

Artigo

# Uso de extrato de parede celular de levedura para suínos em crescimento que consomem alimentos contaminados com micotoxinas abaixo ou acima das diretrizes regulatórias: Uma meta-análise com metarregressão

Alexandra C Weaver <sup>1,\*</sup>  Daniel M Weaver <sup>2</sup>, Nicholas Adams <sup>3</sup> e Alexandros Yiannikouris <sup>1</sup> <sup>1</sup> Alltech, Inc., 3031 Catnip Hill Road, Nicholasville, KY 40356, EUA; ayiannikouris@alltech.com<sup>2</sup> Pesquisador independente, Orrington, ME 04474, EUA; dmw1121@gmail.com<sup>3</sup> Alltech Reino Unido, Stamford PE91TZ, Reino Unido; nadams@alltech.com

\* Correspondência: aweaver@alltech.com

**Resumo:** Utilizando uma meta-análise de efeitos aleatórios, foi avaliado o desempenho de suínos em crescimento sob um desafio causado por micotoxinas (MT) com ou sem suplementação de extrato de parede celular de levedura (EPCL, Mycosorb®, Alltech Inc.). Tanto as MT como o EPCL foram comparados com animais de controlo que não receberam micotoxinas (CTRL). A metarregressão foi utilizada para explorar mais a fundo os impactos das MT ao nível/abaixo (categoria 1) ou acima (categoria 2) das diretrizes regulatórias globais. Após a triagem, foram utilizadas 23 referências adequadas (30 tratamentos com micotoxinas). No geral, as MT reduziram o ganho médio diário (GMD,  $p < 0,001$ ) e o consumo médio diário de alimentos (CMDA,  $p < 0,0001$ ) do CTRL em -84 e -165 g, respetivamente. A inclusão do EPCL durante desafios com micotoxinas (EPCL+MT, média de 2,1 kg/t) tendeu a resultar num GMD superior (+17 g,  $p = 0,068$ ) em comparação aos tratamentos com MT. O índice de eficiência alimentar (IEA) não foi impactado por MT ou EPCL+MT. Uma investigação mais aprofundada por metarregressão revelou que os suínos alimentados com MT na categoria 1 tinham GMD mais baixo (-78,5 g,  $p < 0,001$ ) versus CTRL, enquanto os com EPCL+MT tinham GMD mais alto (+48 g,  $p < 0,001$ ) acima das MT e foi semelhante ao CTRL. O CMDA não foi impactado, embora o EPCL+MT tenha apresentado valores de CMDA semelhantes ao CTRL. Na categoria 2, o GMD e o CMDA dos suínos alimentados com MT foram inferiores ao CTRL (-85,1 e -166 g, respetivamente,  $p < 0,0001$ ), evidenciando tendência para EPCL+MT resultar num CMDA superior (+25,3 g,  $p = 0,062$ ). Em suma, a inclusão do EPCL proporcionou benefícios ao desempenho durante níveis comuns de desafio com micotoxinas (iguais ou inferiores às diretrizes regulatórias).



**Citação:** Weaver, A.C.; Weaver, D.M.; Adams, N.; Yiannikouris, A. Uso de extrato de parede celular de levedura

para suínos em crescimento que consomem alimentos contaminados com micotoxinas abaixo ou acima das diretrizes regulatórias: Uma meta-análise com metarregressão.

*Toxins (Toxinas)* **2023**, *15*, 596. <https://doi.org/10.3390/toxins15100596>

Recebido a: 22 de agosto de 2023

Revisto a: 25 de setembro de 2023

Aceite a: 28 de setembro de 2023

Publicado a: 3 de outubro de 2023



**Copyright:** © 2023 dos autores.

Licenciado MDPI, Basileia, Suíça. Este artigo é um artigo de acesso livre distribuído nos termos e condições da licença Creative Commons Attribution (CC BY)

(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Palavras-chave:** micotoxinas; meta-análise; metarregressão; desempenho; suínos; extrato de parede celular de levedura

**Contribuição principal:** Esta meta-análise com metarregressão mostrou que as micotoxinas, tanto abaixo como acima das diretrizes regulatórias, podem impactar negativamente o desempenho dos suínos. A inclusão de extrato de parede celular de levedura durante desafios com micotoxinas resultou num desempenho igual ao nível de animais não desafiados, particularmente em níveis de micotoxinas comumente encontrados abaixo das orientações regulatórias.

## 1. Introdução

As micotoxinas são contaminantes comuns de alimentos consumidos por suínos. Algumas das micotoxinas bem conhecidas que são prejudiciais aos suínos incluem a aflatoxina B1 (AFB1), ocratoxina A (OTA), desoxinivalenol (DON), toxinas T2/HT2, zearalenona (ZEA) e fumonisinas (FUM) [1], mas têm sido identificadas numerosas micotoxinas adicionais que podem ser contaminantes frequentes de alimentos para animais. Uma pesquisa recente realizada nos Estados Unidos indicou que 98,6% dos grãos de milho analisados durante um período de sete anos continham micotoxinas, com uma média de 4,8 micotoxinas por amostra com base nas 35 micotoxinas diferentes investigadas [2]. A micotoxina mais frequentemente detetada em mais de 78% das amostras foi o ácido fusárico (AcF). Além disso, mais de 65% das amostras continham DON e fumonisina B1 (FB1). As micotoxinas não são apenas uma ameaça atual à qualidade e segurança dos alimentos para animais, mas provavelmente continuarão a desempenhar um papel importante no futuro. Sugere-se que o aumento das temperaturas globais e das concentrações de CO<sub>2</sub> terá um impacto significativo sobre os fungos toxigênicos e a produção de micotoxinas [3]. Como tal, os produtores de suínos poderão continuar a registar um número igual ou superior de micotoxinas, bem como concentrações mais elevadas de micotoxinas em futuros alimentos e rações.

À medida que a exposição a micotoxinas na alimentação dos suínos aumenta, podem ser esperados impactos negativos no trato gastrointestinal, nos órgãos internos, no sistema reprodutor e no sistema imunitário [4]. Por sua vez, estes efeitos diminuem o desempenho do crescimento e a saúde dos suínos e a rentabilidade da suinicultura, mesmo sob exposição crônica. Embora possa ser mais fácil observar alterações na saúde ou no desempenho em concentrações mais elevadas de exposição a micotoxinas, ou seja, aquelas acima das diretrizes regulatórias da União Europeia (UE) para alimentação de suínos de 0,005 a 0,01 mg/kg de AFB1, 0,05 mg/kg de OTA, 0,9 mg/kg DON, 5 mg/kg FUM e 0,1 a 0,25 mg/kg ZEA [5–7], há um número crescente de publicações científicas que mostram que níveis baixos ou crônicos de micotoxinas também têm efeitos negativos. Em concentrações abaixo das diretrizes da UE, o DON e as FUM demonstraram alterar as populações de micróbios intestinais, levando a um aumento de microrganismos patogênicos e à redução da diversidade microbiótica [8,9]. Além disso, a combinação de níveis mais baixos de micotoxinas pode aumentar a resposta negativa global no suíno, levando a uma maior redução na ingestão de alimentos, perda de peso corporal, um aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias e um aumento de microrganismos patogênicos no trato intestinal [10].

Para minimizar o risco de micotoxinas para suínos é importante ter um programa de gestão adequado implementado na exploração suinícola que inclua testes, monitorização e mitigação [11]. Uma das melhores maneiras de proteger diretamente o animal das micotoxinas é o uso de aditivos alimentares ou ingredientes adicionados às rações [12]. Um mecanismo proposto é através da ligação de micotoxinas no trato gastrointestinal para prevenir a absorção e assim minimizar os efeitos negativos das micotoxinas no animal. Entre estes produtos, o extrato de parede celular de levedura (EPCL; Mycosorb®, Alltech, Inc., Nicholasville, KY, EUA) rico em hidratos de carbono complexos insolúveis demonstra uma capacidade considerável de ligação de diversas micotoxinas *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* [13–16]. Embora tenham sido publicados numerosos artigos que investigam o uso do EPCL em suínos expostos a micotoxinas, pode ser difícil chegar a uma conclusão geral sobre o uso do EPCL devido às variações entre as respostas individuais do estudo e ao número limitado de animais submetidos a testes. Para compreender melhor o uso do EPCL em dietas suínas que contêm micotoxinas, foi realizada uma meta-análise de efeitos aleatórios com metarregressão que permite a integração e quantificação de um resultado global em todo o corpo de trabalho científico relacionado com o uso do EPCL.

Os resultados da meta-análise podem fornecer uma estimativa mais precisa dos efeitos do tratamento do que um ensaio individual, devido à avaliação estatística de um conjunto de dados mais amplo [17]. O uso do modelo de efeitos aleatórios incorpora uma estimativa de variação ou heterogeneidade entre estudos [18]. A heterogeneidade é observada quando os efeitos da intervenção variam mais do que o esperado por acaso [17]. A heterogeneidade nos tamanhos médios de efeito entre os estudos pode ser devida a diferenças no desenho experimental e na metodologia, incluindo diferenças nas populações-alvo, métodos analíticos, instrumentos de medição, doses de intervenções e tempos [19,20]. Quando a heterogeneidade é alta (a estatística  $I^2$  aproxima-se de um máximo de 100%), pode existir variabilidade e os resultados podem ser interpretados com cautela [17,20]. Contudo, através de uma avaliação mais aprofundada por metarregressão, uma parte da heterogeneidade pode ser explicada. Nesta pesquisa atual, o banco de dados selecionado também foi avaliado por metarregressão para investigar como as concentrações de micotoxinas desempenham um papel nos efeitos em suínos e na resposta ao uso de mitigação por EPCL durante desafios de micotoxinas. Havia dois objetivos neste estudo. O primeiro objetivo era realizar uma meta-análise para avaliar o impacto dos alimentos contaminados com micotoxinas (MT) a todos os níveis na incidência medida de ganho de peso, consumo de alimentos e eficiência dos suínos em contraste com os suínos alimentados com dietas de controlo sem micotoxinas (CTRL) ou suínos alimentados com EPCL durante desafios com micotoxinas (EPCL+MT), bem como determinar se os suínos alimentados com EPCL+MT regressavam ao desempenho ao nível do CTRL. O segundo objetivo era avaliar categoricamente as mesmas três comparações de tratamento por metarregressão: todas as micotoxinas ao nível/abaixo das diretrizes regulatórias da UE e dos EUA (categoria 1) e pelo menos uma micotoxina acima das diretrizes regulatórias (categoria 2).

## 2. Resultados

### 2.1. Características da pesquisa

Para esta meta-análise utilizou-se um total de 23 referências (14 foram realizadas com leitões desmamados e 11 com leitões em crescimento e engorda), as quais continham 30 níveis diferentes de micotoxinas (Tabela 1). Os estudos foram publicados ao longo de um período de 20 anos (de 2002 a 2022) e foram efetuados em 10 países diferentes (seis nos EUA, cinco na Finlândia, quatro no Canadá, dois na Alemanha; um de cada na Bélgica, China, Itália, Lituânia, República da Coreia e Sérvia). Havia 3165 suínos incluídos: 516 alimentados com CTRL, 1293 com MT e 1356 com EPCL+MT. Os ensaios foram levados a cabo durante um período de 14 a 115 dias (mediana 26 dias; média 36,2 dias). A maioria dos ensaios teve dietas naturalmente contaminadas com micotoxinas (Tabela 1), mas seis usaram fontes puras de micotoxinas. Os tipos de micotoxinas relatados por estes estudos nas rações MT (Tabela 1) incluíram aflatoxinas (AFs)/AFB1 (8 ensaios), OTA (1 ensaio), DON (16 ensaios), 15-acetil-desoxinivalenol (2 ensaios), toxina T-2 (1 ensaio), FUM (6 ensaios), ZEA (15 ensaios) e AcF (2 ensaios). A taxa da dose média geral de EPCL foi de 2,1 kg/t (Tabela 1), com divisão adicional por categoria, resultando numa taxa média de inclusão de EPCL de 2,25 kg/t (variação de 1,0 a 4,0 kg/t) para ensaios na categoria 1 e 2,11 kg/t (variação de 0,5 a 4,0 kg/t) para a categoria 2.

**Tabela 1.** Descrição dos estudos utilizados para a meta-análise de efeitos aleatórios que examina os efeitos das micotoxinas com ou sem inclusão de extrato de parede celular de levedura no desempenho de suínos em crescimento.

Ref.	Localização	Suíno/trt. <sup>2</sup>	inic., Peso kg <sup>3</sup>	Fase <sup>4</sup>	Dias <sup>5</sup>	EPCL, kg/t <sup>6</sup>	Contam. <sup>7</sup>	Micotoxinas relatadas, µg/kg <sup>1</sup>						
								AFs	OTA	DON, Tipo B	T2	FUM	ZEA	AcF
Cat. 1 <sup>8</sup>														
[21]	Itália	5	110,0	GF	28	2,0	Pura	20						
[21]	Itália	5	110,0	GF	28	2,0	Pura		50					
[22]	Lituânia	65	9,6	N	38	2,0	Natural	3,7		40			55	
[22]	Lituânia	65	27,4	GF	62	2,0	Natural	3,7		40			55	
[23]	Alemanha	12	-	GF	84	1,0	Mix			560			82	
[24]	EUA	12	7,5	N	36	2,0	Natural	1		990		270	45	
[25]	Finlândia	8	35,2	GF	28	4,0	Pura	15					202	
[26]	Finlândia	4	35,2	GF	28	4,0	Natural			730			2	
[27]	EUA	113	8,5	N	21	2,0, 3,0	Natural			1000				
[28]	Finlândia	6	36,0	GF	28	4,0	Pure						217	
[29]	Canadá	337	7,3	N	39	1,0	Natural			700				
[30]	Bélgica	5	5,7	N	18	1,0	Pura				83			
Cat. 2 <sup>8</sup>														
[31]	Alemanha	20	7,7	N	35	2,0	Natural			4440				
[24]	EUA	12	7,5	N	36	2,0	Natural	45		3450		620	96	
[32]	Finlândia	8	31,2	GF	28	4,0	Pura						268	
[33]	EUA	30	55,6	GF	35	2,0	Natural	180				14,000		
[33]	EUA	12	6,0	N	48	2,0	Natural	180		1000		9000		
[34]	(do Sul) Coreia	4	61,7	GF	14	4,0	Natural			2940				
[27]	EUA	113	8,5	N	21	2,0, 3,0	Natural			3900				
[35]	Sérvia	8	14,4	N	31	1,0	Natural						384	
[36]	EUA	260	22,9	GF	115	1,0, 2,0	Natural			4870		670	570	
[37]	China	25	8,0	N	28	2,0	Natural			1990		290	650	
[37]	China	25	8,0	N	28	2,0	Natural			3980		580	1300	
[38]	EUA	30	6,0	N	35	2,0	Natural	32				1600		
[39]	Canadá	35	10,0	N	21	0,5, 1,0, 2,0	Natural			5100			300	23,400
[40]	Canadá	30	9,3	N	21	2,0	Natural			3900			200	36,200
[40]	Canadá	30	9,3	N	21	2,0	Natural			6100			500	49,300
[41]	Canadá	10	6,0	N	14	1,0	Natural			4610				
[42]	EUA	21	9,1	N	42	2,0	Natural			4800			300	
[43]	Finlândia	10	36,5	GF	28	4,0	Cultura			1139			289	600

<sup>1</sup> Tipos e níveis de micotoxinas relatados nos estudos utilizados nesta meta-análise. AFs: aflatoxina B1 ou aflatoxinas totais incluindo B1 + B2 + G1 + G2; OTA: ocratoxina A; DON: desoxinivalenol; Tipo B: qualquer total de desoxinivalenol, 3-acetil-desoxinivalenol, 15-acetil-desoxinivalenol, desoxinivalenol-3-glicosídeo, nivalenol ou fusarenon-X; T2: toxina T-2; FUM: fumonisinas incluindo B1, B2, B3; ZEA: zearalenona; AcF: ácido fusárico; <sup>2</sup> Suínos/trt.: número de suínos por tratamento; <sup>3</sup> Peso inic., kg: peso inicial dos suínos no começo do ensaio. Ensaios que não relatam peso inicial são marcados com "-"; <sup>4</sup> Fase: fase de crescimento do suíno relatada por cada ensaio: (DM) recém-desmamado/desmamado ou (CE) crescimento ou engorda; <sup>5</sup> Dias: número de dias durante os quais o ensaio foi realizado; <sup>6</sup> EPCL, kg/t: taxa de inclusão de extrato de parede celular de levedura (Mycosorb®, Alltech, Inc.) durante desafios com micotoxinas. As taxas de inclusão de múltiplos tratamentos são separadas por ","; <sup>7</sup> Contam.: fonte de contaminação por micotoxinas usada nas dietas de desafio com micotoxinas. As fontes incluem alimentos naturalmente contaminados, micotoxinas obtidas via material de cultura, micotoxinas cristalinas puras ou uma mistura de diferentes fontes; <sup>8</sup> Cat. 1/Cat. 2: categoria 1 ou categoria 2. A categoria de metarregressão 1 representa ensaios com níveis relatados de micotoxinas iguais ou inferiores aos níveis regulamentares recomendados pela UE e pelos EUA, enquanto a categoria 2 representa ensaios com pelo menos uma micotoxina registrada acima dos limites regulamentares recomendados.

## 2.2. Meta-análise: Impacto geral no desempenho dos suínos

O consumo de dietas com MT por suínos em crescimento resultou num ganho médio diário (GMD) significativamente menor ( $p < 0,001$ ) do que suínos alimentados com dietas de controlo, com uma diferença média de 84 g (Tabela 2). A alimentação de EPCL durante desafios com micotoxinas tendeu ( $p = 0,068$ ) a resultar num GMD 17 g maior do que o do MT. O CMDA dos suínos alimentados com MT foi significativamente inferior ( $p < 0,0001$ ) em 165 g em comparação com o CTRL (Tabela 2), enquanto os suínos alimentados com EPCL não diferiram dos com MT. Embora o GMD e o CMDA tenham sido afetados, o consumo de MT ou EPCL pelos suínos não alterou significativamente o efeito médio global para o IEA (Tabela 2). Os blobogramas são mencionados na secção Materiais suplementares, Figuras S2–S4.

**Tabela 2.** Estimativas médias gerais do tamanho do efeito da meta-análise de efeito aleatório para alimentação com dietas de controlo não contaminadas com micotoxinas, tratadas com micotoxinas ou com tratamento com extrato de parede celular de levedura durante desafios com micotoxinas no desempenho de suínos em crescimento.

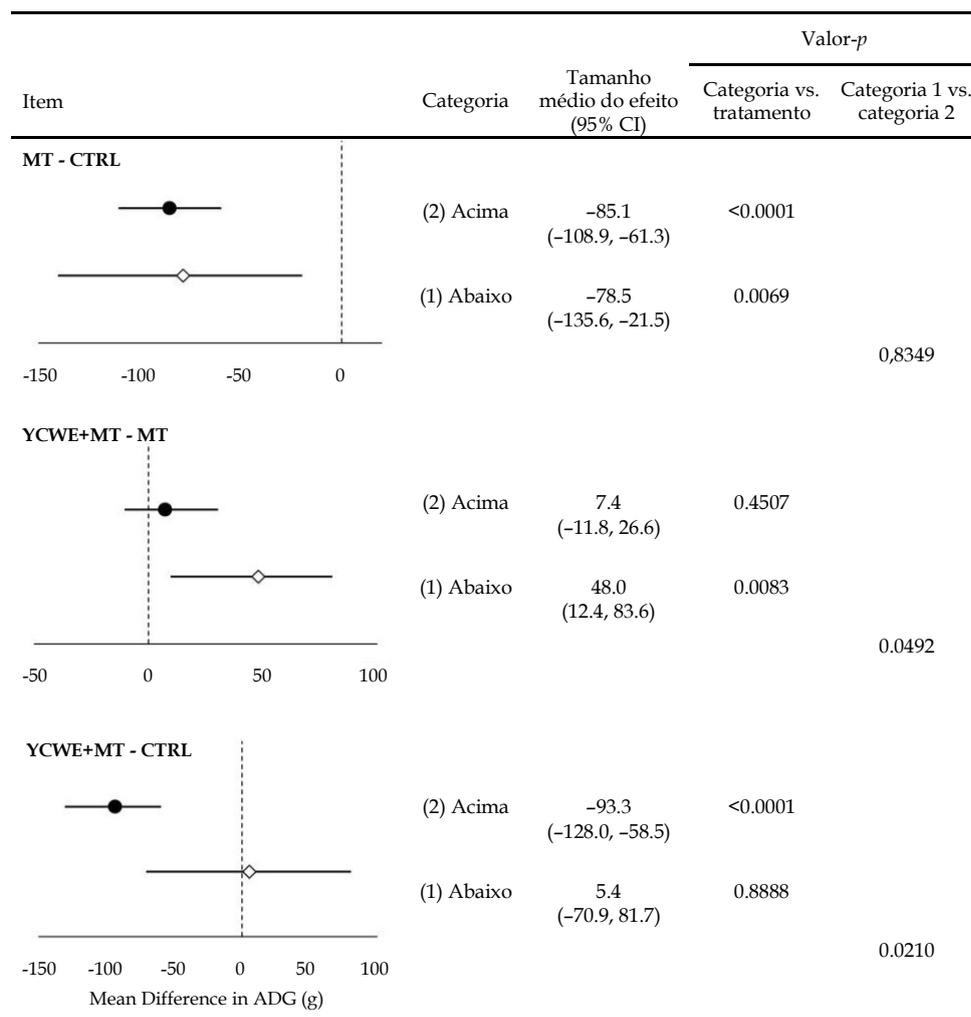
Item <sup>1</sup>	N.º Comp. <sup>2</sup>	Tamanho médio do efeito	IC 95% <sup>3</sup>	Teste de heterogeneidade			
				Valor- $p$	I <sup>2</sup> (%) <sup>4</sup>	Valor- $p$	Valor- $p$ Egger <sup>5</sup>
GMD, g/d <sup>6</sup>			-				
MT-CTRL	20	-84,0	-105,3, -62,8	<0,001	66,81	0,0003	0,4427
EPCL+MT-MT	31	17,0	-1,2, 35,2	0,0679	57,66	0,0003	0,3246
EPCL+MT-CTRL	21	-75,8	-110,8, -40,8	<0,0001	88,85	0,0001	0,7579
CMDA, g/d <sup>6</sup>							
MT-CTRL	17	-165,0	-215,9, -114,1	<0,0001	69,69	0,0002	0,9190
EPCL+MT-MT	26	18,2	-6,4, 42,7	0,1472	25,94	0,2600	0,3014
EPCL+MT-CTRL	18	-143,8	-202,3, -85,2	<0,0001	79,21	<0,0001	0,6692
IEA <sup>6</sup>							
MT-CTRL	19	0,0008	-0,0316, 0,0332	0,9627	92,33	<0,0001	0,1543
EPCL+MT-MT	30	0,0026	-0,0091, 0,0142	0,6666	70,42	<0,0001	0,4022
EPCL+MT-CTRL	20	-0,0051	-0,0320, 0,0217	0,7071	89,48	<0,0001	0,1138

<sup>1</sup> Os tratamentos representam – CTRL: dietas de controlo relatadas como contendo contaminação indetetável ou mínima por micotoxinas; MT: dietas com registo de contaminação por micotoxinas; e EPCL+MT: dietas de extrato de parede celular de levedura (Mycosorb®, Alltech, Inc.) contendo EPCL e micotoxinas. Os efeitos foram determinados pelas diferenças entre os tratamentos de MT e controlo (MT-CTRL), EPCL+MT e MT (EPCL+MT-MT), ou EPCL+MT e controlo (EPCL+MT-CTRL); <sup>2</sup> N.º Comp.: número de diferentes comparações de ensaios disponíveis para cada variável de tratamento e desempenho; <sup>3</sup> IC 95%: intervalo de confiança de 95%; <sup>4</sup> I<sup>2</sup>: percentagem de variação entre estudos; <sup>5</sup> Valor- $p$  Egger: teste de assimetria de Egger para avaliar o viés de publicação; <sup>6</sup> GMD: ganho médio diário; CMDA: consumo médio diário de alimentos; IEA: índice de eficiência alimentar.

A heterogeneidade entre estudos e o viés de publicação foram avaliados (Tabela 2). Os resultados de heterogeneidade (I<sup>2</sup>) mostraram diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) entre os estudos para todas as comparações de tratamento e parâmetros testados. Os valores de I<sup>2</sup> ficaram acima de 57,66% para todas as comparações, exceto para o CMDA entre EPCL e MT. O teste de Egger para assimetria não indicou viés de publicação ( $p > 0,05$ ) para todos os efeitos de tratamento de GMD, CMDA e IEA (Tabela 2 e Figuras S5–S7 dos Materiais suplementares).

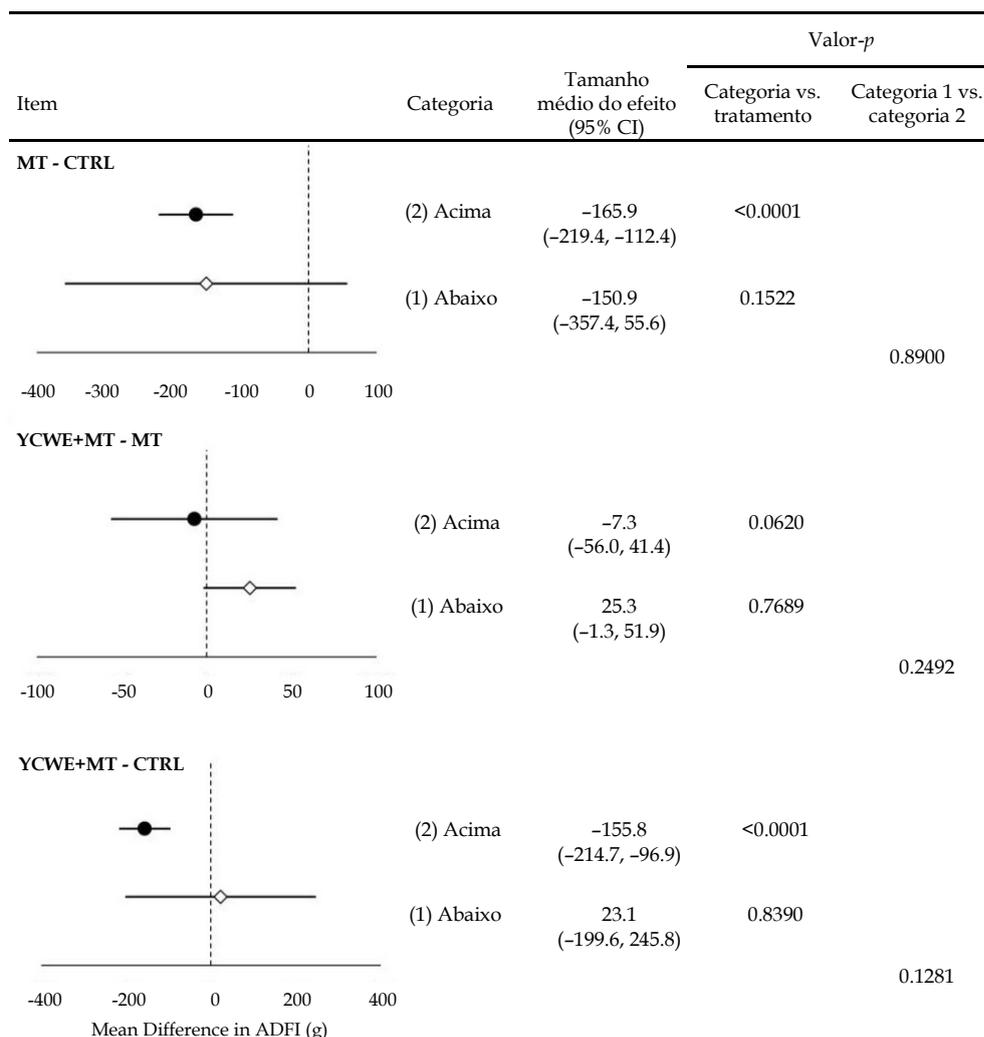
## 2.3. Metarregressão: Impactos de micotoxinas abaixo ou acima das diretrizes regulatórias

Os suínos em crescimento alimentados com MT na categoria 1 tiveram uma diferença média de GMD 78,5 g menor (Figura 1) do que aqueles alimentados com CTRL ( $p < 0,001$ ). Ao mesmo tempo, a inclusão de EPCL resultou num GMD 48,0 g maior ( $p < 0,01$ ) em relação ao MT, o que foi semelhante ao CTRL ( $p = 0,888$ ). Embora o GMD tenha sido impactado nos ensaios de categoria 1, o CMDA e o IEA não foram alterados pelo MT ou EPCL (Figuras 2 e 3).

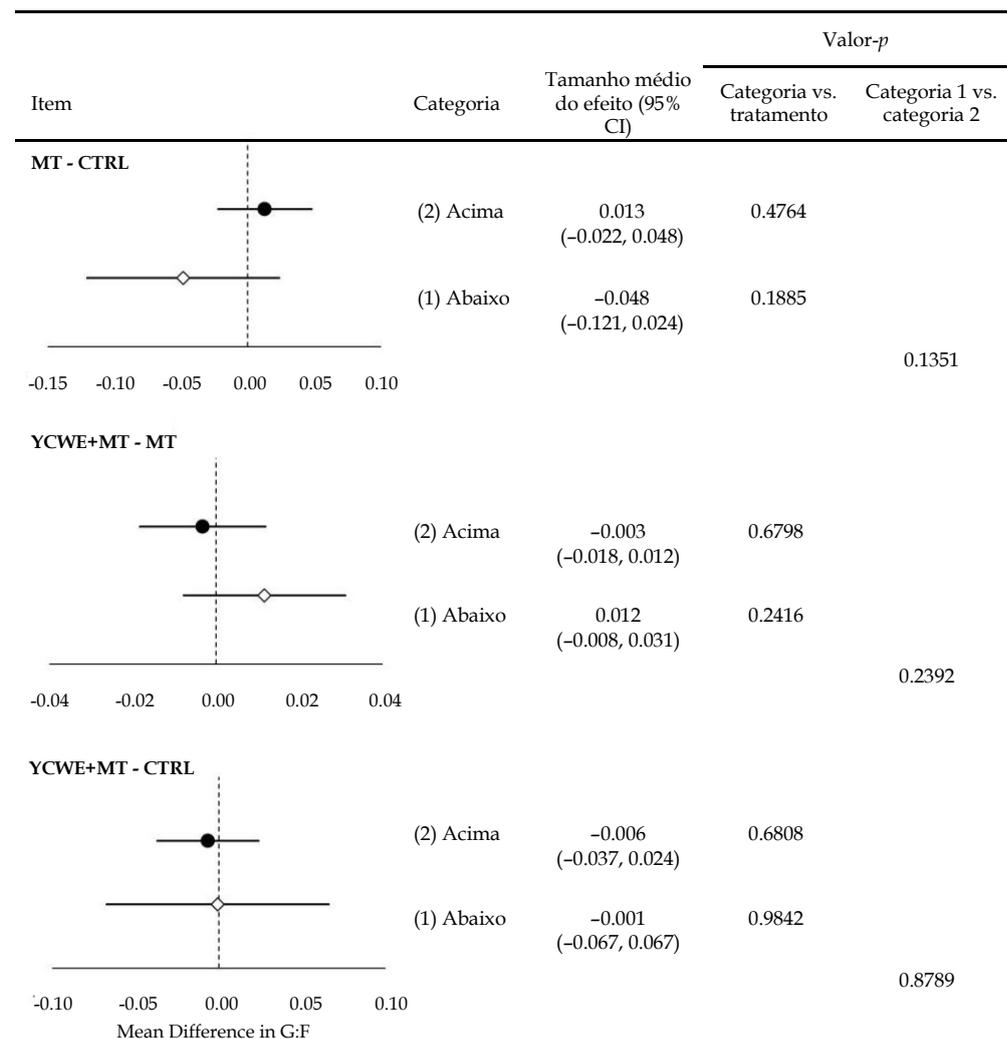


**Figura 1.** Estimativas médias do tamanho do efeito com intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para ganho médio diário (GMD) em gramas para suínos em crescimento a partir da metarregressão de efeito misto entre tratamentos de micotoxinas e controlo (MT-CTRL), extrato de parede celular de levedura na presença de desafios de micotoxinas (EPCL, Mycosorb®, Alltech, Inc.) e micotoxinas isoladamente (EPCL+MT-MT), e EPCL e controlo (EPCL-CTRL). Cada ensaio utilizado nesta metarregressão foi colocado numa de duas categorias, que incluíam (1) ao nível/abaixo (losangos brancos) ou (2) acima (círculos pretos) das diretrizes regulatórias da UE e dos EUA para micotoxinas na alimentação de suínos.

A avaliação dos tratamentos da categoria 2 indicou que os suínos alimentados com MT tiveram GMD mais baixo (Figura 1) do que CTRL por uma diferença média de 85,1 g ( $p < 0,0001$ ). Esta redução no GMD não foi diferente da perda de ganho observada na categoria 1. A inclusão do EPCL na categoria 2 não resultou num GMD significativamente diferente do MT, embora tenha sido numericamente maior e houve diferença entre os resultados das categorias 1 e 2 relativos à inclusão do EPCL ( $p < 0,05$ ). O CMDA (Figura 2) dos suínos alimentados com MT na categoria 2 foi reduzido ( $p < 0,0001$ ) em 166 g, o que não foi diferente da categoria 1. A alimentação de EPCL tendeu ( $p = 0,062$ ) a resultar num CMDA mais alto do que apenas MT em 25,3 g, embora não tenha regressado na totalidade ao de CTRL. O IEA não foi alterado por MT ou EPCL em ensaios da categoria 2 (Figura 3).



**Figura 2.** Estimativas médias do tamanho do efeito para o consumo médio diário de alimentos (CMDA) em gramas para suínos em crescimento a partir da metarregressão de efeito misto entre tratamentos de micotoxinas e controlo (MT-CTRL), extrato de parede celular de levedura na presença de desafios de micotoxinas (EPCL, Mycosorb, Alltech, Inc.) e micotoxinas isoladamente (EPCL+MT-MT) e EPCL e controlo (EPCL-CTRL). Cada ensaio utilizado nesta metarregressão foi colocado numa de duas categorias, que incluíam (1) ao nível/abaixo (losangos brancos) ou (2) acima (círculos pretos) das diretrizes regulatórias da UE e dos EUA para micotoxinas na alimentação de suínos.



**Figura 3.** Estimativas médias do tamanho do efeito para o índice de eficiência alimentar (IEA) para suínos em crescimento a partir da metarregressão de efeito misto entre tratamentos de micotoxinas e controlo (MT-CTRL), extrato de parede celular de levedura na presença de desafios de micotoxinas (EPCL, Mycosorb, Alltech, Inc.) e micotoxinas isoladamente (EPCL+MT-MT) e EPCL e controlo (EPCL-CTRL). Cada ensaio utilizado nesta metarregressão foi colocado numa de duas categorias, que incluíam (1) ao nível/abaixo (losangos brancos) ou (2) acima (círculos pretos) das diretrizes regulatórias da UE e dos EUA para micotoxinas na alimentação de suínos.

### 3. Discussão

A meta-análise atual com metarregressão focou-se no uso de EPCL durante desafios com micotoxinas como método de gestão de micotoxinas para suínos. Utilizando dados de 23 referências (30 tratamentos diferentes com micotoxinas), esta pesquisa investigou os benefícios do uso deste adsorvente para apoiar o desempenho do crescimento. Os resultados indicaram que micotoxinas de diferentes tipos e concentrações podem ter um impacto global no desempenho dos suínos em crescimento, resultando numa redução significativa do GMD em  $-84,0$  g e do CMDA em  $-165,0$  g. Uma meta-análise publicada anteriormente, a qual incluiu uma base de dados de 85 artigos publicados, também indicou que as micotoxinas desempenham um papel no ganho e no consumo de alimentos dos suínos [44]. Nesse estudo, os dados mostraram que as misturas de micotoxinas reduziram significativamente o ganho diário em  $-135$  g e o consumo diário de alimentos em  $-270$  g. Estes efeitos são maiores do que os relatados por nós, mas dentro de uma amplitude semelhante, considerando as diferenças no tipo e conteúdo de micotoxinas entre as duas meta-análises. Em contraste, outra meta-análise relatou que os efeitos das micotoxinas no GMD de suínos são mais semelhantes aos nossos resultados, com uma diferença média de  $-80$  g/d de ganho para pesquisas em que os suínos consumiram DON, em contraste com  $-69$  g/d para FUM [45]. Para qualquer

um destes ensaios, podem surgir pequenas diferenças devido às micotoxinas presentes e às interações potenciais entre micotoxinas [46–48]; várias formas [49,50], incluindo formas conjugadas [51] ou micotoxinas não contabilizadas, como as toxinas emergentes [52–54].

O efeito das micotoxinas na eficiência alimentar dos suínos pode ser controverso, uma vez que são relatados resultados conflitantes. Ao contrário dos resultados deste trabalho atual, que não mostraram impacto na eficiência, Holanda e Kim [16] relataram que DON e FUM aumentaram o IEA, ZEA reduziu o IEA e as aflatoxinas (AFs) não tiveram influência. No entanto, noutros exemplos, as micotoxinas tiveram efeitos opostos, onde AFs, DON e FUM reduziram o IEA, e ZEA não teve impacto [44,45]. Esses efeitos variáveis na eficiência parecem depender não apenas do tipo de micotoxina, mas também da concentração, bem como de outros fatores, como a idade e sexo do suíno [44]. A falta de significância para o IEA na meta-análise atual pode ser devida a essas diferenças e/ou a uma combinação de efeitos.

Podem ser adicionados aos alimentos agentes desintoxicantes de micotoxinas para neutralizar os impactos das micotoxinas nos animais. Esses produtos variam em composição e modos de ação [16,55–57]). O EPCL aqui estudado contém uma combinação de hidratos de carbono insolúveis associados a uma rede parietal complexa, os quais demonstraram propriedades adsorptivas para uma variedade de micotoxinas, incluindo AFB1, ZEA, DON e FUM e mantêm essa adsorção durante as alterações de pH do trato intestinal [14,16]. Especificamente,  $\beta$ -D-glucanos na parede celular da levedura são em grande parte responsáveis pela interação com micotoxinas por forças de van der Waals e fracas ligações de hidrogênio. Uma vez ligadas ao EPCL, as micotoxinas têm menos probabilidade de exercer efeitos negativos nos sistemas imunitário, intestinal, endócrino e de órgãos internos do animal. Uma meta-análise publicada anteriormente com frangos de carne mostrou os benefícios do uso de EPCL durante desafios com micotoxinas com maior ganho e consumo de alimentos, menor índice de conversão alimentar e menor mortalidade [58].

Na atual meta-análise com suínos, os resultados também mostraram a tendência para um GMD geral maior com base em comparações de ensaios combinados em todos os níveis de micotoxinas. Embora as evidências da investigação sobre frangos de carne sejam úteis, os suínos podem ter uma resposta diferente às micotoxinas e às estratégias de mitigação. Devido a uma variedade de fatores, incluindo a ausência de transformação microbiótica pré-intestinal de algumas micotoxinas e um aumento na afinidade dos receptores celulares para outras, os suínos são geralmente considerados como tendo maior sensibilidade às micotoxinas, fazendo com que sejam um dos animais mais afetados [59] mesmo em doses baixas [60–62].

Embora possa ser interessante ver o impacto global das micotoxinas no desempenho dos suínos, talvez sejam mais úteis os resultados da metarregressão que investiga o efeito do nível de contaminação por micotoxinas como covariável. Os ensaios com todas as micotoxinas relatadas iguais ou inferiores aos níveis regulamentares recomendados pela UE e pelos EUA foram colocados na categoria 1, enquanto aqueles com pelo menos uma micotoxina acima dos níveis recomendados foram colocados na categoria 2. Esta covariável (nível de micotoxina) foi aplicada para comparar os efeitos no desempenho do crescimento com ou sem EPCL em níveis de desafio que eram mais baixos e, portanto, mais prováveis de serem experimentados por suínos diariamente em condições comuns de campo (isto é, categoria 1) *versus* níveis mais elevados de micotoxinas que podem ser consumidos mais esporadicamente (isto é, categoria 2). Acomodar mais covariáveis diminuiria o tamanho da amostra entre categorias, aumentaria a variância e seria pouco informativo na identificação de relações causais. Além disso, tamanhos de amostras baixos entre categorias e análises repetidas com diferentes covariáveis podem aumentar a probabilidade de cometer erros do tipo 1 ou tipo 2 e reduzir a capacidade de identificar relações causais. Além disso, a literatura anterior já avaliou algumas outras covariáveis, como o tipo de micotoxina, no desempenho do crescimento dos suínos [45]. Embora as informações sobre o tipo de micotoxina possam ser úteis, os suínos podem ser mais frequentemente expostos a múltiplas micotoxinas do que a micotoxinas isoladas [2]. Como tal, os resultados da atual meta-análise com metarregressão que investiga os níveis de micotoxinas abaixo ou acima das diretrizes regulamentares podem representar uma abordagem científica original e uma nova compreensão dos efeitos no mundo real experimentados nas explorações suinícolas devido a múltiplas micotoxinas e desafios crônicos.

Pode-se esperar que os níveis de micotoxinas na categoria 2 tenham impacto no desempenho dos suínos; por exemplo, 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de DON reduziram a taxa de crescimento das marrãs, aumentando o tempo para atingir 110 kg em 14,1 dias [47]. No entanto, a investigação atual fornece evidências de que as micotoxinas nos níveis recomendados ou abaixo dos sugeridos pela UE e pelos EUA ainda podem ter impacto no desempenho dos suínos. Concentrações abaixo das orientações regulamentares são frequentemente detetadas [2,63–65] e podem criar pressão adicional sobre os sistemas económicos de produção animal [66,67].

Esta consideração está frequentemente ausente do mandato regulatório que se concentra exclusivamente na segurança dos alimentos para animais e na saúde animal. Por exemplo, os resultados desta meta-análise mostraram que os suínos alimentados com MT tiveram um GMD inferior aos alimentados com CTRL em  $-78,5$  g. Da mesma forma, estudos que alimentaram suínos com uma mistura de DON e ZEA próxima das diretrizes regulatórias da UE relataram uma perda de ganho de cerca de  $-46$  g/dia [10]. O foco da presente meta-análise foi como o desempenho do crescimento pode ser alterado por níveis mais baixos de micotoxinas, mas é importante não esquecer outros parâmetros de saúde. Pesquisas publicadas anteriormente mostraram que a imunidade dos suínos pode ser afetada por OTA a  $50$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , conforme observado por um aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias [68]. A saúde intestinal é um alvo inicial de muitas micotoxinas. Por exemplo, tanto o DON como os alcaloides da cravagem em níveis próximos dos limites regulamentares da UE reduziram a altura das vilosidades intestinais [69,70], o que poderia afetar a saúde digestiva. Alimentar suínos com  $800$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  de DON reduziu a diversidade e abundância de microrganismos no cólon [8], enquanto com DON a  $750$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  durante desafios com o vírus da diarreia epidêmica suína aumentou a taxa de diarreia [69]. Estes efeitos na saúde intestinal podem afetar a absorção de energia e nutrientes, a morbidade e a mortalidade e perturbar a homeostase [71,72]. Curiosamente – e em contraste com estes efeitos negativos mencionados na saúde e função intestinais – níveis mais baixos de toxina T-2 a  $15$  ou  $83$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  estão implicados na redução dos níveis de *Salmonella typhimurium* no conteúdo intestinal dos suínos [73]. Apesar deste efeito, os suínos alimentados com  $83$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  ainda tiveram um ganho de peso reduzido. Níveis mais baixos de micotoxinas também podem estar implicados em danos físicos, como necrose da cauda. Um estudo de caso de van Limbergen *et al.* [74] relatou uma alta prevalência de DON em amostras de alimentos de varas com altas taxas de necrose de cauda. O nível médio de DON foi de  $484\ 212$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  em explorações suinícolas com necrose clínica da cauda. Neste relatório, os suínos que consumiram estas concentrações crônicas de DON também tiveram menos leitões desmamados por barrã por ano [74].

Em relação ao uso do EPCL, esta pesquisa foi capaz de reconhecer propriedades benéficas adicionais ao completar uma metarregressão que levou em conta uma abordagem de classificação categorial de concentrações de micotoxinas usando limites de diretrizes regulatórias. Durante desafios com níveis mais baixos de micotoxinas, enquadrando-se na definição da categoria 1, os suínos alimentados com EPCL+MT tiveram GMD significativamente maior, com uma diferença média de  $48,0$  g, igualando a dos porcos alimentados com CTRL. As concentrações de micotoxinas nos ensaios da categoria 1 estavam iguais ou inferiores aos limites regulamentares recomendados e, portanto, estavam em níveis que os suinicultores podem experimentar diariamente. Um inquérito realizado entre 2013 e 2019 mostrou que  $75\%$  das amostras de grãos de milho dos EUA recolhidas na colheita tinham  $\leq 914$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  de DON e  $\leq 4750$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  de FB1 [2]. Como tal, durante estes desafios comuns de micotoxinas, o uso do EPCL pode ser um método eficaz para recuperar o desempenho ideal de crescimento. Além disso, à medida que os níveis de micotoxinas aumentaram (ensaios de categoria 2), o GMD e o CMDA continuaram a ser numericamente melhores com o uso do EPCL.

Houve uma grande variação nos níveis de micotoxinas para ensaios de categoria 2, especificamente de DON até  $6100$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , de FUM até  $14.000$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  e de ZEA até  $1300$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , com níveis adicionais elevados de AcF relatados em certos ensaios. Como tal, a categoria 2 tinha uma gama mais ampla de concentrações de micotoxinas do que a categoria 1 e pode ser a causa da significância reduzida observada (embora ainda numericamente melhor) quando se utiliza EPCL para desafios da categoria 2.

A melhoria no desempenho do crescimento é provavelmente o resultado no qual os nutricionistas de suínos e suinicultores se concentrarão quando considerarem a utilização de uma solução de gestão de micotoxinas. No entanto, o uso de EPCL durante os desafios com micotoxinas pode ter vários outros benefícios para a saúde dos suínos, os quais não foram avaliados na nossa meta-análise devido a um número limitado de ensaios disponíveis, mas poderiam ser importantes na exploração suinícola. Por exemplo, em dietas naturalmente contaminadas com micotoxinas de *Fusarium*, o EPCL ajudou indiretamente a manter a neuroquímica cerebral do suíno através de um aumento limitado da serotonina no cérebro e do ácido hidroxindolacético, o que, por sua vez, impediu uma redução do consumo de alimentos e das letargias associadas ao *Fusarium* [75]. Além disso, os suínos que consumiram EPCL durante os desafios com micotoxinas demonstraram ter níveis mais baixos de stress oxidativo [33,76], nível de imunoglobulina mais forte [33,39] e menos impactos negativos das micotoxinas na morfologia do trato intestinal [13,41]. Ademais, pesquisas que investigaram o microbioma intestinal indicaram que o EPCL pode desempenhar um papel na redução de bactérias patogênicas, preservando a diversidade microbiótica comensal no trato gastrointestinal em várias espécies de animais e peixes [33,77].

#### 4. Conclusões

Os resultados desta meta-análise de efeitos aleatórios com metarregressão mostraram que o consumo de alimentos contaminados com micotoxinas em níveis iguais/inferiores e superiores aos limites regulamentares pode ter um impacto negativo no desempenho de crescimento dos suínos. É importante ressaltar que esta meta-análise também fornece informações úteis para nutricionistas de suínos e suinicultores sobre a gestão de micotoxinas através do uso de EPCL, com apoio particular para o seu uso quando as micotoxinas estão em níveis comumente observados no campo. Neste caso, o desempenho dos suínos não só foi potenciado e melhorado em relação ao desafio isolado com micotoxinas, como também voltou ao desempenho dos suínos que não consumiram micotoxinas. Por conseguinte, o uso de EPCL em rações a uma taxa média de cerca de 2,0 kg/t poderia ser recomendado para restaurar níveis ótimos de desempenho e rentabilidade na suinicultura.

#### 5. Materiais e métodos

##### 5.1. Pesquisa da literatura e seleção de referências

Foi efetuada uma pesquisa bibliográfica em abril de 2022. Tanto estudos publicados como relatórios de ensaios não publicados que avaliaram o efeito da inclusão de EPCL (Mycosorb®, Alltech Inc., KY, EUA) durante desafios com micotoxinas no impacto do desempenho de suínos em crescimento foram utilizados nesta meta-análise. O extrato da parede celular do EPCL compõe 15–30% do peso seco da célula *Saccharomyces cerevisiae* usada, sendo os componentes principais  $\beta$ -(1,3)-D-glucanos e  $\beta$ -(1,6)-D-glucanos (definidos como glucanos, que foram correlacionados com a atividade de adsorção de micotoxinas e representaram entre 25% e 35% da massa do extrato da parede celular da levedura), manoproteínas (contribuindo com nada menos que 18% da proteína da parede celular) e quitina. Estes componentes possuem ligação covalente a complexos macromoleculares, que são montados para formar a parede intacta, muitas vezes descrita como um “bloco de construção flexível” [78,79], formando uma rede tridimensional que envolve a célula toda. Esta rede é mantida unida por alinhamentos locais entre segmentos de moléculas de  $\beta$ -(1,3)-D-glucano, permitindo a formação de múltiplas pontes de hidrogénio. O material argiloso está presente nos produtos testados como agente antiaglomerante, não devendo exceder uma taxa de inclusão de 2% no material.

A pesquisa bibliográfica publicada foi levada a cabo através de bases de dados online (Google Scholar, Agricola, Pubmed). As palavras-chave de pesquisa incluíram “micotoxinas” e “porcos” ou “suínos” em todas as pesquisas, juntamente com pelo menos uma palavra-chave adicional de “extrato de parede celular de levedura”, “glucomanano esterificado”, “polímero de glucomanano”, “Mycosorb®” ou “Alltech”. Não houve restrições de data ou região nos motores de pesquisa. Além disso, ensaios não publicados disponíveis em apresentações de conferências ou na base de dados interna da Alltech foram incluídos nesta meta-análise para fornecer uma gama mais ampla de dados. Aumentar o número e as fontes de dados, incluindo dados não publicados, pode reduzir o risco de viés de publicação [80,81].

Após a pesquisa bibliográfica, tanto as pesquisas publicadas como as não publicadas foram sujeitas a triagem de seleção com base nas seguintes condições: (1) os ensaios foram efetuados com leitões desmamados ou em fase de crescimento/engorda; (2) a pesquisa continha pelo menos um tratamento com MT, bem como pelo menos um tratamento com EPCL+MT; (3) era preferível (mas não obrigatória) a inclusão de um tratamento controlo sem micotoxinas detetáveis ou conteúdo mínimo de micotoxinas (CTRL); (4) eram necessários detalhes do tipo e concentração da micotoxina; (5) a taxa de inclusão do EPCL era necessária; (6) pelo menos uma variável de desempenho incluindo GMD, CMDA e IEA tinha sido fornecida; e (7) o ensaio relatava o número de dias do período experimental e o número de animais. Um fluxograma PRISMA que evidencia o processo de revisão sistemática é mostrado na secção Materiais suplementares, Figura S1, seguindo o processo de recolha de dados descrito por Page *et al.* [82].

Para avaliar melhor o impacto dos diferentes níveis de micotoxinas no desempenho dos suínos, foram aplicados métodos de metarregressão para categorizar cada ensaio em qualquer categoria (1) todas as micotoxinas registadas iguais ou inferiores aos limites regulamentares recomendados pela UE e pelos EUA para alimentos concebidos para a engorda dos suínos (Tabela 3); ou categoria (2) pelo menos uma micotoxina relatada acima desses limites.

Foi utilizada uma combinação de níveis regulatórios para os níveis-limite da categoria; especificamente, os limites da UE foram usados para todas as micotoxinas listadas na Tabela 3 exceto o DON. Foram utilizadas as diretrizes recomendadas pela Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Medicamentos) dos Estados Unidos para o DON de 1000 µg/kg [83] em vez das diretrizes da UE de 900 µg/kg [5], a fim de incluir dois ensaios adicionais na categoria 1 (ensaios [24] e [27]) para uma melhor distribuição global dos ensaios da categoria. Estes dois ensaios tinham níveis de DON de 990 µg/kg [24] e 1000 µg/kg [27]. Foram utilizados limites apropriados para a idade dos suínos em cada ensaio, tanto na fase de desmame quanto na de engorda, caso fossem especificadas diretrizes diferentes para esse tipo de micotoxina. Não há limites publicados para tricotecenos totais do tipo B; assim, neste caso foram utilizadas as diretrizes para o DON. Além disso, notou-se a presença do AcF em vários ensaios. Não existem níveis regulatórios de orientação para o AcF, pelo que este não foi tido em conta na divisão por categorias, mas todos os ensaios com AcF estão na categoria 2 devido a concentrações mais elevadas de outras micotoxinas.

**Tabela 3.** Níveis regulatórios de orientação para micotoxinas utilizados como referência para a determinação das categorias de metarregressão 1 e 2. Os limites baseiam-se nos sugeridos para os alimentos para a engorda de suínos [5–7, 83].

Micotoxina	Níveis de orientação (µg/kg)	
	Desmame	Engorda
Aflatoxinas	5	20
Ocratoxina A	50	50
Desoxinivalenol	1000	1000
Toxinas T-2 + HT-2	250	250
Fumonisinina B1 + B2	5000	5000
Zearalenona	100	250

### 5.2. Recolha de dados

O impacto dos tratamentos com MT e EPCL+MT nos suínos foi avaliado através das variáveis de desempenho GMD, CMDA e IEA. O ganho médio diário foi fornecido em todos os ensaios exceto dois, sendo que o último forneceu o ganho de peso total. Nestes dois casos, calculamos o GMD usando o ganho total publicado dividido pelo número de dias do ensaio. Houve quatro fontes que não forneceram informações sobre o consumo de alimentos, mas todas as outras mencionaram o CMDA. A maioria das referências evidenciava o IEA, mas havia cinco que forneciam o índice de conversão alimentar (isto é, alimento consumido/ganho de peso). Nestes casos, o IEA foi calculado manualmente a partir dos resultados do GMD e do CMDA. Além disso, um ensaio não forneceu informações sobre eficiência alimentar ou CMDA; portanto, apenas o GMD foi utilizado para este ensaio.

### 5.3. Análise estatística

#### 5.3.1. Meta-análise

Os tamanhos médios de efeito foram calculados a partir das diferenças médias brutas de cada variável de resposta (isto é, GMD, CMDA ou IEA) dos grupos de tratamento (CTRL, MT e EPCL+MT) relatados em cada estudo. O erro-padrão (EP) e o tamanho da amostra para cada grupo de tratamento também foram recolhidos em cada ensaio. Nos casos em que o EP não foi relatado, foi calculado um EP médio para cada grupo de tratamento dos estudos disponíveis, que serviu como valor para dados em falta.

Uma meta-análise hierárquica de efeitos aleatórios foi empregada como primeira etapa da análise [58,84,85], que assumiu uma heterogeneidade *a priori* nos tamanhos médios de efeito entre os estudos devido a diferenças no desenho experimental e na metodologia [19]. Uma meta-análise é um método quantitativo, formal e estatístico usado para avaliar e integrar sistematicamente os resultados de um conjunto de pesquisas, a fim de obter conclusões [17]. Os resultados da meta-análise podem gerar uma estimativa mais precisa dos efeitos do tratamento do que qualquer estudo individual, como resultado dos dados agrupados. O modelo de efeitos aleatórios incorpora uma estimativa de variação ou heterogeneidade entre estudos [18]. O modelo de meta-análise foi especificado como,

$$\hat{\theta}_i = \mu + e_i + \zeta_i \quad (1)$$

em que  $\theta_i$  é o tamanho do efeito observado no  $i$ -ésimo estudo,  $\mu$  representa um tamanho médio de efeito verdadeiro a partir de uma distribuição de tamanhos de efeito verdadeiros,  $e_i$  é o erro de amostragem associado com  $e_i \sim N(0, v_i)$ , e  $\zeta_i$  é o erro associado à distribuição de tamanhos de efeito (ou seja, heterogeneidade entre estudos) com  $\zeta_i \sim N(0, \tau^2)$ . A variância amostral ( $v_i$ ) foi utilizada nos estudos ou calculada usando o método descrito acima. A variância associada à distribuição dos tamanhos de efeito ( $\tau^2$ ) foi estimada usando a máxima verossimilhança restrita [86]. Não se utilizou transformação de dados para assumir estimativas normalmente distribuídas.

Foram gerados gráficos em funil para investigar o viés de publicação. Os gráficos em funil são gráficos de dispersão que representam graficamente as estimativas de efeito de ensaios individuais comparados com a precisão do estudo [87]. As estimativas de efeito para estudos maiores serão mais restritas, enquanto estudos menores serão mais amplamente dispersos na parte inferior do gráfico. O viés de publicação foi quantificado através do teste de Egger [88]. O teste de Egger examina a assimetria em gráficos de funil de tamanho de efeito e EP médio e pode sugerir viés de publicação. A heterogeneidade entre estudos foi avaliada usando a estatística de heterogeneidade calculada ( $I^2$ ) [89,90]. A heterogeneidade é uma medida da diversidade de efeitos entre os estudos e pode ser detetada se a variação entre os resultados estiver acima do esperado pelo acaso [91]. Esta estatística é calculada como:

$$I^2 = \frac{Q - df}{Q} \times 100\% \quad (2)$$

onde  $Q$  é a estatística qui-quadrado calculada e  $df$  são os graus de liberdade associados a uma comparação. Os valores calculados de heterogeneidade ( $I^2$ ) representam diferenças não contabilizadas nos tamanhos médios de efeito entre os tratamentos (CTRL, MT e EPCL+MT) para cada variável de resposta (GMD, CMDA, e IEA). Valores menores de  $I^2$  (< 50%) indicam menor heterogeneidade, enquanto valores maiores (> 50%) indicam maior heterogeneidade [17,89]. Entre todas as análises, os valores de  $I^2$  variaram de 26% a 92%. Uma ampla variação semelhante nos valores de  $I^2$  é relatada noutro trabalho de meta-análise [87]. Foi levantada a hipótese de que a divisão dos ensaios pelo conteúdo de micotoxinas explicaria a variabilidade adicional não contabilizada das meta-análises globais.

### 5.3.2. Metarregressão de metaefeitos

A heterogeneidade não explicada foi explorada examinando os efeitos da concentração de micotoxinas, a covariável, na meta-análise geral usando metarregressão de efeitos mistos. Cada ensaio foi colocado numa das duas categorias, 1 ou 2, descritas anteriormente. Estas duas categorias foram escolhidas como uma forma de avaliar os efeitos das micotoxinas em níveis inferiores às orientações regulamentares e, portanto, podem ser comumente experimentados na exploração suínica ou superiores às orientações regulamentares, o que pode ocorrer de forma mais esporádica. Como tal, para examinar os efeitos da concentração de micotoxinas no desempenho dos suínos, foi utilizada uma metarregressão de efeitos mistos [87,92]. O modelo foi especificado como:

$$\hat{\psi}_i = \psi + \beta x_i + e_i + \zeta_i \quad (3)$$

em que  $e_i \sim N(0, v_i)$  e  $\zeta_i \sim N(0, \tau^2)$ . O modelo estima o tamanho médio do efeito ( $\hat{\psi}_i$ ) no  $i$ -ésimo estudo como uma função da covariável nível de micotoxina ( $x_i$ ) com coeficiente de regressão  $\beta$ . Os termos de erro  $e_i$  e  $\zeta_i$  foram definidos anteriormente na nossa meta-análise geral. Os coeficientes de metarregressão calculados foram usados para descrever relações lineares entre tamanhos médios de efeito dos grupos de tratamento (CTRL, MT e EPCL+MT) e variáveis de resposta (GMD, CMDA e IEA) para os dois níveis de categoria. Foram avaliadas duas regressões que incluíram ou excluíram o termo de intercepto. Primeiro, um teste de metarregressão sem intercepto permitiu examinar como os subgrupos (categorias 1 e 2) influenciaram os dois tamanhos médios de efeito comparados e se esses tamanhos de efeito eram estatisticamente diferentes de zero. Em segundo lugar, um teste de metarregressão com o intercepto permitiu determinar se havia diferenças estatísticas no tamanho médio do efeito entre as duas categorias de concentrações de micotoxinas. A meta-análise de efeitos aleatórios e a metarregressão foram efetuadas utilizando o R [93], o R Studio (versão 1.4.1106, RStudio, Boston, MA, EUA) [94] e o pacote metafor ('META-analysis FOr R') [95].

A significância estatística foi considerada como valor de alfa menor que 0,05 e entre 0,05 e 0,10 como tendência.

**Materiais suplementares:** As seguintes informações de suporte podem ser descarregadas em: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/toxins15100596/s1>, Figura S1: O fluxograma PRISMA que evidencia a pesquisa, triagem e seleção final de ensaios incluídos na meta-análise de efeitos aleatórios com metarregressão que investiga a influência de micotoxinas com ou sem suplementação de extrato de parede celular de levedura (Mycosorb®, Alltech Inc.) no crescimento de suínos; Figura S2: Blobogramas que mostram a diferença média no ganho médio diário para suínos em crescimento a partir da meta-análise geral de efeitos aleatórios; Figura S3: Blobogramas que revelam a diferença média no consumo médio diário de alimentos para suínos em crescimento a partir da meta-análise geral de efeitos aleatórios; Figura S4: Blobogramas que evidenciam a diferença média no índice de eficiência alimentar para suínos em crescimento a partir da meta-análise geral de efeitos aleatórios; Figura S5: Gráficos em funil para avaliação do viés de publicação dos estudos incluídos na meta-análise de efeitos aleatórios para o ganho médio diário; Figura S6: Gráficos em funil para avaliação do viés de publicação dos estudos incluídos na meta-análise de efeitos aleatórios para o consumo médio diário de alimentos; Figura S7: Gráficos em funil para avaliação do viés de publicação de estudos incluídos na meta-análise de efeitos aleatórios para o índice de eficiência alimentar.

**Contribuições dos autores:** Concetualização, A.C.W., D.M.W., N.A. e A.Y.; Metodologia, A.C.W. e D.M.W.; Software, D.M.W.; Análise formal, A.C.W. e D.M.W.; Investigação, A.C.W.; Tratamento dos dados, A.C.W. e D.M.W.; Redação – rascunho original, A.C.W. e D.M.W.; Redação – revisão e edição, A.C.W., D.M.W., N.A. e A.Y.; Visualização, A.C.W.; Supervisão, N.A.; Administração do projeto, N.A. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

**Financiamento:** Esta pesquisa não recebeu financiamento externo.

**Conflitos de interesse:** Os autores A.C.W., A.Y. e N.A. são funcionários da Alltech que produz e comercializa Mycosorb®, o produto comercial avaliado nesta meta-análise.

## Referências

1. Devreese, M.; De Backer, P.; Croubels, S. (Visão geral das micotoxinas mais importantes para a suinicultura e avicultura. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr. (Jornal Flamengo de Medicina Veterinária)* **2013**, *82*, 171–180. [CrossRef]
2. Weaver, A.C.; Weaver, D.M.; Adams, N.; Yiannikouris, A. Coocorrência de 35 micotoxinas: uma pesquisa de sete anos sobre grãos de milho e silagem de milho nos Estados Unidos. *Toxins (Toxinas)* **2021**, *13*, 516. [CrossRef] [PubMed]
3. Moretti, A.; Pascale, M.; Logrieco, A.F. Riscos das micotoxinas num cenário de alterações climáticas na Europa. *Trends Food Sci. Technol. (Tendências em Ciência Alimentar e Tecnologia)* **2019**, *84*, 38–40. [CrossRef]
4. Pierron, A.; Alassane-Kpembé, I.; Oswald, I.P. Impacto da micotoxina na resposta imunitária e consequências para a saúde dos suínos. *Anima. Nutr. (Nutrição Animal)* **2016**, *2*, 63–68. [CrossRef]
5. Recomendação da Comissão (UE) 2016/1319 de 29 de julho de 2016, que altera a Recomendação 2006/576/CE no que respeita ao desoxinivalenol, à zearalenona e à ocratoxina A nos alimentos para animais de estimação (texto com relevância para o Espaço Económico Europeu). *Off. J. Eur. Union (Jornal Oficial da União Europeia)* **2016**, *208*, 58–59. Disponível online: <http://data.europa.eu/eli/reco/2016/1319/oj> (acedido a 1 de julho de 2021).
6. Recomendação da Comissão (UE) n.º 574/2011 de 16 de junho de 2011, que altera o anexo 1 da Diretiva 2002/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho no que diz respeito aos níveis máximos de nitrato, melamina, *Ambrosia* spp. e transferência de determinados coccidiostáticos e histomonostáticos e consolidação dos anexos I e II dos mesmos (texto com relevância para o Espaço Económico Europeu). *Off. J. Eur. Union (Jornal Oficial da União Europeia)* **2011**, *159*, 7–24. Disponível online: <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/574/oj> (acedido a 10 de novembro de 2021).
7. Recomendação da Comissão (UE) de 27 de março de 2013 sobre a presença das toxinas T-2 e HT-2 em cereais e produtos à base de cereais (texto com relevância para o Espaço Económico Europeu). *Off. J. Eur. Union (Jornal Oficial da União Europeia)* **2016**, *208*, 58–59. Disponível online: <http://data.europa.eu/eli/reco/2013/165/oj> (acedido a 10 de novembro de 2021).
8. Moon, S.-H.; Koh, S.-E.; Oh, Y.; Cho, H.-S. A exposição a baixas concentrações de micotoxinas desencadeia respostas únicas no microbioma intestinal do suíno). *Korean J. Vet. Serv. (Jornal Coreano de Serviços Veterinários)* **2020**, *43*, 39–44. [CrossRef]
9. Oswald, I.P.; Desautels, C.; Laddette, J.; Fournout, S.; Peres, S.Y.; Odín, M.; Le Bars, P.; Le Bars, J.; Fairbrother, J. M. A micotoxina fumonisina B1 aumenta a colonização intestinal por *Escherichia coli* patogénica em suínos. *Appl. Environ. Microbiol. (Microbiologia Ambiental e Aplicada)* **2003**, *69*, 5870. [CrossRef]
10. Jia, R.; Liu, W.; Zhao, L.; Cao, L.; Shen, Z. Doses baixas de desoxinivalenol e zearalenona individuais e combinados em dietas naturalmente bolorentas prejudicam as funções intestinais por meio da indução de inflamação e da rutura da barreira epitelial no intestino dos leitões. *Toxicol. Lett. (Cartas sobre Toxicologia)* **2020**, *333*, 159–169. [CrossRef]
11. Weaver, A.C.; Adams, N.; Yiannikouris, A. Uso de tecnologia para avaliar e monitorizar desafios de multimicotoxinas e micotoxinas emergentes em alimentos para animais. *Appl. Anim. Sci. (Ciência Animal Aplicada)* **2020**, *36*, 19–25. [CrossRef]
12. Čolović, R.; Puvača, N.; Cheli, F.; Avantiaggiato, G.; Greco, D.; Duragić, O.; Kos, J.; Pinotti, L. Descontaminação de alimentos e alimentos compostos (para animais) contaminados por micotoxinas. *Toxins (Toxinas)* **2019**, *11*, 617. [CrossRef] [PubMed]

13. Weaver, A.C.; King, W.D.; Verax, M.; Fox, U.; Kudupoje, M.B.; Mathis, G.; Lumpkins, B.; Yiannikouris, A. Impacto dos níveis crônicos de alimentos naturalmente multicontaminados com micotoxinas de *Fusarium* em frangos de carne e avaliação das propriedades de mitigação de diferentes títulos de extrato de parede celular de levedura. *Toxins (Toxinas)* **2020**, *12*, 636. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Kolawole, O.; Meneely, J.; Greer, B.; Chevallier, O.; Jones, D.S.; Connolly, L.; Elliott, C. Avaliação comparativa *in vitro* de uma variedade de aditivos comerciais para rações com múltiplas alegações de ligação a micotoxinas. *Toxins (Toxinas)* **2019**, *11*, 659. [[CrossRef](#)]
15. Yiannikouris, A.; Apajalahti, J.; Kettunen, H.; Ojanperä, S.; Bell, A.N.W.; Keegan, J.D.; Moran, C. A. Sequestro eficiente de aflatoxina B1 por extrato de parede celular de levedura e aluminossilicato de cálcio e sódio hidratado avaliado usando uma metodologia multimodal *in vitro* e *ex vivo*. *Toxins (Toxinas)* **2021**, *13*, 24. [[CrossRef](#)]
16. Holanda, D.M.; Kim, S.W. Ocorrência de micotoxinas, toxicidade e agentes desintoxicantes na suinicultura com ênfase no desoxinivalenol. *Toxins (Toxinas)* **2021**, *13*, 171. [[CrossRef](#)]
17. Lean, I.J.; Rabiee, A.R.; Duffield, T.F.; Dohoo, I.R. Revisão convidada: Uso da meta-análise na saúde e reprodução animal: Métodos e aplicações. *J. Dairy Sci. (Jornal de Ciência de Laticínios)* **2009**, *92*, 3545–3565. [[CrossRef](#)]
18. Harris, R.J.; Bradburn, M.J.; Deeks, J.J.; Harbord, R.M.; Altman, D.G.; Sterne, J.A.C. Metan: Meta-análise de efeitos fixos e aleatórios. *Stata J. (Jornal Stata)* **2008**, *8*, 3–28. [[CrossRef](#)]
19. Bornstein, M.; Hedges, L.V.; Higgins, J.P.T.; Rothstein, H.R. Uma introdução básica aos modelos de efeito fixo e de efeito aleatório para meta-análise. *Res. Synth. Methods (Métodos para Síntese da Pesquisa)* **2010**, *1*, 97–111. [[CrossRef](#)]
20. Imrey, P.B. Limitações das meta-análises de estudos com alta heterogeneidade. *JAMA Netw. Open (Jornal Médico JAMA Network)* **2020**, *3*, e1919325. [[CrossRef](#)]
21. Battaccone, G.; Carboni, G.; Nicolussi, P.; Ligios, C.; Pulina, G. Utilização de um polímero de glucomanano para reduzir os efeitos de dietas contaminadas com micotoxinas na engorda de suínos. *Ital. J. Anim. Sci. (Jornal Italiano de Ciência Animal)* **2007**, *6* (Supl. 1), 673–675. [[CrossRef](#)]
22. Bobin, A. Uso de um agente desintoxicante de micotoxinas para melhorar a saúde de leitões em engorda. Tese de mestrado, Academia Veterinária da Universidade Lituana de Ciências da Saúde, Kaunas, Lituânia, 2018.
23. Hackl, W.; Spitschack, K.; Zwierz, P.; Spring, P. Efeito de adsorventes de toxinas à base de parede celular de levedura no desempenho e saúde de marrãs alimentadas com dietas que contêm zearalenona e DON. Atas do 19.º Simpósio Anual de Biotecnologia das Indústrias de Ração e Alimentos da Alltech, Lexington, KY, EUA, 11–14 de maio de 2003.
24. Holanda, D.M.; Yiannikouris, A.; Kim, S.W. Investigação da eficácia de uma mistura pós-biótica à base de parede celular de levedura em leitões recém-desmamados submetidos a um desafio dietético de múltiplas micotoxinas, com ênfase no desoxinivalenol. *Toxins (Toxinas)* **2020**, *12*, 504. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Moran, C.A.; Yiannikouris, A.; Keegan, J.D.; Vienola, K.; Apajalahti, J. O efeito da aflatoxina B1 e da zearalenona no crescimento de suínos e o uso de Mycosorb A+. Manuscrito não publicado. 2019.
26. Yiannikouris, A.; Vartiainen, R.; Koivunen, E.; Raatikainen, K.; Apajalahti, J.; Moran, C.A. Efeito do desoxinivalenol e zearalenona no desempenho de suínos em crescimento e o uso de Mycosorb A+. Manuscrito não publicado. 2022.
27. Mahan, D. Avaliação de três inibidores comerciais de micotoxinas adicionados a dietas de milho contaminadas com vomitoxina (DON) para leitões desmamados: Um relatório dos comitês regionais NCCC-042, S-1044 e NCERA-89 sobre nutrição e gestão de suínos. Atas da Conferência de Nutrição Suína da Região Centro-Oeste, Indianápolis, IN, 9 de setembro de 2010.
28. Moran, C.A.; Yiannikouris, A.; Keegan, J.D.; Vienola, K.; Apajalahti, J. O efeito de Mycosorb A+ e zearalenona no crescimento de suínos. Manuscrito não publicado. 2017.
29. Swamy, H.V.L.N.; Skinner, S.; Groenewegen, P. Estudo financeiro da inclusão de Mycosorb® em dietas para leitões desmamados contaminadas com baixos níveis de vomitoxina. Atas do 26.º Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde Animal, Lexington, KY, EUA, 16–19 de maio de 2010.
30. Verbrugge, E.; Croubels, S.; Vandenbroucke, V.; Goossens, J.; De Backer, P.; Eeckhout, M.; De Saeger, S.; Boyen, F.; Leyman, B.; Van Parys, A.; *et al.* Um agente adsorvente de micotoxina glucomanano modificado neutraliza o ganho de peso reduzido e diminui a colonização cecal por *Salmonella typhimurium* em suínos expostos à toxina T-2. *Res. Vet. Sci. (Jornal da Pesquisa em Ciência Veterinária)* **2012**, *92*, 1139–1141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Danicke, S.; Goyarts, T.; Valenta, H. Sobre os efeitos específicos e inespecíficos de um adsorvente polimérico de micotoxina glucomanana em leitões quando alimentados com dietas não contaminadas ou com dietas contaminadas com toxinas de *Fusarium*. *Arch. Anim. Nutr. (Arquivos de Nutrição Animal)* **2007**, *61*, 266–275. [[CrossRef](#)]
32. Moran, C.A.; Yiannikouris, A.; Keegan, J.D.; Vienola, K.; Apajalahti, J. O efeito do Mycosorb A+ na absorção de zearalenona do trato digestivo de suínos em crescimento. Atas da 10.ª Conferência do Fórum Global de Micotoxinas, Amsterdão, Países Baixos, 12–14 de março de 2018.
33. Kim, S.W.; Holanda, D.M.; Gao, X.; Park, I.; Yiannikouris, A. Eficácia de um extrato de parede celular de levedura para mitigar o efeito de micotoxinas que ocorrem naturalmente e contaminam os ingredientes dos alimentos fornecidos a suínos jovens: impacto na saúde intestinal, microbioma e crescimento. *Toxins (Toxinas)* **2019**, *11*, 633. [[CrossRef](#)]
34. Kong, C.; Park, C.S.; Kim, B.G. Avaliação de um adsorvente de micotoxinas em dietas para suínos que contêm cevada naturalmente contaminada com micotoxinas de *Fusarium*. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu. (Revista Colombiana de Ciências Pecuárias)* **2016**, *29*, 169–177. [[CrossRef](#)]
35. Nešić, K.; Pupavac, S.; Sinovec, Z.J. Eficácia de diferentes adsorventes no alívio dos efeitos da zearalenona no desempenho de suínos. *Zb. Matice Srp. Prir. Nauk.* **2005**, *108*, 173–179. [[CrossRef](#)]
36. Patience, J.F.; Myers, A.J.; Ensley, S.; Jacobs, B.M.; Madson, D. Avaliação de duas estratégias de mitigação de micotoxinas em dietas para suínos em crescimento/engorda que contêm grãos de milho de destilaria secos com solúveis naturalmente contaminados com desoxinivalenol. *J. Anim. Sci. (Jornal da Ciência Animal)* **2014**, *92*, 620–626. [[CrossRef](#)]

37. Su, J.; Chen, D.; Yu, B.; Wang, X. Efeitos da alimentação de dietas naturalmente contaminadas com micotoxinas de *Fusarium* na utilização de nutrientes em leitões desmamados e os efeitos protetores do adsorvente de micotoxinas Mycosorb®. Atas do 22.º Simpósio Anual de Biotecnologia Nutricional nas Indústrias de Ração e Alimentos da Alltech, Lexington, KY, EUA, 24–26 de abril de 2006.
38. Sun, Y.W.; Park, I.; Guo, J.Y.; Weaver, A.C.; Kim, S.W. Impactos de baixo nível de aflatoxinas em alimentos e uso de extrato de parede celular de levedura modificado no crescimento e na saúde de leitões desmamados. *Anim. Nutr. (Nutrição Animal)* **2015**, *1*, 177–183. [[CrossRef](#)]
39. Swamy, H.V.L.N.; Smith, T.K.; MacDonald, E.J.; Boermans, H.J.; Squires, E.J. Efeitos da alimentação com uma mistura de grãos naturalmente contaminados com micotoxinas de *Fusarium* no desempenho de suínos, na neuroquímica regional do cérebro e na química sérica e na eficácia de um adsorvente polimérico de glucomanano e micotoxina. *J. Anim. Sci. (Jornal da Ciência Animal)* **2002**, *80*, 3257–3267. [[CrossRef](#)]
40. Swamy, H.V.L.N.; Smith, T.K.; MacDonald, E.J.; Karrow, N.A.; Woodward, B.; Boermans, H.J. Efeitos da alimentação com uma mistura de grãos naturalmente contaminados com micotoxinas de *Fusarium* no crescimento e nas medições imunitárias de suínos entre 2 e 4 semanas de desenvolvimento e a eficácia de um adsorvente polimérico de micotoxina glucomanana. *J. Anim. Sci. (Jornal da Ciência Animal)* **2003**, *81*, 2792–2803. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Van Le Thanh, B.; Lessard, M.; Chorfi, Y.; Guay, F. A eficácia dos aditivos alimentares antimicotoxinas na prevenção dos efeitos adversos do trigo naturalmente contaminado com micotoxinas de *Fusarium* no desempenho, na função da barreira intestinal e na digestibilidade e retenção de nutrientes em leitões desmamados. *Can. J. Anim. Sci. (Jornal Canadano de Ciência Animal)* **2015**, *95*, 197–209. [[CrossRef](#)]
42. Weaver, A.C.; See, M.T.; Kim, S.W. Efeito protetor de dois aditivos alimentares à base de levedura em suínos cronicamente expostos ao desoxinivalenol e à zearalenona. *Toxins (Toxinas)* **2014**, *6*, 3336–3353. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Yiannikouris, A.; Vartiainen, R.; Koivunen, E.; Raatikainen, K.; Apajalahati, J.; Moran, C.A. Efeito do Mycosorb A+ na absorção e deposição de desoxinivalenol e zearalenona em suínos em crescimento. Atas da 14.ª Conferência do Fórum Global de Micotoxinas, Parma, Itália, 16–18 de maio de 2022.
44. Andretta, I.; Kipper, M.; Lehnen, C.R.; Hauschild, L.; Vale, M.M.; Lovatto, P.A. Estudo meta-analítico das interações produtivas e nutricionais de micotoxinas em suínos em crescimento. *Animal* **2012**, *6*, 1476–1482. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Kipper, M.; Andretta, I.; Ribeiro, A.M.L.; da Silva Pires, P.G.; Franceschina, C.S.; Cardinal, K.M.; de Oliveira Moraes, P.; Schroeder, B. Avaliação das implicações das micotoxinas na eficiência produtiva de frangos de carne e suínos em crescimento. *Sci. Agric. (Jornal "Scientia Agricola")* **2020**, *77*, e20180236. [[CrossRef](#)]
46. Gerez, J.R.; Pinton, P.; Callu, P.; Grosjean, F.; Oswald, I.P.; Bracarense, A.P.F. Desoxinivalenol isolado ou em combinação com nivalenol e zearalenona induz alterações histológicas sistêmicas em suínos. *Exp. Toxicol. Patol. (Patologia Toxicológica e Experimental)* **2015**, *67*, 89–98. [[CrossRef](#)]
47. Alassane-Kpembé, I.; Puel, O.; Oswald, I.P. Interações toxicológicas entre as micotoxinas desoxinivalenol, nivalenol e os seus derivados acetilados nas células epiteliais intestinais. *Arch. Toxicol. (Arquivos da Toxicologia)* **2015**, *89*, 1337–1346. [[CrossRef](#)]
48. Alassane-Kpembé, I.; Puel, O.; Pinton, P.; Cossalter, A.M.; Chou, T.C.; Oswald, I.P. A coexposição a baixas doses dos contaminantes alimentares desoxinivalenol e nivalenol tem um efeito inflamatório sinérgico nos explantes intestinais. *Arch. Toxicol. (Arquivos da Toxicologia)* **2017**, *91*, 2677–2687. [[CrossRef](#)]
49. Alizadeh, A.; Braber, S.; Akbari, P.; Kraneveld, A.D.; Garssen, J.; Fink-Gremmels, J. O desoxinivalenol e as suas formas modificadas: Existem grandes diferenças? *Toxins (Toxinas)* **2016**, *8*, 334. [[CrossRef](#)]
50. Gratz, S.W.; Currie, V.; Richardson, A.J.; Duncan, G.; Holtrop, G.; Farquharson, F.; Louis, P.; Pinton, P.; Oswald, I.P.; Björkroth, J. A microbiota suína do intestino delgado e grosso hidrolisa rapidamente a micotoxina mascarada desoxinivalenol-3-glicosídeo e liberta desoxinivalenol em culturas em lote *in vitro* enriquecidas com o mesmo. *Appl. Environ. Microbiol. (Microbiologia Ambiental e Aplicada)* **2018**, *84*, e02106-17. [[CrossRef](#)]
51. Broekaert, N.; Devreese, M.; Van Bergen, T.; Schauvliege, S.; De Boevre, M.; De Saeger, S.; Vanhaecke, L.; Berthiller, F.; Michlmayr, H.; Malachová, A.; et al. Contribuição *in vivo* do desoxinivalenol-3-β-d-glicosídeo para a exposição ao desoxinivalenol em frangos de carne e suínos: biodisponibilidade oral, hidrólise e toxicocinética. *Arch. Toxicol. (Arquivos da Toxicologia)* **2016**, *91*, 699–712. [[CrossRef](#)]
52. Kolf-Clauw, M.; Sassahara, M.; Lucio, J.; Rubira-Gerez, J.; Alassane-Kpembé, I.; Lyazhri, F.; Borin, C.; Oswald, I.P. A micotoxina emergente, eniatina B1, modula negativamente a toxicidade gastrointestinal da toxina T-2 *in vitro* em células epiteliais intestinais e *ex vivo* em explantes intestinais. *Arch. Toxicol. (Arquivos da Toxicologia)* **2013**, *87*, 2233–2241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Gruber-Dorninger, C.; Novak, B.; Nagl, V.; Berthiller, F. Micotoxinas emergentes: mais além dos contaminantes alimentares tradicionalmente determinados. *J. Agric. Food Chem. (Jornal de Química Agrícola e Alimentar)* **2017**, *65*, 7052–7070. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Fraeyman, S.; Croubels, S.; Devreese, M.; Antonissen, G. As micotoxinas emergentes, *Fusarium* e *Alternaria*: ocorrência, toxicidade e toxicocinética. *Toxins (Toxinas)* **2017**, *9*, 228. [[CrossRef](#)]
55. Nešić, K.; Habschied, K.; Mastanjević, K. Possibilidades para o controlo biológico de micotoxinas em alimentos e rações. *Toxins (Toxinas)* **2021**, *13*, 198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Zhu, Y.; Hassan, Y.; Lepp, D.; Shao, S.; Zhou, T.; Zhu, Y.; Hassan, Y.; Lepp, D.; Shao, S.; Zhou, T. Estratégias e metodologias para o desenvolvimento de sistemas de desintoxicação microbiótica para mitigar micotoxinas. *Toxins (Toxinas)* **2017**, *9*, 130. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Papp, L.A.; Horváth, E.; Peles, F.; Pócsi, I.; Miklós, I. Descobertas sobre as relações levedura-micotoxina. *Agriculture (Agricultura)* **2021**, *11*, 1291. [[CrossRef](#)]
58. Weaver, A.C.; Weaver, D.M.; Yiannikouris, A.; Adams, N. Meta-análise dos efeitos das micotoxinas e da suplementação com extrato de parede celular de levedura no desempenho, habitabilidade e sustentabilidade ambiental da produção de frangos de carne. *Poult. Sci. (Ciência Avícola)* **2022**, *101*, 102043. [[CrossRef](#)]
59. Xu, R.; Kiarie, E.G.; Yiannikouris, A.; Sun, L.; Karroo, N.A. Impacto nutricional das micotoxinas na produção animal e estratégias para a mitigação. *J. Anim. Sci. Biotechnol. (Jornal de Ciência Animal e Biotecnologia)* **2022**, *13*, 69. [[CrossRef](#)]
60. Marin, D.E.; Taranu, I.; Bunaciu, R.P.; Pascale, F.; Tudor, D.S.; Avram, N.; Sarca, M.; Cureu, I.; Criste, R.D.; Suta, V.; et al. Alterações no desempenho, parâmetros sanguíneos, respostas imunes humorais e celulares em leitões desmamados expostos a baixas doses de aflatoxina. *J. Anim. Sci. (Jornal da Ciência Animal)* **2002**, *80*, 1250–1257. [[CrossRef](#)]

61. Becker, C.; Reiter, M.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.; Bauer, J.; Meyer, K.H. Expressão de genes imunologicamente relevantes em suínos sob a influência de baixas doses de desoxinivalenol (DON). *Mycotoxin Res. (Pesquisa sobre Micotoxinas)* **2011**, *27*, 287–293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. House, J.D.; Abramson, D.; Crow, G.H.; Nyachoti, C.M. Consumo de alimentos, crescimento e parâmetros de carcaça de suínos a consumirem dietas que contêm baixos níveis de desoxinivalenol de cevada naturalmente contaminada. *Can. J. Anim. Sci. (Jornal Canadiano de Ciência Animal)* **2002**, *82*, 559–565. [[CrossRef](#)]
63. Muñoz-Solano, B.; González-Peñas, E. Coocorrência de micotoxinas em alimentos para bovinos, suínos, aves e ovinos em Navarra, uma região do norte da Espanha. *Toxins (Toxinas)* **2023**, *15*, 172. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Streit, E.; Schatzmayr, G.; Tassis, P.; Tzika, E.; Marin, D.; Taranu, I.; Tabuc, C.; Nicolau, A.; Aprodu, I.; Puel, O.; et al. Situação atual de contaminação por micotoxinas e coocorrência na alimentação animal – foco na Europa. *Toxins (Toxinas)* **2012**, *4*, 788–809. [[CrossRef](#)]
65. Santos Pereira, C.C.; Cunha, S.; Fernandes, J.O. Micotoxinas prevalentes na alimentação animal: ocorrência e métodos analíticos. *Toxins (Toxinas)* **2019**, *11*, 290. [[CrossRef](#)]
66. Pitt, J.I. Economia das micotoxinas: avaliação dos custos para a sociedade e da relação custo-eficácia das intervenções. *IARC Sci. Publ. (Publicação Científica da Agência Internacional para a Pesquisa sobre o Câncer)* **2012**, *158*, 119–129.
67. Magnoli, A.P.; Poloni, V.L.; Cavaglieri, L. Impacto da contaminação por micotoxinas na indústria dos alimentos para animais. *Curr. Opin. Food Sci. (Opinião Corrente na Ciência Alimentar)* **2019**, *29*, 99–108. [[CrossRef](#)]
68. Marin, D.E.; Braicu, C.; Gras, M.A.; Pistol, G.C.; Petric, R.C.; Neagoe, I.B.; Palade, M.; Taranu, I. Baixo nível de ocratoxina A afeta a expressão ao nível do genoma do rim do suíno. *Toxicol.* **2017**, *136*, 67–77. [[CrossRef](#)]
69. Liu, D.; Ge, L.; Wang, Q.; Su, J.; Chen, X.; Wang, C. Contaminação de baixo nível de desoxinivalenol: uma ameaça de toxinas ambientais à infecção pelo vírus da diarreia epidêmica suína. *Environ. Int. (Ambiente Internacional)* **2020**, *143*, 105949. [[CrossRef](#)]
70. Maruo, V.M.; Bracarense, A.P.; Metayer, J.-P.; Vilarino, M.; Oswald, I.P.; Pinton, P. Os alcaloides da cravagem em doses próximas aos limites regulatórios da UE levam a alterações no fígado e no intestino. *Toxins (Toxinas)* **2018**, *10*, 183. [[CrossRef](#)]
71. Mace, O.J.; Marshall, F. Simpósio de fisiologia digestiva do suíno: sensorização química intestinal e regulação da absorção de nutrientes e fornecimento de energia. *J. Anim. Sci. (Jornal de Ciência Animal)* **2013**, *91*, 1932–1945. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Sauvé, B.; Chorfi, Y.; Montminy, M.-P.L.; Guay, F. A suplementação de vitamina D impacta o metabolismo do cálcio e do fósforo em leitões alimentados com uma dieta contaminada com desoxinivalenol e desafios com lipopolissacarídeos. *Toxins (Toxinas)* **2023**, *15*, 394. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Verbrugge, E.; Vandenbroucke, V.; Dhaenens, M.; Shearer, N.; Goossens, J.; De Saeger, S.; Eeckhout, M.; D’Herde, K.; Thompson, A.; Deforce, D.; et al. A intoxicação por *Salmonella typhimurium* induzida pela toxina T-2 resulta na diminuição do número de *Salmonella* no conteúdo cecal de suínos, apesar dos efeitos marcantes nas interações entre *Salmonella* e célula hospedeira. *Vet. Res. (Pesquisa sobre Medicina Veterinária)* **2012**, *43*, 22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. van Limbergen, T.; Devreese, M.; Croubels, S.; Broekaert, N.; Michiels, A.; De Saeger, S.; Maes, D. Papel das micotoxinas em varas com e sem problemas de necrose da cauda em suínos neonatos. *Vet. Rec. (Jornal de Medicina Veterinária)* **2017**, *181*, 539. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Swamy, H.V.L.N.; Smith, T.K.; MacDonald, E.J. Efeitos de misturas alimentares de grãos naturalmente contaminados com micotoxinas *Fusarium* na neuroquímica regional do cérebro de suínos de idade compreendida entre 2 e 4 semanas e frangos de carne. *J. Anim. Sci. (Jornal de Ciência Animal)* **2004**, *82*, 2131–2139. [[CrossRef](#)]
76. Van Le Thanh, B.; Lessard, M.; Chorfi, Y.; Guay, F. COMUNICAÇÃO CURTA: Capacidade antioxidante na mucosa intestinal de leitões desmamados alimentados com dietas que contêm micotoxinas de *Fusarium* e a eficácia de suplementos comerciais vendidos como desintoxicantes. *Can. J. Anim. Sci. (Jornal Canadiano de Ciência Animal)* **2015**, *95*, 569–575. [[CrossRef](#)]
77. Wang, T.; Yang, J.; Lin, G.; Li, M.; Zhu, R.; Yiannikouris, A.; Wang, R.; Zhang, Y.; Mai, K. Avaliação da eficácia de mitigação de um extrato de parede celular de levedura em relação à dieta contaminada com desoxinivalenol fornecida ao pregado (*Scophthalmus maximus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf. (Ecotoxicologia e Segurança Ambiental)* **2021**, *216*, 112221. [[CrossRef](#)]
78. Kollar, R.; Reinhold, B.B.; Petrakova, E.; Yeh, H.J.C.; Ashwell, G.; Drgonova, J.; Kapteyn, J.C.; Klis, F.M.; Cabib, E. Arquitetura da parede celular da levedura.  $\beta(1-6)$ -glúten interconecta manoproteína,  $\beta(1-3)$ -glucano e quitina. *J. Biol. Chem. (Jornal de Bioquímica)* **1997**, *272*, 17762–17775. [[CrossRef](#)]
79. Klis, F.M.; Mol, P.; Hellingwerf, K.; Brul, S. Dinâmica da estrutura da parede celular em *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Rev. (Revisão da Federação das Sociedades Europeias de Microbiologia)* **2002**, *26*, 239–256. [[CrossRef](#)]
80. Sterne, J.A.C.; Sutton, A.J.; Ioannidis, J.P.A.; Terrin, N.; Jones, D.R.; Lau, J.; Carpenter, J.; Rucker, G.; Harbord, R.M.; Schmid, C.H.; et al. Recomendações para examinar e interpretar a assimetria do gráfico de funil em meta-análises de ensaios clínicos randomizados. *BMJ (Jornal Britânico de Medicina)* **2011**, *343*, d4002. [[CrossRef](#)]
81. Duval, S.; Tweedie, R. Método “trim and fill” (Duval e Tweedie): um método simples baseado no gráfico em funil para testar e ajustar o viés de publicação na meta-análise. *Biometrics (Biométricas)* **2000**, *56*, 455–463. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. A declaração PRISMA 2020: uma diretriz atualizada para relatar revisões sistemáticas. *BMJ (Jornal Britânico de Medicina)* **2021**, *372*, n71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. National Grain and Feed Association (Associação Nacional de Grãos e Rações). Orientação regulatória da FDA (Food and Drug Administration – Administração de Alimentos e Medicamentos) sobre micotoxinas. Em *Um guia para elevadores de grãos, fabricantes de rações, e processadores e exportadores de grãos*; Associação Nacional de Grãos e Rações: Arlington, VA, EUA, 2019.
84. Thompson, S.G.; Turner, R.M.; Warn, D.E. Modelos multinível para meta-análise e a sua aplicação nas diferenças de risco absoluto. *Stat. Methods Med. Res. (Métodos Estatísticos em Pesquisa Médica)* **2001**, *10*, 375–392. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Gelman, A.; Hill, J. *Análise de dados usando regressão e modelos hierárquicos/multinível*; Cambridge University Press: Nova Iorque, NY, EUA, 2007.
86. Viechtbauer, W. Viés e eficiência de estimadores de variância meta-analítica no modelo de efeitos aleatórios. *J. Educ. Behav. Stat. (Jornal de Estatística Educacional e Comportamental)* **2005**, *30*, 261–293. [[CrossRef](#)]

87. Rodney, R.M.; Celi, P.; Scott, W.; Breinhild, K.; Lean, I.J. Efeitos da gordura dietética na fertilidade do gado leiteiro: uma meta-análise e metarregressão. *J. Dairy Sci. (Jornal de Ciência de Laticínios)* **2015**, *98*, 5601–5620. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Egger, M.; Smith, G.D.; Schneider, M.; Minder, C. Viés na meta-análise detetado por um simples teste gráfico. *BMJ (Jornal Britânico de Medicina)* **1997**, *315*, 629–634. [[CrossRef](#)]
89. Higgins, J.P.T.; Thompson, S.G.; Deeks, J.J.; Altman, D.G. Medição da inconsistência em meta-análises. *BMJ (Jornal Britânico de Medicina)* **2003**, *327*, 557–560. [[CrossRef](#)]
90. Von Hippel, P.T. A estatística de heterogeneidade  $I^2$  pode ser tendenciosa em pequenas meta-análises. *BMC Med. Res. Methodol. (Metodologia de Pesquisa da BioMed Central Ltd.)* **2015**, *15*, 35. [[CrossRef](#)]
91. Higgins, J.P.T.; Thompson, S.G. Quantificação da heterogeneidade numa meta-análise. *Stat. Med. (Estatística em Medicina)* **2002**, *21*, 1539–1558. [[CrossRef](#)]
92. Harrer, M.; Cuijpers, P.; Furukawa, T.A.; Ebert, D.D. *Realização de meta-análise com R: um guia prático*; Chapman e Hall: Londres, Reino Unido; CRC Press: Boca Raton, Flórida, EUA, 2021; ISBN 978-0-367-61007-4.
93. Equipa principal de desenvolvimento R. *R: Uma linguagem e ambiente para computação estatística*; Fundação R para Computação Estatística: Viena, Áustria, 2023.
94. Equipa RStudio. *RStudio: Desenvolvimento integrado para R, versão 1.4.1106*; RStudio, PBC: Boston, MA, EUA, 2023; Disponível online: <http://www.rstudio.com/> (acedido a 30 de abril de 2023).
95. Viechtbauer, W. Realização de meta-análises em R com o pacote metafor. *J. Stat. Softw. (Jornal de Software de Estatística)* **2010**, *36*, 1–48. [[CrossRef](#)]

**Isenção de responsabilidade/nota do editor:** As declarações, opiniões e dados contidos em todas as publicações são da responsabilidade exclusiva do(s) autor(es) e colaborador(es) individual(is) e não do MDPI e/ou do(s) editor(es). O MDPI e/ou o(s) editor(es) isentam-se de responsabilidade por qualquer dano a pessoas ou propriedade resultante de quaisquer ideias, métodos, instruções ou produtos mencionados no conteúdo.