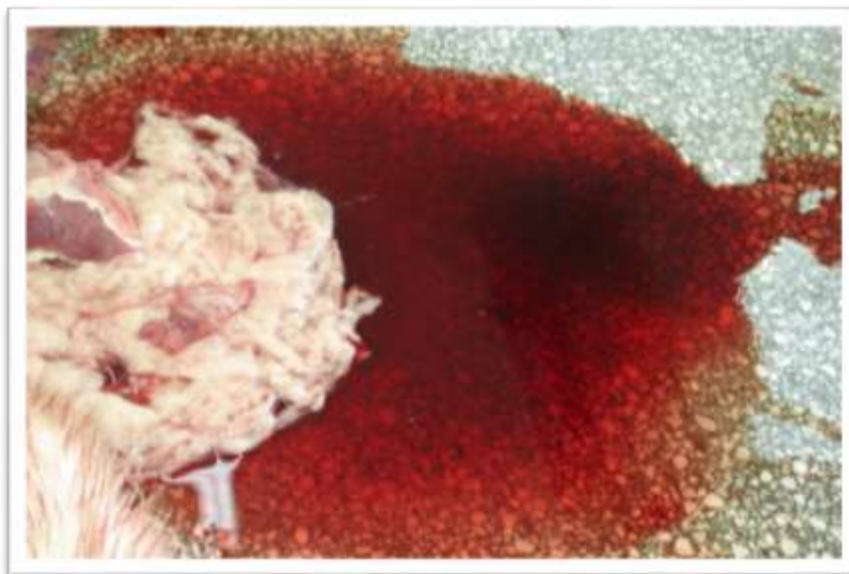


Figura 3. Ausência de coagulação 8 horas após necropsia de um cão intoxicado experimentalmente com aflatoxina.
Fonte: Muzolon, 2008.

3.2.2 Fumonisin

A produção das fumonisinas (Figura 4) ocorre por espécies de fungos do gênero *Fusarium* spp, e são encontrados em diversos grãos, como o milho. Existem sete fumonisinas caracterizadas: FB₁, FB₂, FB₃, FB₄, FA₁, FA₂ e FA₃.

Os principais relatos de intoxicação são em animais de produção e humanos, com ocorrência de hepatotoxicidade nos animais como suínos e equinos, e câncer esofágico em humanos devido ao consumo (Yoshizawa *et al.*, 1994; Bennet e Klich, 2003; Muzolon, 2008). Todavia, não existem relatos de intoxicação em cães, apesar de seu potencial tóxico (Muzolon, 2008). A ingestão crônica de fumonisina pode levar ao comprometimento do sistema imune (Boermans e Leung, 2007).

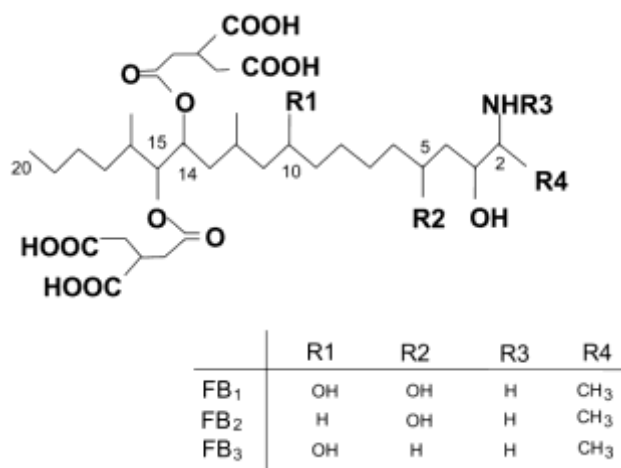


Figura 4. Estrutura química das fumonisinas FB₁, FB₂, FB₃, FB₄.
Fonte: Souto *et al.* (2017)

3.2.3 Zearalenona

Existem cerca de cinco tipos de zearalenonas identificadas (Figura 5). Essas são subprodutos do metabolismo de fungos do gênero *Fusarium* spp, em especial, *Fusarium graminearum* e *F. tricinctum*, principalmente em condições de maior umidade (Bennet e Klich, 2003). Já foram identificadas em grãos de milho e sorgo, por exemplo (Richard *et al.*, 2003), porém podem estar presentes em outras plantas (Bennet e Klich, 2003).

Sua ação está diretamente ligada ao sistema reprodutivo dos animais, devido à sua similaridade estrutural com o estrógeno, levando a intercorrências reprodutivas em cães e outras espécies, como diminuição da fertilidade, cistos ovarianos, efeito teratogênico, atrofia testicular, entre outros, havendo necessidade de mais estudos (Richard *et al.*, 2003; Golinsky e Nowak, 2004).

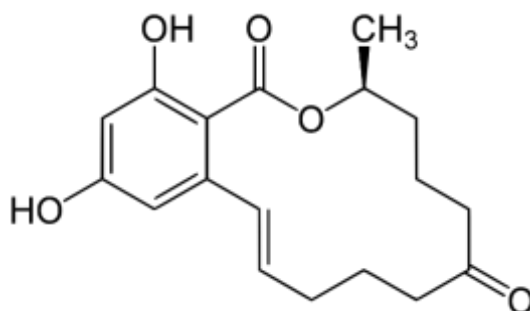


Figura 5. Estrutura química da Zearalenona.
Fonte: Souto *et al.* (2017)

3.2.4 Ocratoxinas

As ocratoxinas (Figura 6) são produzidas por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, sendo as principais espécies: *A. ochraceus*, *A. alliaceus*, *A. ostianus*, *A. mellus*, *P. viridicatum*, *P. cyclopium*, *P. variable*, entre outros. A ocratoxina “A” é considerada a mais tóxica dentre cerca de sete tipos (Bennet e Klich, 2003; Rumbeiha, 2000). Esses fungos podem contaminar o alimento tanto durante a produção quanto no processo de armazenamento, podendo ser responsável por contaminações também no produto final (Rumbeiha, 2000).

Essas toxinas apresentam ações hepatotóxicas e nefrotóxicas conhecidas (Bennet e Klich, 2003), e já foram encontradas em análises anatomopatológicas em rins de felinos (Razzazi *et al.*, 2001). Também já foi observado melena em cães que receberam essa toxina experimentalmente (Rumbeiha, 2000).

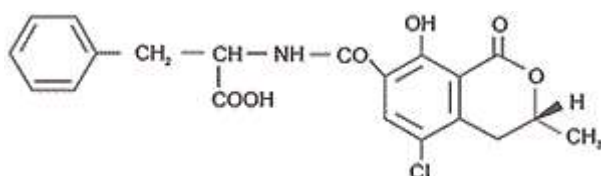


Figura 6. Estrutura química da ocratoxina A.
Fonte: Rumbeiha, 2000

3.2.5 T-2

As micotoxinas denominadas T-2 (Figura 7) fazem parte de uma classe denominada tricotecenos, juntamente com as toxinas HT-2, DON e nivalenol, sendo T-2 classificada como tricoteceno tipo A (Foroud *et al.*, 2019). São produzidas pela maioria dos fungos do gênero *Fusarium* (European Commission, 2001).

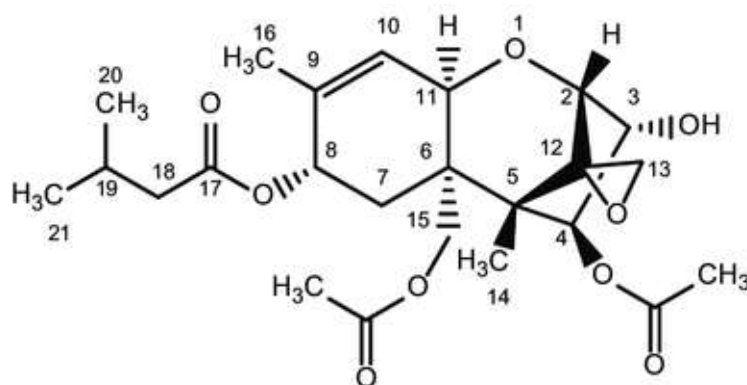


Figura 7. Estrutura química da micotoxina T2
Fonte: Arcella *et al.*, 2017.

Os tricotecenos causam inibição da síntese de proteínas, levando a sinais clínicos condizentes com essa característica, como imunossupressão (De Brito, 2011). O estudo de Ndossi *et al.* (2012), demonstrou que a exposição aos tricotecenos afeta negativamente a viabilidade celular e a produção hormonal. Já Mackei *et al.* (2020) demonstraram, através de uma cultura com hepatócitos de frangos, a ação tóxica da T-2 provocando uma diminuição da funcionalidade dessas células, devido a sua influência negativa sobre o metabolismo celular e aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias. Os efeitos cardiovasculares dos tricotecenos também foi descrito no trabalho de Bubien e Woods Jr (1987), onde injetaram a toxina T-2 em cães, por via endovenosa, e observaram hipotensão e taquicardia como resposta.

A microbiota intestinal, assunto de grande relevância atualmente, foi correlacionada com o potencial de toxicidade dos tricotecenos. Swanson *et al.* (1988) realizaram um estudo com os microrganismos isolados das fezes de diversas espécies e incubaram juntamente com tricotecenos, e observaram que a microbiota do rato, suíno e bovino foram capazes de reduzir

as micotoxinas à compostos menos tóxicos para o organismo, em comparação com cão, cavalos e galinhas.

3.2.6 Deoxinivalenol

A Deoxinivalenol (DON) (Figura 8), é uma micotoxina produzida por fungos do gênero *Fusarium* e é classificada como tricoteceno tipo B (Foroud *et al*, 2019). É conhecida também pelo nome de “vomitoxina” devido a seu efeito emético (Vesonder; Ciegler; Jensen, 1973). São encontradas principalmente em grãos, como trigo, cevada e milho (Bullerman; Bianchini, 2007).

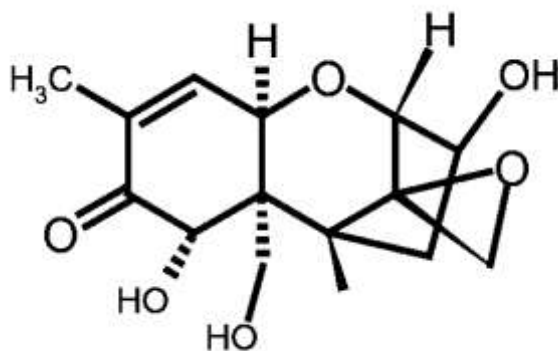


Figura 8 – Estrutura química da micotoxina DON.
Fonte: TIWARI *et al.*, 2010.

Em humanos, há pesquisas apresentando as consequências da exposição de maneira crônica e aguda à DON como anorexia, aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias ou sintomas gastroentéricos em ingestão de altas doses desta micotoxina (Pestka, 2010).

Não há muitos trabalhos sobre a ação da DON em cães, porém segundo o estudo conduzido por Hughes *et al.* (1999), eles parecem absorver, metabolizar e/ou excretar a DON ingerida via dieta de maneira rápida e apresentaram vômito quando há doses mais altas no alimento. Além disso, os autores também observaram que a DON era estável no alimento, mesmo após o processo de extrusão. Songsermsakul *et al.* (2007) identificaram DON em todas as amostras de rações comerciais secas para cães, comercializadas na Áustria.

3.3 Micotoxinas em *pet food*

Estima-se que cerca de um quarto da produção mundial de grãos esteja contaminada com micotoxinas (Rocha, 2008). Isso implica diretamente no mercado *petfood*, principalmente nas rações de cães, já que grande parte desses grãos são utilizados na produção dos alimentos, com maiores proporções em alimentos de menor valor agregado (Muzolon, 2008).

A detecção de micotoxinas em alimentos comerciais processados para animais de estimação já foi realizada em vários países, como por exemplo no Brasil (Maia e Siqueira, 2002), China (Shao *et al.*, 2018), Portugal (Martins *et al.*, 2003) e Itália (Gazzotti *et al.*, 2015). Em todos esses, houveram amostras positivas para micotoxinas, algumas em níveis maiores do que o permitido pela legislação, além de reportarem a ocorrência de mais de um tipo, que pode levar a efeito tóxico potencializado (Witaszak *et al.*, 2020; Bissoqui *et al.*, 2016). Além disso, há também relato de presença de micotoxinas e fungo micotoxigênico em alimentos coadjuvantes para cães e gatos, fato que demonstra o risco que um paciente já debilitado estará exposto ao comer um alimento potencialmente contaminado (Witaszak *et al.*, 2019).

A adição de antifúngicos, uma ferramenta utilizada por algumas empresas que fabricam produtos de menor valor agregado, pode não ser eficaz pelo fato de haver possibilidade da micotoxina continuar presente mesmo após a eliminação dos microrganismos toxigênicos, mas outras alternativas já foram estudadas para tentar diminuir o risco de intoxicação ao ingerir o alimento contaminado, por diminuir a absorção da micotoxina presente nele (Bingham *et al.*, 2004). Além disso, outro dado interessante, é de que a presença de micotoxinas independe do segmento de mercado, não isentando os animais que consomem alimentos considerados *premium* ou *super premium* (Frehse *et al.*, 2015; Singh e Chuturgoon, 2017).

Durante o processo de extrusão, há uma diminuição da contaminação por micotoxinas, variando o nível de acordo com o tipo envolvido, porém não é capaz de eliminar 100% dela durante o processo, o que pode promover ingestão de baixos níveis por longos períodos, levando a intoxicação a longo prazo (Bullerman e Bianchini, 2007). Além disso, existe a possibilidade de ocorrência de contaminação após o processo de produção, como no armazenamento, seja em depósito, no comércio ou consumidor final, que muitas vezes não seguem as recomendações de estocagem correta (Rumbeiha, 2000). Todos esses fatores após a produção, podem contribuir para um aumento do risco de contaminação do alimento, por haver a possibilidade da presença de fungos micotoxigênicos aguardando as condições favoráveis de umidade e temperatura para

se proliferarem e, como consequência de seu metabolismo, liberarem micotoxinas (Bueno *et al.*, 2001).

Há vários casos divulgados, em veículos de notícias, sobre mortes de grande número de animais devido a consumo de alimentos contaminados, causando grande comoção por parte da população e impacto para a empresa envolvida. Além disso, relatos científicos também já foram massivamente publicados sobre óbitos após ingestão tanto de alimento comercial (Newman *et al.*, 2007; Bruchim *et al.*, 2012), quanto de outros alimentos como Guterres *et al.* (2017), que relataram um surto que ocorreu no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, em 2013, onde 18 cães foram intoxicados por aflatoxinas e 17 vieram a óbito, com sinais neurológicos, gastroentéricos, hepáticos e de coagulopatias. O diagnóstico foi feito por meio do histórico de ingestão de quirera de milho e arroz, além da pesquisa de aflatoxinas em amostra do alimento por cromatografia líquida, que demonstrou altos níveis da toxina.

Apesar de a maioria dos relatos serem de intoxicações agudas, que se dá pela ingestão de grande quantidade de micotoxinas de uma vez, há também a possibilidade de danos por ingestão repetida, a médio e longo prazo, de pequenas quantidades (Boermans; Leung, 2007). O risco se torna ainda maior quando há a presença concomitante de mais de uma micotoxina no próprio alimento, pela possibilidade de uma potencializar o efeito tóxico da outra (Böhm *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 2016).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local

A pesquisa foi realizada na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG), mais especificamente no Laboratório de Micologia e Micotoxinas (LAMICO) e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia.

4.2. Amostras

Foi realizado um levantamento, via pesquisa no *site* de buscas “Google” e em redes sociais, sobre empresas que comercializavam alimentos não convencionais para cães adultos em Belo Horizonte (MG), não tendo necessariamente sua sede empresarial localizada na cidade.

No total, de agosto de 2019 a agosto de 2020, 15 empresas foram identificadas e contatadas para compra dos produtos.

Foram adquiridos 1000 gramas de um dos tipos de alimentos oferecidos por cada uma das empresas para análise bromatológica, totalizando 15 amostras, e mais 300 gramas de cada uma das variedades ofertadas pelas mesmas para realização da pesquisa de micotoxinas, totalizando 44 amostras. A opção escolhida para a análise bromatológica foi inteiramente ao acaso. Já a pesquisa de micotoxinas, contou com amostras de todos os alimentos.

As amostras foram armazenadas seguindo recomendações de cada fabricante, sendo que a maioria foi congelada. Somente uma empresa recomendou a refrigeração (temperatura média de 6 a 10°C) por até sete dias e três foram mantidas em temperatura ambiente por serem comercializadas enlatadas.

Foi necessário o envio de uma formulação de dieta para elaboração dos alimentos para duas empresas, pois não dispunham de opções de cardápio, e produziam somente sob prescrição profissional prévia. A dieta formulada foi a mesma para ambas. Os dados enviados foram de um cão, adulto, da raça Pinscher, com peso corporal de 3,2 kg, saudável, contendo: arroz integral (50 gramas), batata doce (50 gramas), fígado bovino (20 gramas), filé de frango (50 gramas), abóbora moranga (10 gramas), abobrinha italiana (10 gramas), cenoura (10 gramas), brócolis (10 gramas), azeite de oliva extravirgem e suplemento vitamínico-mineral (3 gramas) como ingredientes para consumo diário.

As dietas foram pesadas antes e após o descongelamento, para comparar se o quanto era calculado, solicitado e identificado na embalagem foi realmente o mesmo após o descongelamento, que seria então a quantidade oferecida ao animal.

Foi realizado um cálculo para obtenção do valor médio por quilograma do produto, para comparar com produtos industrializados, além da observação das características físicas dos mesmos, como apresentação, presença de rótulo, identificação, características do produto, e presença de registro da empresa no MAPA.

Não serão divulgados os nomes das empresas, as mesmas serão identificadas por AN (alimentação natural) seguido de números.

4.3 Análise bromatológica

Ao total, foram pesadas 1000 gramas de um tipo de alimento de cada empresa, totalizando 15 amostras. Todas foram pesadas, identificadas e permaneceram por 72 horas em estufa de ventilação forçada para secagem, a 55 °C, para promover a pré-secagem e determinar o peso da amostra seca ao ar. A homogeneização das amostras ocorreu uma vez a cada 24 horas, até a retirada.

Após a estabilização da temperatura com o ambiente, as amostras foram pesadas para a determinação da matéria pré-seca. Em seguida, essas foram processadas em moinho tipo faca, com peneira de 1,0 mm e acondicionadas em frascos plásticos para a realização das análises.

As amostras foram submetidas as análises de umidade, matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM), cálcio (Ca) e fósforo (P) utilizando os métodos da A.O.A.C. (2000). A MS foi determinada em estufa a 105°C, durante 4 a 5 horas. As cinzas e MO foram submetidas à incineração em mufla a 600°C, durante 4 horas. A PB foi realizada a partir do método de Kjeldhal. O EE foi extraído com éter sulfúrico em aparelho de Soxlet. As análises de FDN e FDA foram estipuladas segundo os procedimentos sugeridos por Van Soest (1963), Van Soest (1967) e Van Soest *et al.* (1991), em aparelho ANKON. O teor de fósforo foi determinado por colorimetria, e o de cálcio por permanganometria.

4.4 Pesquisa microbiológica

4.4.1 Pesquisa bacteriológica

Foi encaminhada ao Laboratório de Bacteriologia de Rotina do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da EV-UFGM, uma amostra do alimento AN 01 para cultura bacteriana.

A amostra foi plaqueada em ágar sangue 5% (ASA) e ágar MacConkey (MCC) para pesquisa de bactérias patogênicas. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Colônias puras foram submetidas a testes primários de caracterização: Gram, catalase e oxidase. As espécies bacterianas foram identificadas com equipamento que utiliza tecnologia de espectrometria de massas para análise de proteínas ribossomais para a identificação dos microrganismos.

4.4.2 Pesquisa micológica

Foram separados 10 gramas de 12 amostras, escolhidas ao acaso, e realizado diluição em placas no meio de cultivo Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Agar (DRCB), com a contagem fúngica total sendo expressa em UFC/g. As placas foram colocadas em estufas microbiológicas, a 25 °C, durante sete dias. Foram determinadas a frequência de isolamento dos gêneros fúngicos, em porcentagem, e a densidade relativa das espécies. As amostras utilizadas foram: AN 01, AN 02, AN 03, AN 04, AN 05, AN 06, AN 07, AN 08, AN 09, AN 10, AN 11 e AN 15.

4.5 Pesquisa de micotoxinas

Para detecção de micotoxinas, aflatoxinas (AFLA), deoxinivalenol (DON), fumonisinas (FUMO), ocratoxina A (OTA), T-2 toxina (T2) e zearalenona (ZEA), foram separados 100 gramas de cada alimento para pesquisa pelo método imunoenzimático *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Utilizou-se kit ELISA AgraQuant®, do laboratório Romer Labs Inc. (Áustria), com o método de ELISA competitivo direto (KELLER *et al.*, 2013).

Os limites de detecção (LoD) e limites de quantificação (LoQ) apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Limites de detecção (LoD) e quantificação (LoQ) em ppb para aflatoxinas, deoxinivalenol, fumonisinas, ocratoxina A, T-2 toxina e zearalenona.

Micotoxinas	Limite de Detecção - LoD (ppb)	Limite de Quantificação - LoQ (ppb)
Aflatoxinas	1,0/3,0	1,0/4,0
Deoxinivalenol	200,0	250,0
Fumonisinias	200,0	250,0
Ocratoxina A	1,9	2,0
T-2 toxina	10,0	20,0
Zearalenona	20,0	25,0

O preparo da amostra para a realização do teste consistiu em um processo de extração para solubilização das micotoxinas no líquido. O extrato para quantificação da DON é separado do extrato das demais micotoxinas. Os extratos foram preparados após triturar as amostras e foram separadas duas frações de 20 gramas cada.

Em uma das frações, foram adicionados 100 mL de água destilada (para quantificação de deoxinivalenol) e na outra 100 mL de uma solução metanol:água (70:30 v/v), para a quantificação das demais toxinas. Em seguida as amostras pesadas e acrescidas de água destilada ou metanol + água foram submetidas à agitação a 150 rpm (rotações por minuto) em agitador orbital por uma hora, após este tempo as amostras foram filtradas em papel de filtro tipo Whatman #1, e o pH é ajustado para que fique entre 6,0 e 8,0. Os extratos resultantes deste processo foram utilizados para a quantificação por ELISA.

Para a realização dos testes, os padrões com quantidades conhecidas de micotoxinas e as amostras foram misturadas a um conjugado de micotoxina-enzima. Em seguida, a mistura de padrão ou amostra mais o conjugado foi transferido para micro poços contendo anticorpos aderidos ao fundo, sendo um poço para cada amostra ou padrão. Esta mistura foi incubada por 15 minutos (para os kits de AFLA e DON) e 10 minutos (para as demais micotoxinas). Após o período de incubação, todo o conteúdo dos poços foi descartado e os mesmos foram lavados para a remoção de qualquer conjugado, micotoxina ou outros componentes presentes na amostra que não se ligaram aos anticorpos.

Em seguida, um substrato enzimático foi adicionado aos poços, onde a enzima presente no conjugado micotoxina-enzima quebra o substrato adicionado e este muda de cor, adquirindo coloração azul, a intensidade da cor é inversamente proporcional à concentração de micotoxina na amostra ou padrão. A reação foi então interrompida com uma solução de parada, que muda a coloração de azul para amarelo. Por fim, a intensidade da cor de cada poço foi mensurada opticamente usando um leitor de ELISA com um filtro de absorvância de 450 nm e um filtro diferencial de 630 nm. As densidades ópticas das amostras foram comparadas às densidades ópticas dos padrões através de uma regressão linear, obtendo assim a concentração de micotoxina presentes em cada amostra.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características das amostras

5.1.1 Empresas registradas no MAPA

Das 15 empresas que participaram deste estudo, somente seis eram registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Isso implica principalmente nos riscos inerentes à falta de fiscalização e abre brechas para que os produtos sejam feitos sem exigência de local e higiene adequados, oferecendo riscos à saúde do animal. Muitas pessoas decidem começar a comercializar alimentação para cães após uma experiência com seus próprios animais, como foi o caso de cinco empresas do estudo que deixaram essa informação de maneira clara no *site*, porém ficam limitadas devido a burocracia e o alto custo para legalizarem seu negócio.

As amostras foram adquiridas entre 2019 e 2020, quando ainda era necessário registro para realizar essa atividade, segundo Decreto lei nº 6.296, de 11 de dezembro de 2007, e em caso de denúncia, esses estabelecimentos poderiam ser multados por comercializarem os alimentos ilegalmente. Porém, a partir de 08 de janeiro de 2021, o governo publicou a portaria nº 196 do MAPA, isentando essas empresas da necessidade de registro, por ser classificada como “nível de risco I: dispensa de liberação por meio de qualquer ato público”.

5.1.2 Apresentação do produto

5.1.2.1 Características dos produtos

Todas as empresas fazem apelo à característica do alimento ser natural, sem conservantes artificiais, e algumas caracterizaram os produtos utilizando o termo “comida de verdade”.

Os nomes das opções disponíveis nos cardápios remetem a alimentos humanos, como risoto, escondidinho, mexido e guisado, por exemplo. Essas características fazem com que os proprietários se sintam bem oferecendo um alimento que eles mesmos comeriam, com nomes de pratos conhecidos e com aspecto agradável.

Somente uma empresa não se preocupou com a estética do produto, conforme ilustrado na Figura 11. Não havia embalagem com identificação e os alimentos foram entregues envoltos por papel alumínio, em formato de barra, sem distinção clara dos ingredientes.



Figura 9 – Aspecto macroscópico da amostra AN 1.
Fonte: Arquivo pessoal.

5.1.2.2 Custo

O custo médio dos alimentos foi de R\$ 43,58 por kg de comida. Os valores eram mais altos quando era utilizado peixe como fonte proteica. A dieta mais cara foi a AN 40, com valor de R\$ 92,85 por kg. O custo para fazer a alimentação não convencional é maior do que utilizar um alimento seco extrusado para cães adultos, da linha “*super premium*”, com média de R\$ 24,91 por kg. No trabalho de Vendramini *et al.* (2020) também foi observado valor mais alto para este tipo de dieta.

5.1.2.3 Disponibilidade de cardápios

Somente duas empresas exigiram uma prescrição de dieta prévia feita por um profissional para a confecção do cardápio. Todas as outras possuíam pelo menos três opções diferentes de comida, com variação principalmente no tipo de carne ou de acordo com a disponibilidade de ingredientes no momento do pedido.

5.1.2.4 Informação sobre composição

Dentre as amostras deste estudo, seis empresas (40%) forneceram os alimentos sem especificar a composição da dieta, sendo que duas destas fizeram a partir da prescrição prévia de um profissional e não havia descrição dos ingredientes na embalagem.

Foi observada presença de ingredientes que são divulgados como fontes mais saudáveis para humanos, a exemplo do óleo de coco e sal rosa do Himalaia.

A empresa responsável pela AN 1 informou somente a possibilidade de acrescentar o alimento com farelo de aveia ou de trigo à mistura que eles faziam (trituravam todos os ingredientes até apresentar uma consistência que permitisse o corte em barras). O escolhido, no momento do pedido, foi o farelo de trigo.

Sobre a suplementação vitamínica e mineral, que torna o alimento completo para a espécie, somente seis empresas forneceram essa informação, e três acrescentavam alguma fonte de cálcio (farinha de casca de ovos ou carbonato de cálcio). As duas empresas (AN 21 e AN 39) que entregaram a dieta com base na prescrição previamente enviada não adicionaram nenhum suplemento, ficando sob responsabilidade do cliente. A AN 39 não acrescentou nem mesmo a fonte de gordura prescrita, conforme informaram no momento da compra do produto. A produção de um alimento incompleto, ficando sob responsabilidade do proprietário complementar a dieta, é um enorme risco, conforme demonstrado por Oliveira *et al.* (2014), onde mais de 70% das pessoas admitiram não acrescentar a fonte de gordura no alimento e quase 35% não adicionavam os suplementos prescritos.

5.1.2.5 Níveis de garantia

Os níveis de garantia dos produtos foram informados em menos da metade das amostras (7/15). Isso implica em não conhecer as proporções dos nutrientes presentes no alimento, além de permitir a falta de uniformidade do produto. Sem essas informações, é impossível definir a quantidade exata de alimento para oferecer e para qual animal esses produtos seriam indicados ou contraindicados.

5.2 Análise bromatológica

5.2.1 Umidade

O valor médio de umidade encontrado nas amostras foi de 78,15% (Figura 13). O alto teor de umidade, em comparação com alimentos extrusados, é por serem dietas cozidas. O valor médio de umidade para ingredientes, que fazem parte da composição das dietas do presente estudo, relatado por Vizzotto *et al.* (2010) foi de 75,5%, que é próximo à média encontrada nas amostras analisadas.

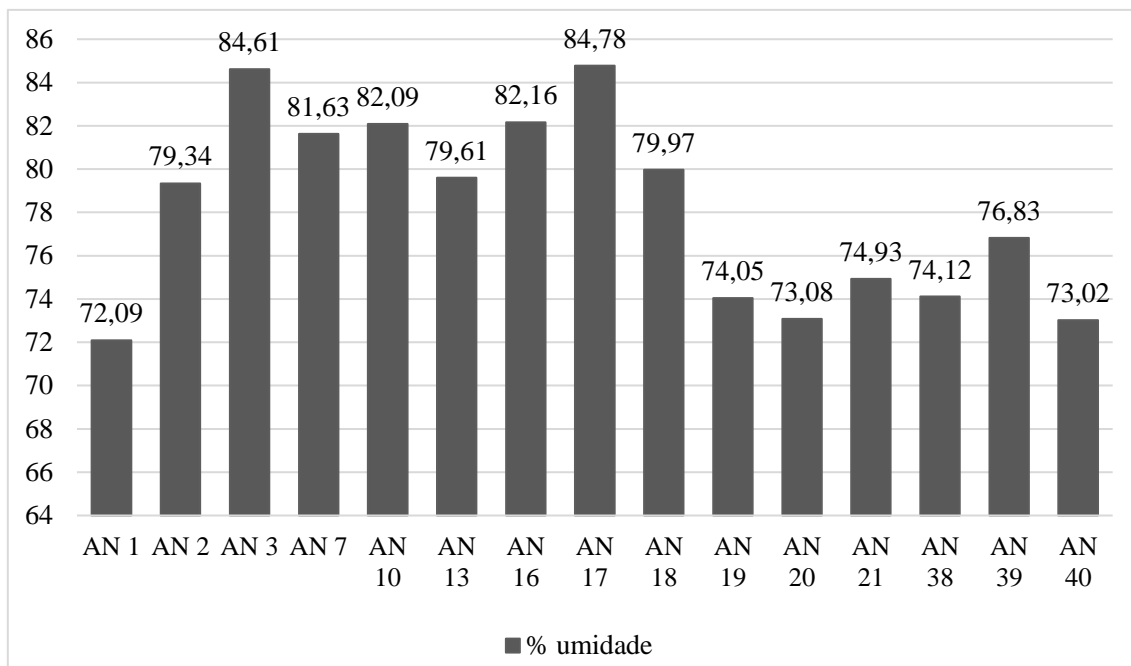


Figura 10. Gráfico com o teor (%) de umidade das amostras de alimentos não convencionais para cães.

Apesar de o alto teor de umidade ser esperado pelo processo de produção das amostras, duas empresas fraudaram o peso do produto com maior adição de água, observado durante a pesagem das amostras após o descongelamento. O peso das amostras AN 17 e AN 45, das empresas referentes as amostras AN 17 (84,78%) e AN 3 (84,61%) respectivamente, não condiziam com o valor informado no rótulo, que foi calculado por eles como a quantidade ideal de alimento, de acordo com o peso do animal informado previamente à compra. A AN 17, que indicava 300 gramas na embalagem, pesou 302 gramas antes de ser aberta, porém havia muita água após o descongelamento, permanecendo somente 227,5 gramas após a retirada da água, representando uma perda de aproximadamente 25%. Já a AN 45, que informava o peso de 200 gramas no pacote, após a retirada da água, pesou 179,91 gramas, correspondendo a 89,95% do peso declarado.

A adição de água no alimento para aumentar o peso é deletéria por vários motivos. O animal iria consumir menor quantidade de alimento e, tendo em vista a falta de suplementação mineral e vitamínica e, a relação Ca:P inadequada dos mesmos, agravaria o quadro de deficiência nutricional, por menor consumo de alimento. Isso pode fazer com que o proprietário tenha que comprar mais alimento quando o animal começasse a perder peso, e estaria pagando por água ao invés de comida. Chegar próximo ao limite máximo permitido pelo órgão regulador para teor de umidade é uma prática comum no mercado de rações extrusadas, principalmente

de qualidade inferior, como forma de otimizar o lucro, já que a água é vendida pelo valor de ração (Melo *et al.*, 2014).

Com altos teores de umidade, aumenta-se o risco microbiológico devido à maior atividade de água no alimento. A atividade de água é definida como “a relação entre a pressão de vapor do próprio alimento, quando em um equilíbrio completamente inalterado com os meios de ar ao redor, e a pressão de vapor da água destilada sob condições idênticas” (FDA, 2014). Por isso, o tipo conservação das amostras estudadas era, em sua maioria, o congelamento (temperatura média de -20°C) e conservação por até três meses, sendo três amostras enlatadas em temperatura ambiente enquanto ainda fechadas e uma amostra (AN 01) foi recomendada somente a refrigeração, pelo prazo máximo de sete dias. Esses produtos devem ser consumidos imediatamente após o aquecimento, para evitar proliferação microbiana e riscos para a saúde do animal.

5.2.2 Proteína bruta

Os altos teores de PB encontrados nas amostras (figura 11) já eram esperados devido ao *marketing* desse tipo de alimento, que são chamados pelas próprias empresas de “comida de verdade” e tem o apelo afetivo ao colocar nomes de pratos consumidos pelos clientes, como “escondidinho de frango” ou “risotinho de carne”.

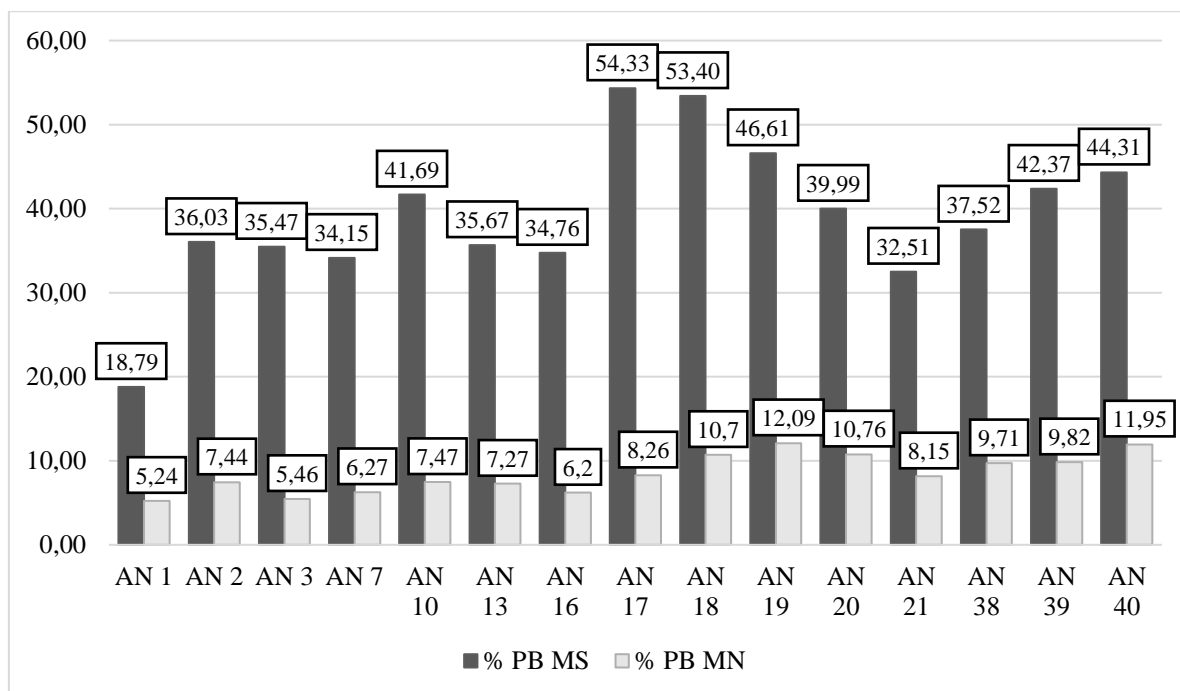


Figura 11. Gráfico demonstrativo do teor de proteína bruta na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães.

A principal fonte de proteína utilizada em todas as amostras foi de origem animal. O frango foi a fonte proteica mais utilizada (12/15), seguida por cortes bovinos (9/12), sendo que apenas uma empresa não informou qual a proteína utilizada (AN 1).

Os cortes cárneos utilizados para produção dos alimentos tinham o mesmo padrão que os voltados para alimentação humana, com exceção da AN 10, uma das amostras comercializadas em lata, que possuía em sua composição carne industrial bovina e plasma sanguíneo bovino.

Somente a AN 01 ficou abaixo de 20% de PB, com média de 18,8% de PB na MS, próximo ao mínimo recomendado pela FEDIAF (2020) que é de 18%. A empresa responsável pela amostra não informou qual a fonte proteica utilizada, ficando inviável estimar a digestibilidade dessa proteína, pois a recomendação é que tenha pelo menos 80% de digestibilidade aparente, e que garanta um perfil de aminoácidos adequado.

5.2.3 Extrato etéreo

Dentre as fontes de gordura informadas por algumas empresas, estão: óleo de coco (4/15), azeite de oliva extravirgem (1/15) ou não especificado como extra-virgem (3/15), óleo de girassol (4/15), lecitina de soja não transgênica (1/15), óleo de linhaça (1/15). Algumas empresas não informaram a fonte de gordura em sua lista de ingredientes (provavelmente vindo somente da carne) como as amostras AN 01, AN 10, AN 18, AN 20, AN 38 e AN 40. A empresa responsável pela produção da AN 7 informou em rótulo a utilização de óleo de girassol e lecitina de soja; AN 13 e AN 16 informaram uso associado de azeite de oliva, óleo de coco e óleo de girassol, assim como, a AN 19 que informou ter utilizado óleo de girassol e óleo de linhaça. Os teores de EE encontrados estão representados na Figura 14. É possível observar o alto teor energético na maioria desses alimentos, podendo levar o animal ao ganho de peso e suas consequências (German, 2006).

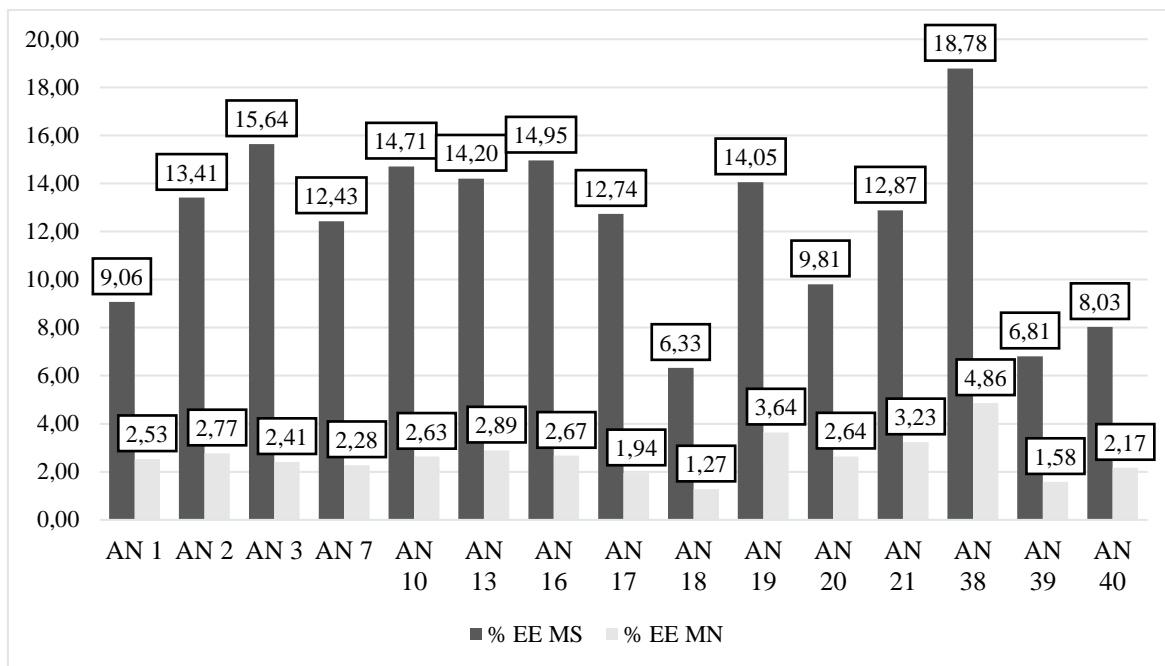


Figura 12. Gráfico demonstrativo do teor de extrato etéreo na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães.

A empresa responsável pela AN 39, que foi enviado a prescrição prévia, disse que só prepararia os alimentos e a adição de gordura seria responsabilidade do cliente, e apresentou um dos teores mais baixos de EE (6,81% na MS). É importante conhecer as fontes de gordura utilizados na dieta para fornecer um alimento completo e balanceado ao animal. Os mamíferos, de maneira geral, não sintetizam os ácidos graxos de cadeia longa, o que faz com que sejam classificados como essenciais, tendo que vir obrigatoriamente da dieta (Trevizan e Kessler, 2009).

Há uma tendência em seguir modismos na alimentação humana e isso tende a ser repassado para os animais, nas alimentações não convencionais. Alguns estudos experimentais com cães servindo de modelo para humanos foram realizados na segunda metade do século passado. Cães recebendo dietas ricas em óleo de coco e colesterol eram utilizados como modelo para estudar melhor a aterosclerose em humanos, devido ao seu conhecido potencial aterogênico (Cooper *et al.*, 1980).

O trabalho de Grande e Schultz (1996) demonstrou um aumento da concentração sérica de fosfolipídios e triglicerídeos em cães alimentados com óleo de coco como fonte de gordura e Balachandran e Ehrhart (1975) observaram uma deficiência de ácidos graxos essenciais. Mahley *et al.* (1976), demonstraram uma associação entre trombose e doenças

tromboembólicas em cães alimentados com dietas ricas em gordura saturada (sebo bovino e óleo de coco), comparado com óleo de semente de algodão.

Empresas como da amostra AN 38, que apresentou o maior percentual de gordura na MS, e não declarou adição de nenhum tipo de gordura além da carne, tende a apresentar maior teor de gordura saturada na dieta. Marx (2012) fez um estudo onde o óleo de soja apresentou digestibilidade e energia metabolizável superiores quando comparados com o sebo bovino. Por ter havido maior quantidade de gordura nas fezes dos cães alimentados com sebo bovino, esse autor concluiu que a espécie canina tem uma maior dificuldade em absorver gordura saturada na dieta.

Apesar de menor quantidade em comparação com o óleo de peixe, a gordura presente na carne de frango e carne bovina apresentam gorduras classificadas como insaturadas e, mesmo que em quantidade irrisória, a carne de frango apresenta EPA e DHA em sua composição (USDA, 2008).

5.2.4 Fibras

Os métodos FDN e o FDA, utilizados no presente estudo, foram desenvolvidos por Van Soest, em 1965. O FDN compreende, de maior importância, a celulose, a hemicelulose e a lignina e o FDA, apresentando valores mais baixos que o FDN, compreende a celulose e a lignina (Silva e De Queiroz, 2004). Já a hemicelulose é o resultado da subtração de FDN por FDA. É considerada mais fermentável do que a celulose (Van Soest, 1994). As figuras 15, 16 e 17 ilustram o teor de fibras encontrados neste estudo.

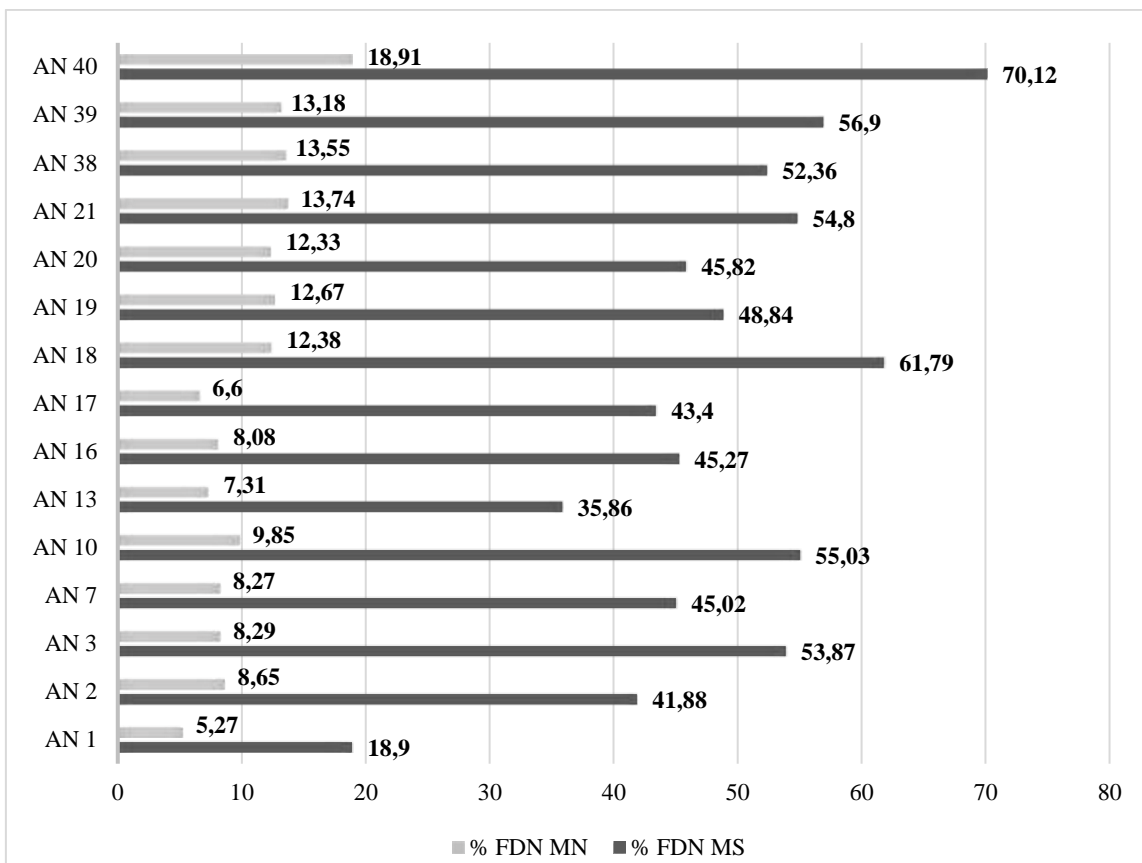


Figura 13. Gráfico demonstrativo do teor de FDN na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães.

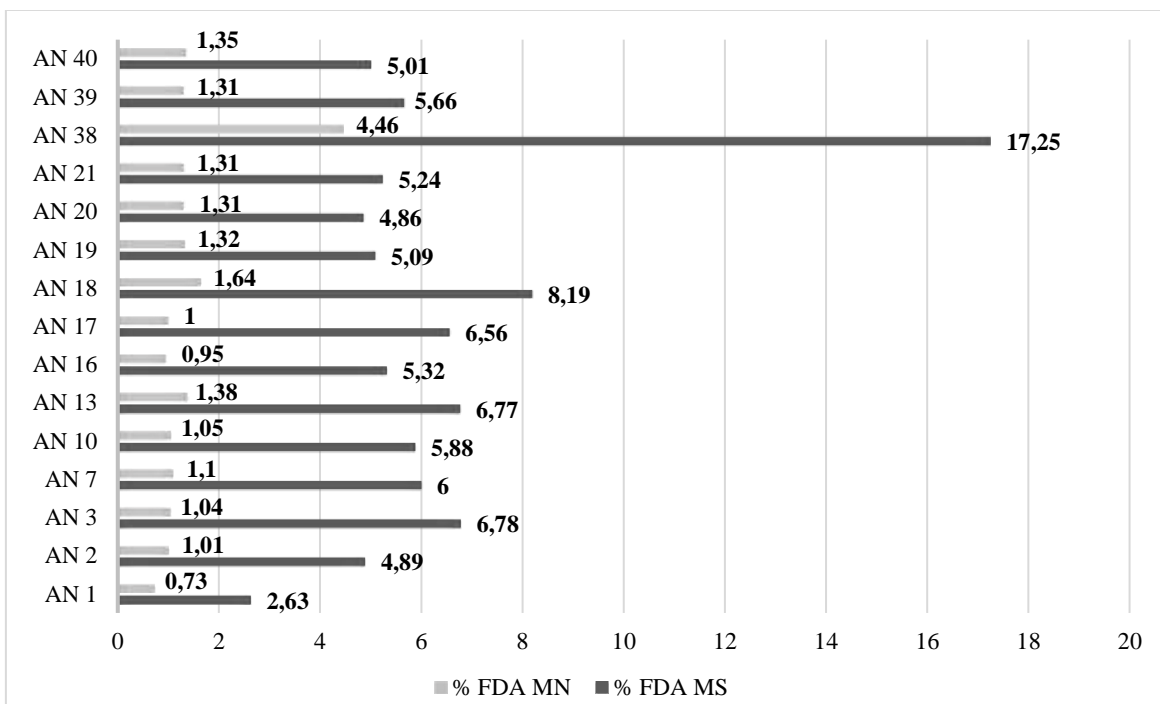


Figura 14. Gráfico demonstrativo do teor de FDA na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães.

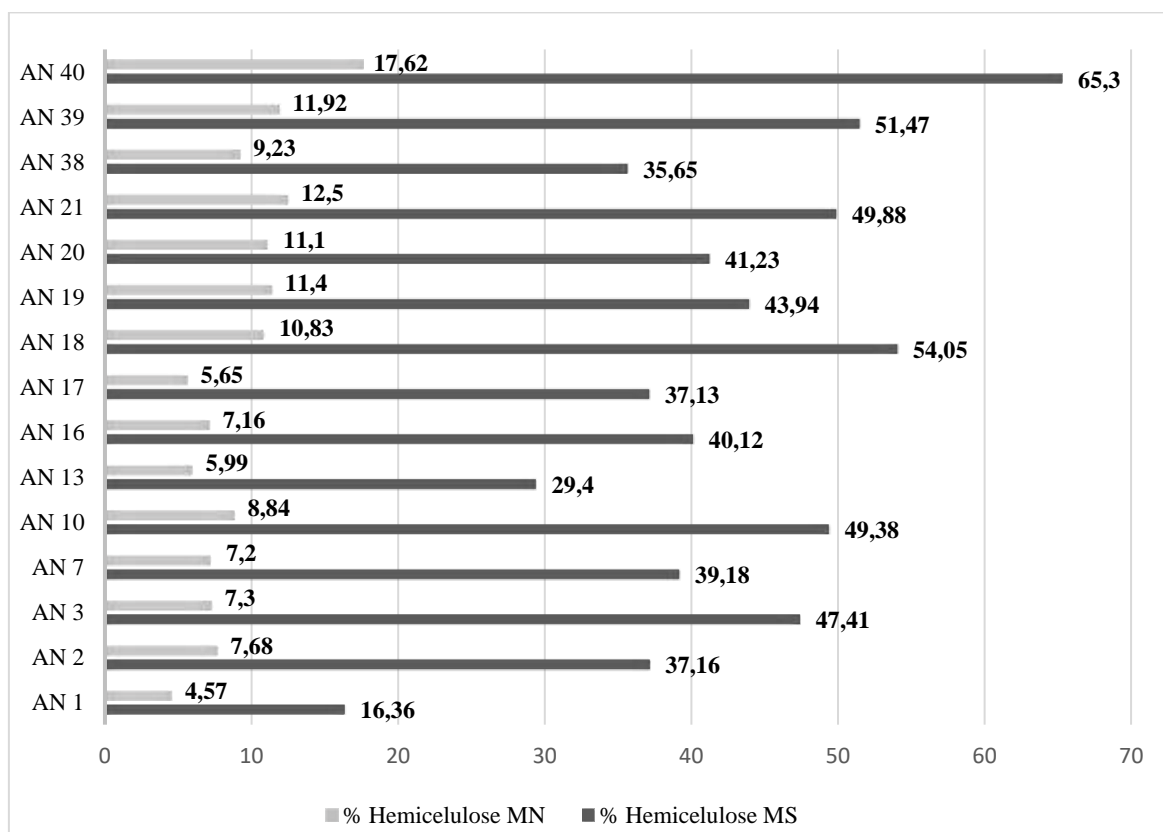


Figura 15. Gráfico demonstrativo do teor de hemicelulose na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães.

Apesar de a análise de fibra mais recomendada para dieta de cães ser Fibra Dietética Total (FDT) (NRC, 2006), o trabalho de De Oliveira *et al.* (2011) demonstrou uma correlação entre os valores de FDT e FDN, justificando a realização desta no presente trabalho. A realização da análise de fibras por FDT é de custo mais elevado, o que inviabilizou a realização da mesma. De Oliveira *et al.* (2011) também encontraram um valor médio de 53% de digestibilidade aparente para FDN.

Analisando a figura 16 com os valores de FDA das amostras, a AN 38 sobressaiu com resultados pelos menos duas vezes maiores do que as demais. Isso revela um alto teor de fibras insolúveis na dieta. Em sua apresentação, foi destacado que possuía 90% de carne, além de vegetais selecionados e livre de grãos. Na composição, as prováveis fontes de fibra são batata doce, cenoura, fécula de mandioca. Com isso, apesar do alto teor de proteína relatado e comprovado conforme mostra a figura 13, pode ter sua digestibilidade afetada negativamente pelo alto teor de celulose (Kienzle *et al.*, 2001).

A maioria das amostras analisadas apresentam grande quantidade de vegetais como fonte de fibras. A AN 01, que teve especificada sua composição, apresentou os menores valores nas três análises de fibras, o que sugere baixa composição de alimentos fibrosos. O único ingrediente informado foi a utilização de farelo de trigo para dar textura do alimento e permitir seu formato em barra.

5.2.5 Matéria Mineral

A alta densidade energética observada pelos altos teores de EE encontrados e discutidos no item 5.2.3 coloca em discussão o teor de minerais que será ingerida pelo animal. A recomendação é que o balanceamento das dietas seja feito através do valor de energia metabolizável, e não pelo teor em MS para evitar erros de manejo, sejam eles excessos ou deficiências (Pereira *et al.*, 2018). A figura 18 ilustra a porcentagem de MM na MS encontrados nas amostras.

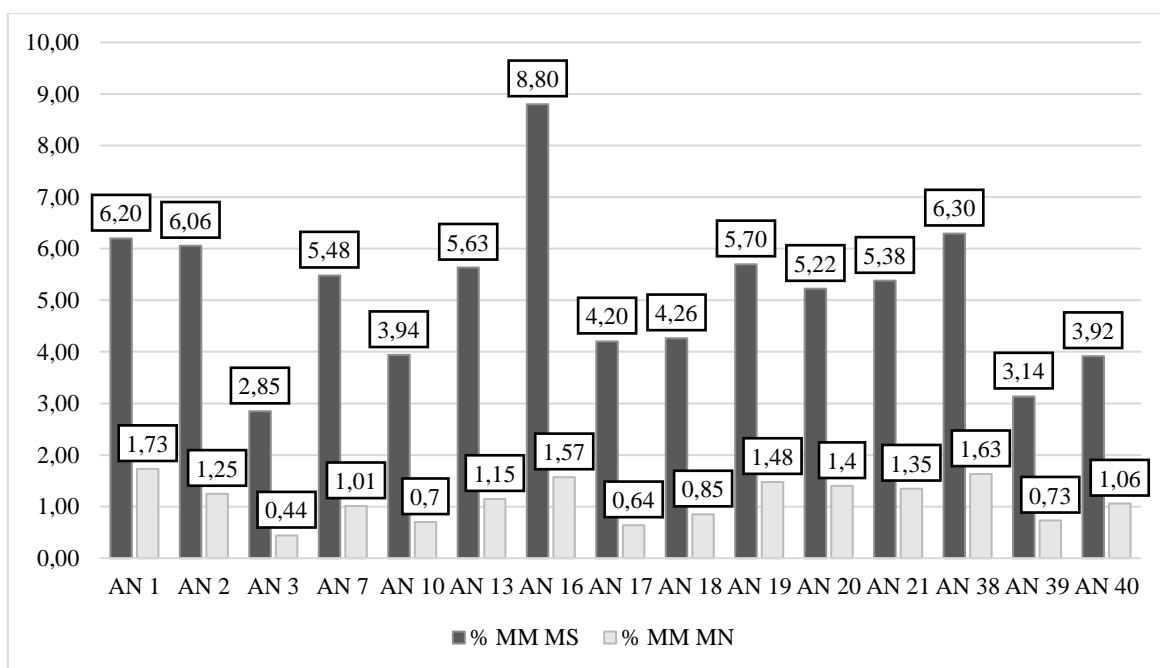


Figura 16. Gráfico demonstrativo do teor de matéria mineral na matéria seca e matéria natural (%) das amostras de alimentos não convencionais para cães.

A amostra AN 16, com maior teor de MM encontrado (8,53%), só indicou uso de farinha de casca ovo e sal marinho como suplementação mineral. O teor de MM encontrado pode ser devido à grande quantidade desses suplementos, principalmente a farinha de casca de ovo, conforme observado no item 5.5.5.1, onde serão discutidos os teores de Ca e P.

A utilização de sal rosa do Himalaia foi observada em 20% (3/15) em amostras de empresas que declararam seus ingredientes. Seu uso está relacionado com um conceito de saúde, principalmente por conter menor concentração de sódio. Não há estudos do uso desse tipo de sal *gourmet* em cães, porém Broadway *et al.* (2011) não encontraram diferença significativa ($P>0,05$) entre o teor de sódio presente em peito de frango marinado com diversos tipos de sal, sugerindo que a utilização desse, pode não fazer diferença na prática. Além disso, cães saudáveis e com acesso à água suportam maiores teores de sódio na dieta sem repercussão clínica, diferentemente do que acontece em humanos e suínos (NRC, 2006).

5.2.5.1 Cálcio e Fósforo

Somente três amostras apresentaram valores de Ca superiores aos de P, sendo que dessas apenas uma, a AN 07, ficou dentro da relação Ca:P recomendada (mínimo de 1:1 e máximo de 2:1) de acordo com FEDIAF (2020). Os valores de Ca e P encontrados nas amostras estão na Figura 19 e a relação Ca:P das dietas estão Figura 20. São resultados já esperados devido à natureza dos ingredientes, que possuem alto valor de fósforo em sua composição (Remillard e Crane, 2011).

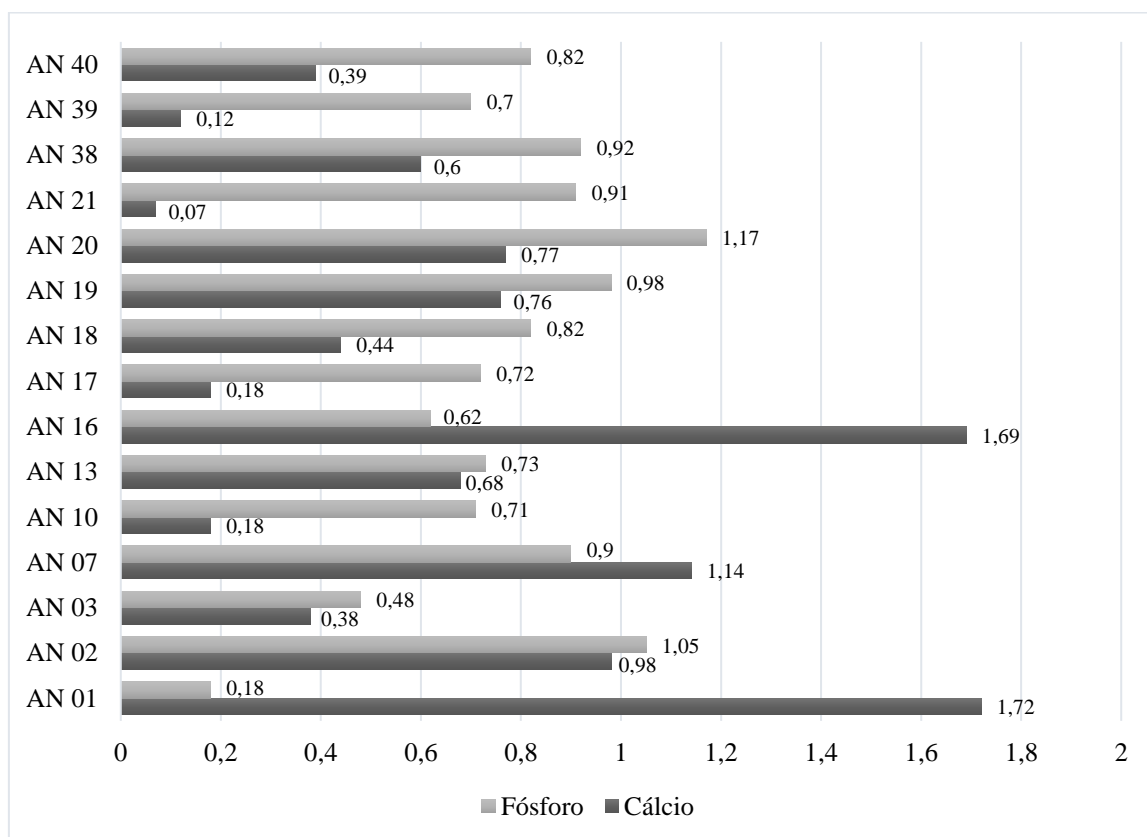


Figura 17. Gráfico demonstrativo de valores de cálcio e fósforo das amostras de alimentos não convencionais para cães.

Dentre as fontes de suplementação das amostras estudadas, quando informadas, estavam: farinha de casca de ovo (AN 16 e AN 17), carbonato de cálcio (AN 03), suplemento comercial para balancear dieta caseira para cães (AN 02 e AN 13), e alguns não citaram qual a fonte, mas estava descrito na composição (AN 07, AN 19 e AN 38). Cinco empresas não informaram sobre suplementação em seus produtos e duas empresas (AN 21 e AN 39), que fizeram a partir da prescrição não adicionavam o suplemento no produto. Portanto, os valores encontrados para as amostras AN 21 e AN 39 são os mesmos que o animal iria ingerir, com a relação Ca:P extremamente baixa (0,08:1 e 0,17:1, respectivamente), caso o proprietário não adicionasse a suplementação prescrita, como já descrito a possibilidade de isso acontecer por Oliveira *et al.* (2014).

Durante a análise macroscópica das amostras, após secar e moer, foi possível observar pontos brancos sugerindo ser a fonte de Ca dessas dietas, nas amostras AN 03, AN 16 e AN 18. Isso coloca em dúvida a biodisponibilidade do Ca adicionado nessas dietas para os cães, devido à falta de informação com relação ao processamento da farinha de casca de ovo, além da granulometria e sua relação com a taxa de absorção para o animal. A alta concentração de fósforo nas amostras provavelmente é devida à grande inclusão de carnes frescas em sua composição, que contém alto teor desse mineral (Crane *et al.*, 2011). Brunetto *et al.* (2019) identificaram excesso de fósforo em rações úmidas comerciais, relacionando também ao excesso de carnes frescas quando comparado com dietas secas extrusadas.

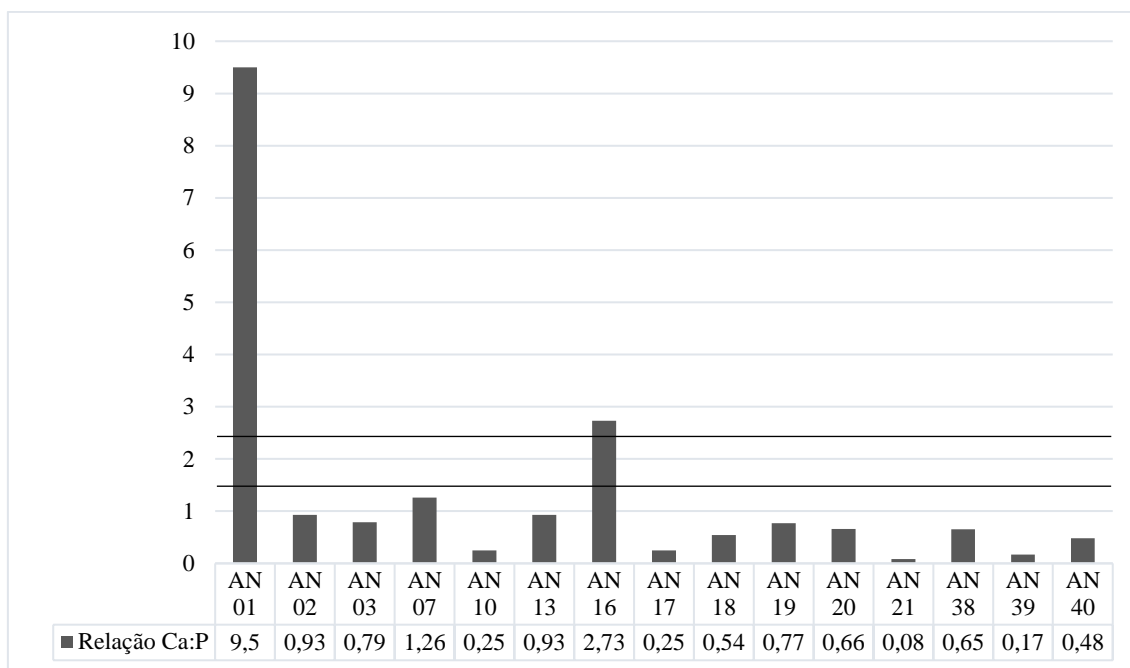


Figura 18. Gráfico demonstrativo da relação cálcio:fósforo das amostras de alimentos não convencionais para cães.

A inadequada relação entre Ca:P em 93% (14/15) das amostras e abaixo do mínimo recomendado em 80% (12/15) ilustra o risco de oferecer um alimento não convencional sem uma adequada formulação e orientação. Pedrinelli *et al.* (2017) fizeram um estudo analisando receitas de dietas não convencionais disponíveis na internet e também encontraram um alto número de dietas não balanceadas, com 73,2% das receitas com valores de Ca abaixo do recomendado, sendo essa porcentagem próxima da encontrada neste estudo. A relação inadequada entre Ca:P já foi descrita em rações comerciais secas, a despeito do que era informado em rótulo (Davies *et al.*, 2017; Kazimierska *et al.*, 2020).

As amostras AN 01 e AN 16 apresentaram a relação Ca:P superior ao valor máximo recomendado pelo FEDIAF (2020) que é de até 2:1. A amostra AN 01 não especificou sua composição, então não foi possível definir o que poderia ter levado a uma relação tão desproporcional de 9,5:1. Já na amostra AN 16, foi informada a adição de farinha da casca de ovo, mas não havia informações sobre os níveis de garantia, sugerindo que não há um controle de quantidade adequado do quanto adicionar de suplemento à alimentação.

5.3 Pesquisa microbiológica

5.3.1 Pesquisa micológica

Foram isolados os seguintes microrganismos: *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp, *Cladosporium* sp, *Deuteromycota*, *Paecilomyces* sp, *Rhizopus* sp, *Zygomycota* em alimentos não convencionais para cães. A frequência de isolamento está ilustrada na figura 10.

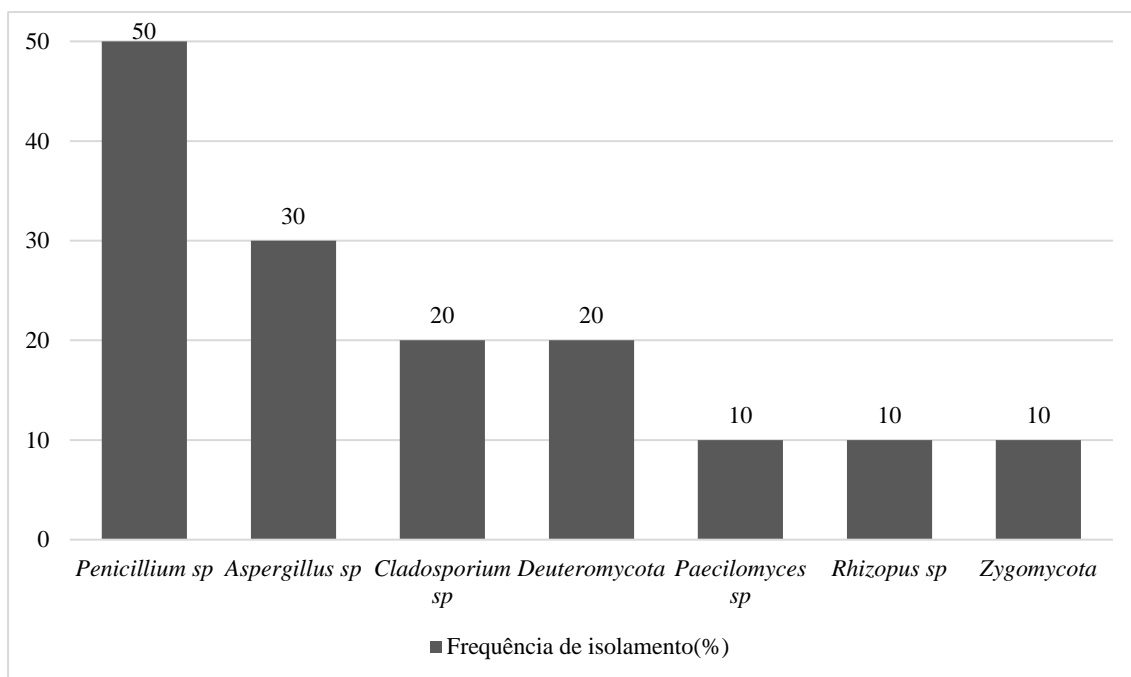


Figura 19. Frequência de isolamento, em porcentagem, dos gêneros fúngicos isolados das amostras de alimentos não convencionais para cães.

Das 12 amostras analisadas, somente em uma (AN 10) não houve crescimento fúngico, sendo que em 58% do total de amostras analisadas cresceram fungos micotoxigênicos. Na amostra AN 09, em que foi identificado um fungo do filo *Deuteromycota* também foi identificada a micotoxina T-2, apesar de não haver correlação direta entre si. Foram isolados fungos de mais de um gênero na mesma amostra, como *Penicillium* sp e *Aspergillus* sp, sinalizando gravidade, pois sabe-se que esses fungos, em condições ideais, podem produzir micotoxinas de importância clínica conhecida para os cães, a exemplo das aflatoxinas, zearalenona e ocratoxinas (De Brito, 2011) porém, apesar do potencial de produção de micotoxinas, estas não foram identificadas nas amostras que foram isolados os fungos. A maior frequência de isolamento de fungos do gênero *Penicillium* sp e *Aspergillus* sp também foi observada por Martins *et al* (2003), em amostras de alimentos secos para animais de companhia.

O estudo de Campos *et al.* (2008) que foi realizado com matérias primas e o alimento seco pronto para animais de estimação, observaram uma diminuição da contagem fúngica no

alimento pronto, em comparação com os isolados da matéria prima, fato esse que pode ser explicado pelo processo de peletização que esses alimentos foram submetidos, diminuindo a contagem micológica. As amostras do presente estudo passaram apenas por processo de cozimento caseiro, sem padronização de tempo e temperatura a que foram expostos, o que pode justificar a identificação de fungos em mais de 90% das amostras analisadas.

5.3.2 Pesquisa bacteriológica

Somente a amostra AN 1 foi encaminhada à pesquisa microbiológica, por ser resfriada. Foram identificadas *Enterobacter cloacae* e *Buttiauxella* sp, que cresceram tanto em ágar sangue 5% quanto ágar MacConkey. A bactéria *Enterobacter cloacae* é descrita em infecções humanas e de pequenos animais e, é considerada uma bactéria resistente à antibióticos (CABRAL, 2016). As infecções mais comuns são em trato urinário e pele, e também pode contribuir para o óbito em animais hospitalizados, conforme descrito por Weese (2008).

As bactérias do gênero *Buttiauxella* pertencem à família Enterobacteriaceae (Spröer et al, 1999). No estudo de Werner *et al.* (2021), foi isolada a bactéria *Buttiauxella ferragutiae* nas fezes de um cão com diarreia crônica. Aparentemente, não possui importância clínica para cães e para humanos, com raros estudos sobre a repercussão clínica da infecção (Patra *et al.*, 2018).

5.5 Micotoxinas

Foi identificada a presença de micotoxinas em 27% das amostras analisadas (Figura 9). O tricoteceno T-2 foi a micotoxina de maior frequência nesse estudo, presente em 10 amostras de alimentos não convencionais para cães (23%), correspondendo 83,3% das amostras positivas.

Foram detectadas aflatoxinas em duas amostras (4%). Nas tabelas 2 e 3 estão os valores encontrados e a composição de cada alimento.

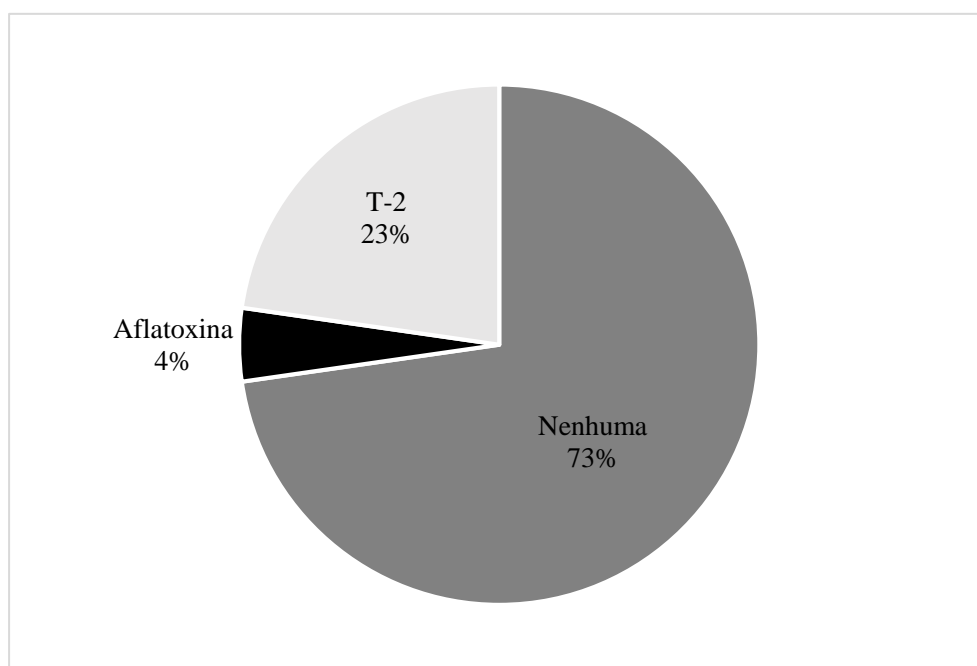


Figura 20. Gráfico com o percentual de amostras de alimentos não convencionais para cães que foram pesquisadas micotoxinas.

Tabela 2. Amostras de alimentos não convencionais para cães positivas para T-2 e sua composição

Amostra	Quantidade	Composição do alimento
AN 9	<LoQ	Água, fígado suíno, CMS de frango, carne industrial bovina, arroz integral, batata doce, extrato de tomate, plasma sanguíneo bovino, goma xantana, zeolita, aroma natural de carne.
AN 21	24,1	Arroz integral, batata doce, fígado bovino, filé de frango, abóbora moranga, abobrinha italiana, cenoura, brócolis, azeite de oliva extravirgem (prescrição enviada).
AN 23	89,75	Macarrão de arroz, músculo bovino, fígado bovino, coração bovino, cenoura, batata baroa, abobrinha italiana, brócolis, couve pimentão amarelo, farelo de aveia, azeite de oliva, óleo de coco, salsinha, gengibre, sal rosa do Himalaia, suplemento vitamínico-mineral.
AN 24	105,27	Batata doce, filé de tilápia, inhame, cenoura, abobrinha italiana, couve, brócolis, pimentão amarelo, farelo de aveia,

		azeite de oliva, óleo de coco, salsinha, gengibre, sal rosa do Himalaia, suplemento vitamínico-mineral.
AN 25	29,98	Arroz branco, arroz integral, moela de frango, fígado de frango, coração de frango, batata baroa, cenoura, abobrinha italiana, couve, brócolis, farelo de aveia, azeite de oliva, óleo de coco, salsinha, gengibre, sal rosa do Himalaia, suplemento vitamínico-mineral.
AN 26	22,46	Mandioca, lombo suíno magro, coração bovino, cenoura, batata baroa, inhame, abobrinha italiana, couve, brócolis, farelo de aveia, salsinha, gengibre, sal rosa do Himalaia, suplemento vitamínico-mineral.
AN 27	39,03	Arroz branco, arroz integral, músculo bovino, coração bovino, fígado bovino, batata baroa, cenoura, abobrinha italiana, couve, brócolis, farelo de aveia, azeite de oliva, óleo de coco, salsinha, gengibre, sal rosa do Himalaia, suplemento vitamínico-mineral.
AN 29	38,83	Carne bovina, arroz integral, inhame, cenoura, abobrinha, brócolis, fígado.
AN 30	46,31	Carne suína, arroz integral, batata doce, abóbora, abobrinha, couve, fígado.
AN 43	<LoQ	Coração Bovino, Arroz Integral, Batata Doce, Chuchu, Cenoura, Beterraba, Fígado Bovino, Vagem, Gengibre, Cálcio, Azeite Extra Virgem e Sal Rosa do Himalaia.

Tabela 3. Amostras de alimentos não convencionais para cães positivas para AFLA e sua composição

Amostra	Quantidade	Composição do alimento
AN 40	1,02	Carne bovina, frango, legumes (não informado).
AN 41	1,55	Carne bovina, couve, açafrão/cúrcuma, sal marinho, óleo de girassol, óleo de coco, ervas e especiarias, chuchu, arroz integral/branco, batata doce, abóbora, abobrinha, cenoura, farinha de casca de ovos.

Este é o primeiro trabalho que pesquisou a presença de micotoxinas em alimentos não convencionais para cães. Há relatos de estudos em vários países somente sobre a presença de

micotoxinas em alimentos industrializados convencionais para cães (Martínez-Martínez *et al.*, 2021). Tegzes *et al.* (2019) pesquisaram a presença de micotoxinas em dietas comerciais úmidas e não detectaram a presença em nenhuma amostra, assim como em dietas secas “*grain free*”. Sabe-se que, tanto o teor de umidade como a matéria-prima podem influenciar os fungos na produção de micotoxinas.

O atual estudo encontrou baixa prevalência de aflatoxinas nas amostras (4%), ao contrário do observado em trabalhos com dietas comerciais secas (Singh e Chuturgoon, 2017; Akinrinmade e Akinrinde, 2012). As quantidades encontradas no atual estudo, apesar de baixas, são importantes devido a possibilidade de efeito deletério a partir da ingestão crônica dessas micotoxinas (Zain, 2011).

Das 10 amostras positivas para T-2, cinco foram de uma mesma empresa, com diferentes opções, sendo o farelo de aveia o ingrediente em comum entre elas. A aveia é um dos alimentos com maior quantidade de micotoxina T-2, o que pode ter contribuído para o resultado encontrado (EFSA, 2011).

A detecção de T-2 em maior quantidade nesse estudo é similar ao encontrado por Błajet-Kosicka *et al.* (2014), que relataram que das 20 amostras de rações secas para cães adultos, avaliadas pelo método de cromatografia líquida, 17 estavam contaminadas por essa micotoxina. Entretanto, Tegzes *et al.* (2019), não foi encontraram a micotoxina T-2 nas amostras analisadas.

Não há muitos estudos acerca dos efeitos da T-2 em cães. Em 1987, Bubien e Woods Jr. demonstraram o efeito tóxico sobre o sistema cardiovascular de cães, levando à hipotensão e taquicardia após injeção intravenosa de 2 mg/kg de toxina T-2. Deloach *et al.* (1989) relataram a destruição de eritrócitos de cães, após colocarem o sangue de cão em contato com a toxina T-2. Sintov *et al.* (1987) observaram que a metabolização da T2 em HT-2 foi rápida após injetar por via intravenosa a toxina. Sua eliminação se dá através das fezes e urina (Matsumoto *et al.*, 1978; Sintov *et al.*, 1987).

Este foi o primeiro estudo que analisou alimentos não convencionais comercializados para cães, com pesquisa de micotoxinas e análise bromatológica, e contribui para aumentar o conhecimento acerca desse tipo de alimento.

6. CONCLUSÕES

O fornecimento de alimentos não convencionais para cães adultos, provindos de empresas, podem levar a deficiências nutricionais e não é isento de risco micotoxicológico.

Houve uma falta de padrão na formulação das dietas e não foram adequadamente suplementadas.

Foi constatada não conformidade em duas amostras, com menos conteúdo na embalagem do que o informado na rotulagem.

Houve presença de micotoxinas, além da identificação de fungos micotoxigênicos em algumas amostras analisadas.

A brecha da nova legislação, que permite a abertura e funcionamento de empresas que comercializam esses produtos sem necessidade de registro e, conseqüentemente de fiscalização, poderá acarretar em um aumento dos riscos nutricionais e microbiológicos.

7. PERSPECTIVAS

Este estudo promove novas perspectivas de pesquisa sobre os alimentos não convencionais para cães, abrindo caminho para novas pesquisas sobre o tema, podendo ser explorado outras linhas de pesquisa como presença de metais tóxicos e pesticidas nestes produtos comercializados como naturais, além de ser possível aumentar as amostras referentes a pesquisa microbiológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. Official methods of analysis. **Association of Official Analytical Chemists**. 15.ed. Arlington, VA. 2000.
- AKINRINMADE, J. F.; AKINRINDE, A. S. Aflatoxin status of some commercial dry dog foods in Ibadan, Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.52, p. 11463-11467, 2012.
- ANFOSSI, L.; GIOVANNOLI, C.; BAGGIANI, C. Mycotoxin detection. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 37, p. 120-126, 2016.
- ARCELLA, D.; GERGLOVA, P.; INNOCENTI, M. L. *et al.* Human and animal dietary exposure to T-2 and HT-2 toxin. **EFSA Journal**, v.15, n.8, 57p., 2017.
- BALACHANDRAN, R.; EHRHART, L. A. Metabolic interactions among polyunsaturated fatty acids in response to an atherogenic diet. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.149, n.1, p.29-34, 1975.
- BECKER, N.; DILLITZER, N.; SALTER-LOUIS, C.; *et al.* Feeding of dogs and cats in germany. **Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere**, v. 40, n. 6, p. 391-397, 2012.
- BEHRAVESH, C. B.; FERRARO, A.; DEASY 3rd, M. *et al.* Human Salmonella infections linked to contaminated dry dog and cat food, 2006-2008. **Pediatrics**, v. 126, n. 3, p. 477-483, 2010.
- BENNET, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, p. 497–516, 2003.
- BIANCO, A. V.; ABOOD, S.; MUTSAERS, A. *et al.* Unconventional diets and nutritional supplements are more common in dogs with cancer compared to healthy dogs: An online global survey of 345 dog owners. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 4, p. 706-717, 2020.
- BINGHAM, A. K.; HUEBNER, H. J.; PHILLIPS, T. D. *et al.* Identification and reduction of urinary aflatoxin metabolites in dogs. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 11, p. 1851-1858, 2004.
- BISSOQUI, L. Y.; FREHSE, M. S.; FREIRE, R. L. *et al.* Exposure assessment of dogs to mycotoxins through consumption of dry feed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n.12, p. 4135-4142, 2016.
- BŁAJET-KOSICKA, A.; KOSICKI, R.; TWARUŻEK, M. *et al.* Determination of moulds and mycotoxins in dry dog and cat food using liquid chromatography with mass spectrometry and fluorescence detection, **Food Additives & Contaminants: Part B**, v.7, n.4, p. 302-308, 2014.
- BLOUNT, W. P. Turkey “X” disease. **Conference Papers**, p. 52-67, 1961.
- BÖHM, J.; KOINIG, L.; RAZZAZI-FAZELI, E. *et al.* Survey and risk assessment of the mycotoxins deoxynivalenol, zearalenone, fumonisins, ochratoxin A, and aflatoxins in commercial dry dog food. **Mycotoxin Research**, v. 26, n. 3, p. 147-153, 2010.
- BOERMANS, H. J.; LEUNG, M. C. K. Mycotoxins and the pet food industry: Toxicological evidence and risk assessment. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, p.95-102, 2007.

BRASIL. DECRETO Nº 7.045, DE 22 DE DEZEMBRO DE 2009. **Altera, acresce e revoga dispositivos do Decreto nº 6.296, de 11 de dezembro de 2007.** Brasília, DF. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/decreto-no-7-045-de-22-de-dezembro-de-2009.pdf>. Acessado em: 20 ago 2019.

BRASIL. PORTARIA Nº 196, DE 08 DE JANEIRO DE 2021. **Estabelece os níveis de classificação de risco de atividades econômicas dependentes de atos públicos de liberação sob a responsabilidade da Secretaria de Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, assim como os prazos para sua aprovação tácita.** Brasília, DF. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-196-de-8-de-janeiro-de-2021-298352982>. Acesso em: 14 abr 2021.

BROADWAY, P. R.; BEHREND, J. M.; SCHILLING, M. W. Effect of alternative salt use on broiler breast meat yields, tenderness, flavor, and sodium concentration. **Poultry Science**, v. 90, n. 12, p.2869-2873, 2011.

BRUCHIM, Y.; SEGEV, G.; SELA, U. *et al.* Accidental fatal aflatoxicosis due to contaminated commercial diet in 50 dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 279-287, 2012.

BRUNETTO, M. A.; ZAFALON, R. V. A.; TEIXEIRA, F. A. Phosphorus and sodium contents in commercial wet foods for dogs and cats. **Veterinary Medicine and Science**, v. 5, p. 494–499, 2019.

BUBIEN, J. K.; WOODS JR, W. T. Direct and reflex cardiovascular effects of trichothecene mycotoxins. **Toxicon**, v. 25, n. 3, p. 325-331, 1987.

BUCKLAY, C.; COLYER, A.; SKRZYWANEK, M. *et al.* The impact of home-prepared diets and home oral hygiene on oral health in cats and dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 106 Suppl 1:S124-7, 2011.

BUENO, D. J.; SILVA, J. O.; OLIVER, G. Mycoflora in Commercial Pet Foods. **Journal of Food Protection**, v. 64, n.5, p.741-3, 2001.

BULLERMAN, L. B.; BIANCHINI, A. Stability of mycotoxins during food processing. **International Journal of Food Microbiology**, v.119, n. 1-2, p.140–146, 2007.

BULLERMAN, L.B.; BIANCHINI, A. Stability of mycotoxins during food processing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, p. 140-146, 2007.

CABRAL, A. B. **Caracterização genética de isolados clínicos de *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter cloacae*: determinantes de resistência e virulência.** Tese (Doutorado em Medicina Tropical) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

CAMPOS, S. G.; CAVAGLIERI, L. R.; FERNÁNDEZ JURI, M. G. *et al.* Mycobiota and aflatoxins in raw materials and pet food in Brazil. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, p. 377–383, 2008.

CDCP - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Update: recall of dry dog and cat food products associated with human *Salmonella schwarzengrund* infections: United States. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, n. 57, p. 1200-1202, 2008.

CONNOLLY, K. M.; HEINZE, C. R.; FREEMAN, L. M. Feeding practices of dog breeders in the United States and Canada. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 245, n. 6, p. 669-676, 2014.

- COOPER, R. A.; LESLIE, M. H.; KNIGHT, D. *et al.* Red cell cholesterol enrichment and spur cell anemia in dogs fed a cholesterol-enriched atherogenic diet. **Journal of Lipid Research**, v. 21, n. 8, p.1082-9, 1980.
- CRANE, S. W.; COWELL, C. S.; STOUT, N. P. *et al.* Commercial pet foods. In HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L. *et al.* **Small Animal Clinical Nutrition**, 5.ed., Topeka, KS: Mark Morris Institute, p. 157–190, 2011.
- DAVIES, M.; ALBOROUGH, R.; JONES, L. *et al.* Mineral analysis of complete dog and cat foods in the UK and compliance with European guidelines. **Scientific Reports**, v. 7, n. 17107, 7p., 2017.
- DE BRITO, A. F., 2011. Cap. 10 Toxinas bacterianas e fúngica. In: NOGUEIRA, R. M. B.; ANDRADE, S. F. **Manual de Toxicologia Veterinária**, 1.ed., São Paulo: Ed. Roca, 2011, p. 211.
- DEBRAEKELEER, J.; GROSS, K. L.; ZICKER, S. C. Introduction to Feeding Normal Dogs. In: HAND, M.S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L. *et al.* **Small Animal Clinical Nutrition**. 5.ed. Mark Morris Institute: Topeka, 2010. Cap.12. p. 251-255.
- DELOACH, J. R.; GYONGYOSSY-ISSA, M. I. C.; KHACHATOURIANS, G. G. Species-Specific Hemolysis of Erythrocytes by T-2 Toxin. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.97, n. 1, p.107- 112, 1989.
- DIQUÉLOU, A.; CHAPUT, C.; BENOIT, E. *et al.* Hypocalcaemia due to nutritional calcium deficiency and hypoparathyroidism in an adult dog. **Veterinary Record**, v. 156, p. 45-48, 2005.
- DOBSON, R. L. M.; MOTLAGH, S.; QUIJANO, M. *et al.* Identification and Characterization of Toxicity of Contaminants in Pet Food Leading to an Outbreak of Renal Toxicity in Cats and Dogs. **Toxicological sciences**, v. 106, n. 1, p. 251–262, 2008.
- DODD, S.; BARRY, M.; CAITLIN, G. *et al.* Abnormal bone mineralization in a puppy fed an imbalanced raw meat homemade diet diagnosed and monitored using dual-energy X-ray absorptiometry. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, p. 1–8, 2019.
- European Commission (EC). Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium-toxins Part 5: T-2 toxin and HT-2 toxin. **European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General**, 2001. Disponível em: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_out88_en.pdf f. Acesso em: 8 abr. 2021.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. **EFSA Journal**, v. 9, n. 12, Parma, 2011. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2481>. Acesso em: 10 abr. 2021.
- FEDIAF. **Nutrition Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs**. Brussels: Fédération Européenne de l'Industrie des Aliments pour Animaux Familiers, 2020.
- FINLEY, R.; RIBBLE, C.; ARAMINI, J. *et al.* The risk of salmonellae shedding by dogs fed Salmonella-contaminated commercial raw food diets. **Canadian Veterinary Journal**, v.48, n.1, p.69-75, 2007.
- Food and Drug Administration (FDA). Water Activity (aw) in Foods. **Dept. of Health, Education, and Welfare Public Health Service Food and Drug Administration**, 2014.

Disponível em: <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-technical-guides/water-activity-aw-foods>. Acesso em: 25 abr 2021.

FOROUD, N. A.; BAINES, D.; GAGKAEVA, T. Y. *et al.* Trichothecenes in Cereal Grains – An Update. *Toxins (Basel)*, v. 11, n. 11, p. 634-682, 2019.

FREEMAN, L.; BECVAROVA, I.; CAVE, N. *et al.* WSAVA Nutritional Assessment Guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. v.13, p.516–525, 2011.

FREHSE, M. S.; MARTINS, M. I. M.; ONO, E. Y. S. *et al.* Aflatoxins ingestion and canine mammary tumors: There is an association? *Food and Chemical Toxicology*, v. 84, p. 74-78, 2015.

GAZZOTTI, T.; BIAGI, G.; PAGLIUCA, G. *et al.* Occurrence of mycotoxins in extruded commercial dog food. *Animal Feed Science and Technology*, v. 202, p. 81–89, 2015.

GERMAN, A. J. The growing problem of obesity in dogs and cats. *Journal of Nutrition*, v. 136, 7 Suppl, p. 1940S-1946S, 2006.

GERSTNER, K.; LIESEGANG, A. Management of a growing dog with renal failure fed a homemade diet. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, v.158, n.12, p.834-836, 2016.

GIACOMETTI, F.; MAGAROTTO, J.; SERRAINO, A. *et al.* Highly suspected cases of salmonellosis in two cats fed with a commercial raw meat-based diet: health risks to animals and zoonotic implications. *BMC Veterinary Research*, v.13, p.224, 2017.

GOLINSKY, P.K.; NOWAK, T. Dietary origin of mycotoxins with estrogenic potential and possible health implications to female dogs. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v. 7, n. 4, p. 337-41, 2004.

GRANDE, F.; SCHULTZ, A. Effect of coconut oil on serum lipids of normal and of thyroidectomized dogs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, v. 121, n. 4, p. 1107-1110, 1996.

GUTERRES, K.; SILVA, C.; GIORDANI, C. *et al.* Surto de aflatoxicose aguda em cães no município de Pelotas/RS. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 11, p. 1281-1286, 2017.

HALFEN, D. P.; OBA, P. M.; DUARTE, C. N. *et al.* Tutores de cães consideram a dieta caseira como adequada, mas alteram as fórmulas prescritas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 12, p. 1453-1459, 2017.

HUGHES, D. M.; GAHL, M. J.; GRAHAM, C. H. *et al.* Overt Signs of Toxicity to Dogs and Cats of Dietary Deoxynivalenol. *Journal of Animal Science*, v. 77, p. 693–700, 1999.

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

JAFFEY, J. A., BACKUS, R. C.; SPRINKLE, M. *et al.* Successful long-term management of canine superficial necrolytic dermatitis with amino acid infusions and nutritionally balanced home-made diet modification. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 7, n. 28, 2020.

JONES, J. L.; WANG, L.; CERIC, O. *et al.* Whole genome sequencing confirms source of pathogens associated with bacterial foodborne illness in pets fed raw pet food. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.31, n.2, p.235-240, 2019.

KAZIMIERSKA, K.; BIEL, W.; WITKOWICZ, R. Mineral Composition of Cereal and Cereal-Free Dry Dog Foods versus Nutritional Guidelines. *Molecules*, v. 25, n. 21, p. 5173-5197, 2020.

- KELLER, L.A.M.; GONZALEZ PEREYRA, M.L.; KELLER, K.M. et al. Fungal and mycotoxins contamination in corn silage: Monitoring risk before and after fermentation. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, p. 42-47, 2013.
- KIENZLE, E.; DOBENECKER, B.; EBER, S. Effect of cellulose on the digestibility of high starch versus high fat diets in dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, n. 5-6, p. 174-185, 2001.
- MACKEI, M.; ORBÁN, K.; MOLNÁR, A. *et al.* Cellular Effects of T-2 Toxin on Primary Hepatic Cell Culture Models of Chickens. **Toxins**, v. 12, n. 1, p. 46-60, 2020.
- MAHLEY, R.; NELSON, A. W.; FERRANS, V. J. *et al.* Thrombosis in association with atherosclerosis induced by dietary perturbations in dogs. **Science**, v. 192, n. 4244, p. 1139-41, 1976.
- MAIA, P. P.; DE SIQUEIRA, M. E. P. B. Occurrence of aflatoxins B 1, B 2, G1 and G2 in some Brazilian pet foods. **Food Additives & Contaminants**, v. 19, n. 12, p.1180-1183, 2002.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; VALDIVIA-FLORES, A. G.; GUERRERO-BARRERA, A. L. *et al.* Toxic Effect of Aflatoxins in Dogs Fed Contaminated Commercial Dry Feed: A Review. **Toxins**, v. 13, n. 65, p. 65-79, 2021.
- MARTINS, L. M.; MARTINS, H. M.; BERNARDO, F. Fungal flora and mycotoxins detection in commercial pet food. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 98, p. 179-183, 2003.
- MARX, F. R. **Uso do óleo de soja e sebo bovino sobre a digestibilidade da dieta, perfil bioquímico e consistência fecal de cães adultos.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 76p., 2012.
- MASINO, S. A.; FREEDGOOD, N. R.; REICHERT, H. R. *et al.* Dietary intervention for canine epilepsy: Two case reports. **Epilepsia Open**, v. 4, n. 1, p. 193-199, 2019.
- MATSUMOTO, H.; ITO, T.; UENO, Y. Toxicological approaches to the metabolites of fusaria. XII. Fate and distribution of T-2 toxin in mice. **The Japanese Journal of Experimental Medicine**, v. 48, n. 5, p. 393-399, 1978.
- MELO, M. G.; MIZUGUTI, P.; MARTINS, G. H. *et al.* Composição bromatológica e qualidade nutricional das rações secas para cães. **Arquivos de Pesquisa Animal**, v.1, n.1, p. 12-18, 2014.
- MUZOLON, P. **Micotoxicoses em cães.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008, 94p.
- NDOSSI, D. G.; FRIZZELL, C.; TREMOEN, N. H. *et al.* An in vitro investigation of endocrine disrupting effects of trichothecenes deoxynivalenol (DON), T-2 and HT-2 toxins. **Toxicology Letters**, v. 214, p. 268–278, 2012.
- NEMSER, S.M.; DORAN, T.; GRABENSTEIN, M. *et al.* Investigation of Listeria, Salmonella, and toxigenic Escherichia coli in various pet foods. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.11, n.9, p.706-709, 2014.
- NEWMAN, S. J.; SMITH, J. R.; STENSKE, K. A. *et al.* Aflatoxicosis in nine dogs after exposure to contaminated commercial dog food. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, p. 168–175, 2007.

- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. 2.ed. Washington, D.C.: The National Academies Press, 2006. 398p.
- OLIVEIRA, M. C. C.; BRUNETTO, M. A.; DA SILVA, F. L. *et al.* Evaluation of the owner's perception in the use of homemade diets for the nutritional management of dogs. **Journal of Nutritional Science**, v.3, e.23, p.1-5, 2014.
- PARR, J. M.; REMILLARD, R. L. Handling Alternative Dietary Requests from Pet Owners. **Veterinary Clinic of North America: Small Animal Practice**, v. 44, p. 667–688, 2014.
- PATRA, N.; PRAKASH, M. R.; PATIL, S. *et al.* First Case Report of Surgical Site Infection Due to *Buttiauxella agrestis* in a Neurocare Center in India. **Archives of Medicine and Health Sciences**, v. 6, n. 1, p. 117-119, 2018.
- PEDRINELLI, V.; GOMES, M. O. S.; CARCIOFI, A. C. Analysis of recipes of home-prepared diets for dogs and cats published in Portuguese. **Journal of Nutritional Science**, v. 6, e33, p. 1-5, 2017.
- PEDRINELLI, V.; ZAFALON, R. V. A.; RODRIGUES, R. B. A. *et al.* Concentrations of macronutrients, minerals and heavy metals in home-prepared diets for adult dogs and cats. **Scientific reports**, v. 9, p. 13058-13070, 2019.
- PEREIRA, M. L. G.; CARVALHO, E. P.; PRADO, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n.1, p; 141-156, 2002.
- PEREIRA, A. M.; PINTO, E.; MATOS, E. *et al.* Mineral composition of dry dog foods: impact on nutrition and potential toxicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 29, p. 7822-7830, 2018.
- PESTKA, J. J. Deoxynivalenol-Induced Proinflammatory Gene Expression: Mechanisms and Pathological Sequelae. **Toxins**, v.2, n. 6, p. 1300-1317, 2010.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. Cap. 2 – The ecology of fungal food spoilage. *In*: PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3.ed. London: Ed. Springer, 2009. p.3-9.
- PLEADIN, J.; FRECE, J.; MARKOV, K. Mycotoxins in food and feed. **Advances in Food and Nutrition Research**. v. 89, p. 297-345, 2019.
- RAZZAZI, E.; BÖHM, J.; GRAJEWSKI, J. *et al.* Residues of ochratoxin A in pet foods, canine and feline kidneys. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, p. 212- 216, 2001.
- REMILLARD, R. L. Homemade Diets: Attributes, Pitfalls, and a Call for Action. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 23, n. 3, p.137-42, 2008.
- REMILLARD, R. L.; CRANE, S. W. Making pet foods at home. *In* HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L. *et al.* **Small Animal Clinical Nutrition**, 5.ed., Topeka, KS: Mark Morris Institute, 2011. p. 207–223.
- RICHARD, J.L.; PAYNE, G.A.; DESJARDINS, A.E. *et al.* CAST, Council for Agricultural Science and Technology. **Mycotoxins: Risk in Plant, Animal and Human Systems**. Ames: Task Force Report, n. 139, 2003.199p.
- ROCHA, M. A. Biotecnologia na nutrição de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 42-48, 2008.
- RUMBEIHA, W. K. Clinical implications of mycotoxicosis in companion animals. **Technical Symposium on Mycotoxin**, Animal Health Diagnostic Laboratory, Michigan State

University, East Lansing, Michigan, USA, 2017. Disponível em: en.engormix.com/mycotoxins/articles/mycotoxicosis-in-companion-animals. Acesso em: 17 dez 2020.

SAAD, F. M. O. B.; FRANÇA, J. Alimentação natural para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 52-59, 2010.

SEGEV, G., FASCETTI, A. J.; WEETH, L. P. *et al.* Correction of Hyperkalemia in Dogs with Chronic Kidney Disease Consuming Commercial Renal Therapeutic Diets by a Potassium-Reduced Home-Prepared Diet. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 3, p. 546-50, 2010.

SHAO, M.; LI, L.; GU, Z. *et al.* Mycotoxins in commercial dry pet food in China. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 11, n. 4, p. 237-245, 2018.

SHMALBERG, J. Nutritional secondary hyperparathyroidism and taurine deficiency in a dog fed a home-prepared diet during Chinese food therapy. **American Association of Traditional Chinese Veterinary Medicine**, Gainesville, v. 8, n.1, 2013.

SILVA, D. J.; DE QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Ed. UFV: Viçosa, 2004. 235p.

SINGH, S. D.; ABDUL, N. S.; PHULUKDAREE, A. *et al.*, 2018. Toxicity assessment of mycotoxins extracted from contaminated commercial dog pelleted feed on canine blood mononuclear cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 114, p. 112–118, 2018.

SINGH, S. D.; CHUTURGOON, A. A. A comparative analysis of mycotoxin contamination of supermarket and premium brand pelleted dog food in Durban, South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 88, p. 1-6, 2017.

SINTOV, A.; BIALER, M.; YAGEN, B. Pharmacokinetics of T-2 tetraol, a urinary metabolite of the trichothecene mycotoxin, T-2 toxin, in dog. **Xenobiotica**, v. 17, n. 8, p. 941-950, 1987.

SMITH, M. C.; MADEC, S.; COTON, E. *et al.* Natural Co-Occurrence of Mycotoxins in Foods and Feeds and Their in vitro Combined Toxicological Effects. **Toxins**, v. 8, n.4, 2016.

SONGSEMSAKUL, P.; RAZZAZI-FAZELI, E.; BÖHM, J. *et al.* Occurrence of deoxynivalenol (DON) and ochratoxin A (OTA) in dog foods. **Mycotoxin Research**, v. 23, n. 2, p. 65-67, 2007.

SOUTO, P.; AUGUSTO, L.; DI GREGORIO, M. *et al.* Principais micotoxicoses em suínos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 3, p. 480-494, 2017.

SPRÖER, C.; MENDROCK, U.; SWIDERSKI, J. *et al.* The phylogenetic position of *Serratia*, *Buttiauxella* and some other genera of the family Enterobacteriaceae. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 49, p. 1433-1438, 1999.

STREIFF, E. L.; ZWISCHENBERGER, B.; BUTTERWICK, R. F. *et al.* A Comparison of the Nutritional Adequacy of Home-Prepared and Commercial Diets for Dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p. 1698-1700, 2002.

SWANSON, S. P.; HELASZEK, C.; BUCK, W. B. *et al.* The role of intestinal microflora in the metabolism of trichothecene mycotoxins. **Food and Chemical Toxicology**. v. 26, n. 10, p. 823-829, 1988.

- TAL, M.; PARR, J. M.; MACKENZIE, S. *et al.* Dietary imbalances in a large breed puppy, leading to compression fractures, vitamin D deficiency, and suspected nutritional secondary hyperparathyroidism. **Canadian Veterinary Journal**, v. 59, n. 1, p. 36-42, 2018.
- TAYLOR, M. B., GEIGER, D. A.; SAKER, K. E. *et al.* Diffuse osteopenia and myelopathy in a puppy fed a diet composed of an organic premix and raw ground beef. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 234, n. 8, p. 1041-1048, 2009.
- TEGZES, J. H.; OAKLEY, B. B.; BRENNAN, G. *et al.* Comparison of mycotoxin concentrations in grain versus grain-free dry and wet commercial dog foods. **Toxicology Communications**, v. 3, n. 1, p. 61-66, 2019.
- TIWARI B. K.; BRENNAN, C. S.; CURRAN, T. *et al.* Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 248-255, 2010.
- TREVIZAN, L.; KESSLER, A. M. Lipídeos na nutrição de cães e gatos: metabolismo, fontes e uso em dietas práticas e terapêuticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p.15-25, 2009.
- TURNER, N.W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 632, n.2, p. 168-180, 2009.
- USDA. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. **USDA National Nutrient Database for Standard Reference**, Release 21. Nutrient Data Laboratory Home Page. 2008. Disponível em: <https://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>. Acesso em: 20 abr 2021.
- VAN BREE, F. P. J.; BOKKEN, G. C. A. M.; MINEUR, R. *et al.* Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. **Veterinary record**, v. 182, n.2, p. 50-57, 2018.
- VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed and its application to forages. **Journal of Dairy Science**, v. 26, n. 1, p. 119-128, 1967.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarter polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P. J. Nonruminant herbivores. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2.ed. Cornell University Press: New York, 1994. p. 57-76
- VAN SOEST, P.J. Use of detergents in the analysis of fibrous feed. A rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of Official Analytical Chemist**, v.46, p.829-835, 1963.
- VENDRAMINI, T. H. A.; PEDRINELLI, V.; MACEDO, H. T. *et al.* Homemade versus extruded and wet commercial diets for dogs: Cost comparison. **Plos One**, v.15, n. 7, 11 p., 2020.
- VESONDER, R. F.; CIEGLER, A.; JENSEN, A. H. 1973. Isolation of the emetic principle from *Fusarium*-Infected corn. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n.6, p. 1008–1010, 1973.
- VIZZOTTO, T.; FELTES, M. M. C.; ROSA, A. D. *et al.* **Determinação de umidade e cinzas em diversas matrizes alimentares** (Ampliada e revisada). Concórdia, 2010. Disponível em: <http://eventos.ifc.edu.br/micti/wp-content/uploads/sites/5/2014/09/CAA-08.pdf>. Acesso em 25 abr 2021.

- WEESE, J. S. Investigation of *Enterobacter cloacae* Infections at a Small Animal Veterinary Teaching Hospital. **Veterinary Microbiology**, v. 130, p. 426–428, 2008.
- WERNER, M.; SUCHODOLSKI, J. S.; LIDBURY, J. A. *et al.* Diagnostic value of fecal cultures in dogs with chronic diarrhea. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 1, p. 199–208, 2021.
- WILSON, C. R.; HOOSER, S. B. Investigative Diagnostic Toxicology and the Role of the Veterinarian in Pet Food–Related Outbreaks. **Veterinary Clinic of North America: Small Animal Practice**, West Lafayette, v. 42, p. 229–235, 2012.
- WILSON, S. A.; VILLAVERDE, C.; FASCETTI, A. J.; *et al.* Evaluation of the nutritional adequacy of recipes for home-prepared maintenance diets for cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Davis, v.254, n.10, p. 1172-1179, 2019.
- WITASZAK, N.; STĘPIEŃ, Ł.; BOCIANOWSKI, J. *et al.* Fusarium Species and Mycotoxins Contaminating Veterinary Diets for Dogs and Cats. **Microorganisms**. v. 7, n. 1, p. 26-42, 2019.
- WITASZAK, N.; WAŚKIEWICZ, A.; BOCIANOWSKI, J. *et al.*, 2020. Contamination of Pet Food with Mycobiota and Fusarium Mycotoxins—Focus on Dogs and Cats. **Toxins**, v. 12, n. 2, p. 1-14, 2020
- YOSHIZAWA, T.; YAMASHITA, A.; LUO, Y. Fumonisin occurrence in corn from high- and low – risk areas for human esophageal cancer in a China. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 5, p.1626-1629, 1994.
- ZAIN, M. E. Impact of mycotoxins on humans and animals. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 15, n.2, p. 129–144, 2011.