

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

**Efeitos da enrofloxacina, da sulfaquinoxalina e da nicarbazina na dieta de galinhas de
postura sobre a qualidade da casca do ovo**

RAÍSA GONÇALVES DIAS

Belo Horizonte – MG
2019

RAÍSA GONÇALVES DIAS

Efeitos da enrofloxacina, da sulfaquinoxalina e da nicarbazina na dieta de galinhas de postura sobre a qualidade da casca do ovo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Silvana de Vasconcelos Cançado

Belo Horizonte – MG

2019

D541e Dias, Raísa Gonçalves, 1990-
Efeitos da enrofloxacina, da sulfaquinoxalina e da nicarbazina na dieta de galinhas de postura sobre a qualidade da casca do ovo / Raísa Gonçalves Dias. – 2019.
44 p. : il.

Orientadora: Silvana de Vasconcelos Cançado
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

1. Galinha (Ave) – Alimentação e rações – Teses. 2. Antibióticos em veterinária – Teses.
3. Ovos – Qualidade – Teses. I. Cançado, Silvana de Vasconcelos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.508 5

FOLHA DE APROVAÇÃO

RAÍSA GONÇALVES DIAS

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 TECNOLOGIA E INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL .


Aprovada em 11 de Fevereiro de 2019, pela banca constituída pelos membros:



Profª. Silvana de Vasconcelos Cançado
Presidente - Orientador



Prof. Itallo Conrado Sousa de Araujo
Escola de Veterinária - UFMG



Drª. Winnie Luiza dos Santos Climaco
Escola de Veterinária - UFMG

Dedico esse trabalho aos meus pais, que nunca mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida. “ Pai, mãe, essa vitória é nossa! ”

AGRADECIMENTOS

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos, em especial;

A Deus pelo dom da vida, sabedoria e por ser meu maior sustento ao longo da caminhada.

Aos meus pais Marilene e Domingos por todo amor, apoio e por sempre me mostrarem a importância dos estudos. Obrigada por se dedicarem tanto ao meu futuro e me permitirem alcançar objetivos até então inimagináveis.

Ao Aloísio, com quem escolhi dividir minha vida e sonhos, pelo amor, carinho e por suportar os dias difíceis tornando-os mais leves. A construção do nosso futuro é a razão de todo meu esforço, e me impulsiona a seguir em frente.

À professora Silvana de Vasconcelos Cançado pela confiança (quando eu mesma duvidava) pela dedicação e postura inspiradoras e por conduzir esse trabalho da melhor forma possível. Que juntas ainda possamos desvendar muitos caminhos do intrigante campo que é a ciência.

Aos professores Leonardo José (DZOO), Nelson (DMVP) e Tadeu (DTIPOA) pela contribuição e apoio permitindo a realização deste trabalho.

Aos funcionários da EV-UFMG e da Fazenda Prof Hélio Barbosa, em especial Fabiana, Marco Antônio e Miltinho, sempre dispostos a ajudar em todas as demandas.

Aos técnicos dos laboratórios da Farmácia, Doença das aves e Nutrição pela disponibilidade do espaço e pela orientação nas análises.

À Granja Ferreira por disponibilizar um dos medicamentos necessários ao experimento.

Ao Ronaldo Sanches pela disponibilidade e por compartilhar seu lindo dom da fotografia.

À Marcela pelo suporte essencial na iniciação do experimento com as aves. Aos alunos de IC e colegas de Mestrado, em especial Caroline, Jade e Mailson, pela dedicação e auxílio durante a realização das análises.

As pessoas maravilhosas que entraram na minha vida graças à veterinária, Camila, Danila e Thais Michelle, que nossa amizade seja marcada de muitos encontros e momentos compartilhados.

Ao colegiado de Pós-Graduação em Ciência Animal pelo suporte, e a CAPES pelos recursos, e principalmente, pelo apoio e incentivo a pesquisa neste país.

“ Você pode encarar um erro como uma besteira a ser esquecida, ou como um resultado que aponta a uma nova direção. ” *Steve Jobs*

SUMÁRIO

RESUMO	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo geral	11
2.2 Objetivos específicos	11
3. REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1 Estrutura e formação da casca do ovo	12
3.1.1 Estrutura da casca do ovo	12
3.1.2 Formação da casca do ovo	14
3.2 Qualidade da casca	16
3.2.1 Fatores que interferem na qualidade da casca	17
3.3 Antimicrobianos, anticoccidianos e sua utilização em avicultura de postura	21
3.3.1 Sulfonamidas	22
3.3.2 Quinolonas	24
3.3.3 Anticoccidianos	26
3.4 Métodos de avaliação da qualidade da casca	28
3.4.1 Resistência da casca	28
3.4.2 Peso específico	29
3.4.3 Peso e porcentagem da casca	30
3.4.4 Espessura da casca	30
3.4.5 Porosidade da casca	30
3.4.6 Teor de cálcio	31
3.4.7 Coloração da casca	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Local	33
4.2 Aves	33
4.3 Ração	33
4.4 Tratamentos	34
4.5 Avaliações de qualidade da casca	35
4.5.1 Avaliação da resistência da casca	35
4.5.2 Avaliação do peso específico do ovo	36
4.5.3 Avaliação do peso da casca	37
4.5.4 Avaliação da porcentagem da casca	37
4.5.5 Avaliação da espessura da casca	37
4.5.6 Avaliação da porosidade da casca	38

4.5.7	Avaliação do teor de cálcio da casca	38
4.5.8	Avaliação da coloração da casca	40
4.6	Delineamento experimental	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
6.	CONCLUSÕES	51
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Resultados médios dos valores de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca, e teor de cálcio, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com sulfaquinoxalina (B).
Tabela 2.	Resultados médios dos valores de porosidade da casca dos ovos das galinhas não tratadas (A) e tratadas com sulfaquinoxalina (B).
Tabela 3.	Resultados médios dos parâmetros $L^* a^* b^*$, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com sulfaquinoxalina (B).
Tabela 4.	Resultados médios dos valores de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca, teor de cálcio e porosidade, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com enrofloxacina (C).
Tabela 5.	Resultados médios dos parâmetros $L^* a^* b^*$, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com enrofloxacina (C).
Tabela 6.	Resultados médios dos valores de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca, teor de cálcio e porosidade, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com nicarbazina (D).
Tabela 7.	Resultados médios dos parâmetros $L^* a^* b^*$, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com nicarbazina (D).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Desenho esquemático de corte transversal da casca do ovo
Figura 2.	Equipamento para avaliação do peso específico
Figura 3.	Medição da espessura da casca
Figura 4.	Ovos com superfície enrugada produzidos por galinhas tratadas com o antimicrobiano enrofloxacina (C), nos dias seis, sete, 11 e 15 do experimento.
Figura 5.	Efeitos da utilização de nicarbazina na ração de galinhas de postura na despigmentação da casca dos ovos

RESUMO

A qualidade da casca dos ovos de galinhas poedeiras é definida pelo grau de higiene, integridade, resistência e deformações. Alguns fatores nutricionais, de manejo e ambientais podem causar a perda da qualidade da casca de ovos e entre eles estão a utilização de alguns medicamentos durante a fase de postura das aves. Com o objetivo de avaliar a qualidade da casca dos ovos de galinhas poedeiras tratadas com os antimicrobianos sulfaquinoxalina e enrofloxacina e com o anticoccidiano nicarbazina foram utilizadas 200 galinhas de postura (50 por tratamento), da linhagem *Lohmann Brown*, com 60 semanas de idade. Os tratamentos definidos de acordo com o antimicrobiano ou o anticoccidiano fornecido às aves via ração, foram os seguintes: A) aves que receberam ração sem medicamento do primeiro dia até o 15º dia experimental (controle); B) aves que receberam sulfaquinoxalina na concentração de 250 mg.Kg⁻¹ de ração do primeiro dia até o terceiro dia do experimento; C) aves que receberam enrofloxacina na concentração de 125 mg.Kg⁻¹ de ração do primeiro até o quinto dia e; D) aves que receberam nicarbazina na ração em subdosagem de 40 mg.Kg⁻¹ de ração (com a intenção de simular a contaminação acidental da ração) do primeiro até o quinto dia. Após o período de tratamento, as aves dos tratamentos B, C e D, receberam ração sem medicamento até o 15º dia experimental. Foram coletados os ovos dos dias quatro, cinco, seis, sete, 11 e 15 do período experimental e foram realizadas as avaliações de peso específico do ovo, peso, porcentagem, resistência, espessura, porosidade, coloração e teor de cálcio da casca. Os resultados observados demonstraram diminuição das porcentagens e aumentos das porosidades das cascas dos ovos tratados com sulfaquinoxalina, o que resultou em redução do peso específico dos ovos; os ovos provenientes de galinhas tratadas com enrofloxacina apresentaram cascas com deformações e perda de coloração e; o uso acidental de nicarbazina na ração de galinhas poedeiras provocou a despigmentação das cascas dos ovos. Foi concluído que o tratamento das aves com sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina durante o período de postura resultou em piora da qualidade da casca dos ovos.

Palavras-chave: Ovos de consumo, qualidade da casca; sulfaquinoxalina, enrofloxacina, nicarbazina.

ABSTRACT

The eggshell quality of laying hens is defined by the degree of hygiene, integrity, strength and deformation. Some nutritional, management and environmental factors can cause loss of eggshell quality and among them are the use of some medications during the laying phase of the hens. With the aim of evaluating the quality of laying hens eggshell treated with antimicrobial sulfaquinoxaline and enrofloxacin and with coccidiostatic nicarbazin, 200 Lohmann brown laying hens (50 per treatment) with 60 weeks old were used. The treatments defined according to the antimicrobial or coccidiostatic provided to the hens via feed were as following: A) hens that received feed without medication from the first day to the 15th experimental day (control); B) hens that received sulfaquinoxaline at the concentration of 250 mg.kg⁻¹ of feed from the first day to the 3rd day of the experiment; C) hens that received enrofloxacin at the concentration of 125 mg.kg⁻¹ of feed from the first to the 5th day and; D) hens that received nicarbazin in the feed underdosage 40 mg.kg⁻¹ of feed (with the intention of simulating the accidental contamination of the feed) from the first to the 5th day. After the treatment period, the hens of treatments B, C and D received feed without medication until the 15th experimental day. Eggs were collected from days 4th, 5th, 6th, 7th, 11th and 15th of the experimental period for the determinations of specific weight of the eggs and weight, percentage, resistance, thickness, porosity, coloration and calcium content of the eggshell. The observed results demonstrated a decrease in the percentages and increases in the porosities of the eggshells treated with sulfaquinoxaline, which resulted in a reduction in specific weight of the eggs. Eggs from chickens treated with enrofloxacin showed deformed eggshells and loss of color. The accidental use of nicarbazin in the laying hens feeding led to the depigmentation of eggshells. It was concluded that the treatment of hens with sulfaquinoxaline, enrofloxacin and nicarbazin during the laying period resulted in worsening of quality of the eggshells.

Keywords: Consumer eggs, eggshell quality; sulfaquinoxaline, enrofloxacin, nicarbazin.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os dez maiores produtores de ovos comerciais do mundo, e segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) em 2017, o país produziu cerca de 40 bilhões de unidades, equivalente a 3,3 bilhões de dúzias. A maior parte da produção abasteceu o mercado interno (99,74%) sendo que apenas 0,26% do volume produzido foi exportado, totalizando 6.045 toneladas. As exportações recuaram cerca de 40%, em relação a 2016, sendo o pior resultado dos últimos dez anos (ABPA, 2018). Todavia, dados preliminares apontam elevação de até 10% na produção de ovos em 2018, com 44,2 bilhões de unidades produzidas. O volume exportado estimado supera as 10,8 mil toneladas, correspondendo a um crescimento de 80%. O consumo interno poderá atingir as 212 unidades, com aumento de 10,4% em relação ao ano anterior (ABPA, 2019).

O grau de aceitabilidade do ovo no mercado é determinado por um conjunto de características que influenciam o aumento do consumo e a consequente utilização de seus benefícios nutricionais por parte da população (Freitas *et al.*, 2011). Aos poucos, o ovo, que antes era considerado como responsável pela elevação dos níveis do mau colesterol, assume *status* de alimento completo devido à quantidade e qualidade dos nutrientes presentes (Gomes, 2017). A ampla divulgação de pesquisas científicas recentes, que demonstram os benefícios nutritivos resultantes do consumo de ovo, favorece o aumento da demanda de consumo no mercado interno (CEPEA, 2018).

A qualidade da casca do ovo é definida pelo grau de higiene, integridade, resistência e deformações. A perda da qualidade da casca ocorre por alterações na forma, em que os ovos apresentam deformações como achatamento e superfície enrugada; na cor, com ocorrência de despigmentação ou presença de manchas; no odor, por consequência da ação de microrganismos; na espessura, apresentando casca fina, mole ou ausente; e na integridade, devido à presença de trincas e fissuras. Diversos fatores levam aos problemas relacionados à qualidade da casca, entre eles genética, idade da ave, nutrição, manejo geral, sanidade, estresse e medicamentos, sendo que nesses últimos, o efeito no problema de qualidade da casca deve ser considerado como acidental (Baião e Cançado, 1997; Araújo e Albino, 2011; Carvalho, 2013).

A qualidade da casca interfere diretamente na qualidade do ovo, e essa deve ser suficientemente forte para evitar trincas e quebras. Ovos trincados e quebrados resultam em grande prejuízo econômico aos produtores, no entanto, tais perdas são difíceis de serem mensuradas devido à falta de padronização e controle do processo produtivo (Baião e Cançado, 1997). Hunton (2005) comparou a casca a uma embalagem natural do ovo, que protege seu conteúdo de contaminações e avarias físicas durante o manuseio, transporte e comercialização, e dessa forma afirmou que a qualidade interna dos ovos é diretamente relacionada à qualidade da casca, pois ela atua como uma barreira de proteção física contra a invasão microbiana. Baptista *et al.* (2007) avaliaram a influência do trincamento da casca do ovo sobre sua qualidade comercial e observaram que nos ovos trincados ocorreu uma perda de qualidade mais intensa que nos ovos íntegros, verificada pela maior perda de peso, aumento da câmara de ar, drenagem do volume da clara e diminuição dos valores de unidades Haugh (UH).

Por outro lado, os antimicrobianos são amplamente utilizados na avicultura de postura e os medicamentos mais frequentemente administrados com finalidade terapêutica são enrofloxacina, oxitetraciclina, doxicilina, sulfaquinoxalina, bacitracina de zinco, amoxicilina, apramicina e a associação de doxiciclina e gentamicina (PAM vet./PR, 2005). No entanto, de acordo com Borsoi e Palermo-Neto (2015), apesar da ampla utilização de antimicrobianos na avicultura de postura,

poucos medicamentos têm sido formulados especificamente para galinhas poedeiras, embora vários medicamentos tenham sido aprovados para outras classes de aves de produção.

Diversos trabalhos têm relatado a perda de qualidade dos ovos de poedeiras tratadas com medicamentos durante a fase de postura, como a redução do peso dos ovos e da espessura da casca e a despigmentação de ovos vermelhos (Sherwood *et al.*, 1956; Polin, 1959; Schwartz *et al.*, 1975; Jones *et al.*, 1990; Hughes *et al.*, 1991; Radwan *et al.*, 1991; Malik *et al.*, 2013; Samiullah *et al.*, 2017). O conhecimento dos efeitos gerados pelo uso de medicamentos sobre a qualidade dos ovos é importante para tomar medidas que previnam a ocorrência de perdas resultantes, bem como a adoção de boas práticas de medicação. O uso dos medicamentos deve ser realizado de forma prudente, respeitando as dosagens e vias de administração, o princípio ativo e os produtos a serem utilizados devem ser registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e terem indicação específica para poedeiras, e a fase de produção de ovos, e o período de carência devem ser respeitados, com descarte dos ovos produzidos antes de cumprido o período de retirada (Borsoi e Palermo-Neto 2015).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral:

Realizar um estudo sobre a qualidade da casca dos ovos de galinhas poedeiras tratadas com os antimicrobianos sulfaquinoxalina e enrofloxacina e com o anticoccidiano nicarbazina na ração.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar o peso específico dos ovos de galinhas de postura tratadas com os medicamentos sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina;
- Avaliar o peso da casca de ovos de galinhas de postura tratadas com os medicamentos sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina;
- Avaliar a porcentagem de casca dos ovos de galinhas de postura tratadas com os medicamentos sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina;
- Avaliar a espessura da casca de ovos de galinhas de postura tratadas com os medicamentos sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina;
- Avaliar a resistência da casca de ovos de galinhas de postura tratadas com os medicamentos sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina;
- Avaliar a porosidade da casca de ovos de galinhas de postura tratadas com os medicamentos sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina;
- Avaliar a cor da casca de ovos de galinhas de postura tratadas com os medicamentos sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina;
- Avaliar o teor de cálcio presente nas cascas dos ovos de galinhas de postura tratadas com os medicamentos sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina.

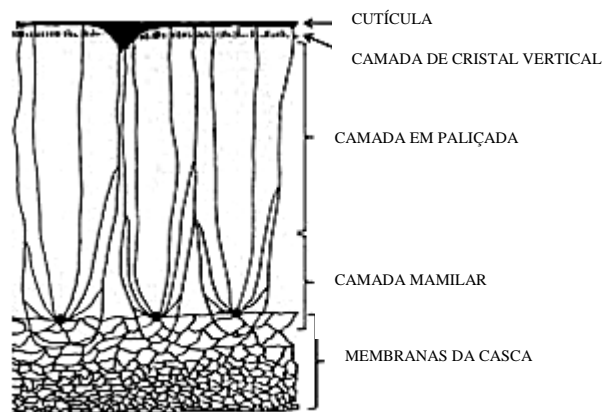
3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Estrutura e formação da casca do ovo

3.1.1. Estrutura da casca do ovo

A estrutura da casca dos ovos é dividida em camadas (Fig. 1) e resulta de uma deposição sequencial de fração orgânica e mineral que ocorre nos segmentos ístmo e útero do oviduto da galinha. A porção orgânica da casca consiste nas membranas da casca, nos sítios mamilares de nucleação e na cutícula. A fração calcificada é composta pela camada mamilar, camada em paliçada e camada de cristal vertical (Parsons, 1982). A casca representa 9 a 12% do peso total do ovo, sendo constituída por carbonato de cálcio (94%), carbonato de magnésio (1%), fosfato de cálcio (1%) e matéria orgânica, principalmente proteína (4%) (Stadelman, 1994).

Figura 1 - Desenho esquemático de corte transversal da casca do ovo



Fonte: Adaptado de Parsons (1982).

As membranas da casca ou membranas testáceas são divididas em membrana interna, que envolve o albúmen, e membrana externa, que permanece ligada à face interna da casca. Juntas formam a câmara de ar ao se separarem na região mais larga do ovo e constituem uma das principais defesas contra a invasão bacteriana (Fangaud, *et al.*, 1967; Parsons, 1982; Stadelman, 1994). Ambas as membranas são compostas por uma rede de fibras proteicas. Na visualização por microscopia de varredura as fibras aparentam ser extensivamente ramificadas, devido à interação entre as fibras adjacentes. A composição destas fibras foi determinada como sendo aproximadamente 95% de proteína com uma pequena quantidade de polissacarídeo (Parsons, 1982). Wong Liong *et al.* (1997) avaliaram as membranas da casca de ovos vermelhos tipo A, pelo uso da microscopia confocal de varredura a laser, e relataram que as membranas da casca se dispõem como várias camadas descontínuas e entrelaçadas, cuja diferenciação em membrana interna e externa é possível pelas mudanças na posição, orientação e pela diferença no tamanho das fibras, sendo que as fibras da camada externa apresentam maior espessura (1 a 7 μm) que as fibras da camada interna (0,1 a 3 μm). Unidas entre si, as fibras formam as membranas externa e interna com espessuras que variam de 50 a 70 μm e 15 a 26 μm respectivamente.

A camada mamilar é a parte mais interna da porção calcificada da casca, e se encontra intimamente ligada à membrana externa da casca, sendo observadas numerosas fibras de membrana penetrando na estrutura calcificada. Essa camada é constituída pelos sítios mamilares que se apresentam comprimidos, formando um único estrato próximo a membrana da casca.

Individualmente, cada sítio possui um topo largo de laterais achatadas e fortemente cimentadas, formando uma estrutura rígida que serve de base para a região mais externa da casca, e uma base mais estreita, formando canais de ar por toda a parte inferior da camada. A camada mamilar é composta por minerais não cristalinos agregados concentricamente sobre material de matriz granular que forma o sítio mamilar (Romanoff e Romanoff, 1949; Parsons, 1982).

A camada em paliçada, ou camada esponjosa, é a maior porção da fração calcificada da casca e está localizada entre as camadas mamilar e cristal vertical. Enquanto os sítios mamilares são compostos de cristais que irradiam em todas as direções a partir dos núcleos centrais, a camada em paliçada é composta de colunas de cristal que são perpendiculares à superfície e que se originam dos cristais que se elevam da camada mamilar, essas colunas tornam-se mais verticais e condensadas a medida que se aproximam da camada mais externa de cristal vertical. Os cristais de calcita se apresentam bem cristalizados dentro da paliçada, com cerca de 20 µm de largura por 100 a 200 µm de comprimento. Vesículas ocas com cerca de 450 nm de diâmetro estão distribuídas por toda a camada em paliçada, entre as vesículas há um material de matriz, considerada como resíduos do processo de mineralização rápida (Romanoff e Romanoff, 1949; Parsons, 1982; Fraser *et al.*, 1999; Li-Chan e Kim, 2008).

A camada de cristal vertical é a porção calcificada mais externa da casca, localizada sobre a camada em paliçada e abaixo da cutícula. Constituída por cristais curtos e finos, cujas colunas de cristal se apresentam verticalmente orientadas, a camada de cristal vertical apresenta de 3 a 8 µm de espessura. E ao contrário da camada anterior, não é observada a presença de vesículas de matriz (Parsons, 1982; Fraser *et al.*, 1999; Li-Chan e Kim, 2008).

A cutícula, que é a camada mais externa da casca do ovo, é composta por aproximadamente 3% de cinzas, 5% de carboidratos e cerca de 90% de proteínas (principalmente na forma de proteínas insolúveis) e glicoproteínas. Caracterizada por uma camada delgada de cerca de 10 a 30 µm de espessura, ela cobre os canais dos poros por toda a superfície da casca, e tem as funções de impedir a entrada de microrganismos no interior do ovo e a perda de água. Pelo microscópio eletrônico de varredura, a cutícula se apresenta como uma estrutura irregular, com muitas rachaduras e fissuras, formando camadas semelhantes a flocos (Parsons, 1982; Li-Chan e Kim, 2008).

Os poros são cavidades em forma de funis, amplos na superfície da casca e que se estreitam, formando canais que penetram as camadas de cristal e terminam em fissuras adjacentes aos botões mamilares, dessa forma, esses canais se estendem da cutícula às membranas da casca. Os poros são preenchidos por fibras proteicas que evitam a penetração de microrganismos. Um ovo médio de galinha possui entre 7.000 e 17.000 poros de diferentes tamanhos, o maior dos quais pode ser visto a olho nu como pequenas depressões na superfície da casca. Estes poros não são uniformemente distribuídos na casca, estando mais concentrados na região basal (extremidade larga) da casca do ovo (Romanoff e Romanoff, 1949; Tullett e Deeming, 1982; Nys *et al.*, 1999; Hunton, 2005).

3.1.2. Formação da casca do ovo

A formação do ovo é um processo biológico dinâmico que dura em torno de 25 horas. O processo de formação ocorre no oviduto esquerdo da galinha, e se inicia com a captação do óvulo (gema) pelo infundíbulo, nessa região ele permanece por cerca de 15 minutos, nessa porção do oviduto o óvulo pode, ou não, ser fertilizado e recebe a primeira camada de albumina. A seguir o ovo passa para a região do magno, onde é formada a maior parte (80%) do albúmen, permanecendo nesse segmento por cerca de três horas. No próximo segmento, o istmo, são adicionadas as membranas

interna e externa da casca, água e sais minerais, cujo processo dura cerca de uma hora. Por fim, o ovo chega ao útero, ou glândula da casca, onde são formados a porção calcificada da casca. Nesse local também ocorre a adição dos pigmentos nos ovos de cor e o tempo de permanência nesse segmento dura em média 21 horas (Romanoff e Romanoff, 1949; Nascimento e Salle, 2003; Sesti e Ito, 2009).

A etapa de formação da casca, que ocorre no útero ou glândula da casca, se inicia na porção tubular com a transferência de cálcio para as fibras da membrana da casca, resultando na formação de microesferas de calcita na superfície externa da membrana externa do ovo, as quais crescem a partir dos centros de cristalização (sítios mamilares de nucleação). A partir destes sítios, cristais de calcita crescem radialmente em todas as direções, inserindo-se nas fibras da membrana e, assim, ligam-se firmemente à parte calcificada da casca às membranas. O forte vínculo criado se torna a base para a formação da casca. Na porção dilatada da glândula da casca, os cristais de calcita continuam se formando, originando a camada de botões mamilares e a precipitação subsequente forma as camadas paliçada e cristal vertical. Nessa porção ocorre também o aumento do peso do ovo, que ganha cerca de 15 gramas, e a redução do teor de proteína do albúmen, de 20 para 10%. A porção mais externa do ovo, a camada orgânica da cutícula, é formada pela secreção da mucosa do último segmento do oviduto sobre a superfície da casca recém-formada, essa seca imediatamente em contato com o ar, e resulta no fechamento dos poros inibindo a entrada de microrganismos no interior do ovo (Romanoff e Romanoff, 1949; Fangaud, *et al.*, 1967; Parsons, 1982; Solomon, 1991; Nascimento e Salle, 2003).

A adição dos pigmentos da casca ocorre no final da deposição da casca, pelo revestimento de células epiteliais presentes na superfície da glândula da casca. Os pigmentos sintetizados e acumulados são transferidos para as porções mais externas da camada em paliçada (80 a 87%) e também para a secreção de líquido visceral rico em proteínas, que constituem a cutícula (13 a 20%). Os pigmentos responsáveis pela coloração de ovos de aves selvagens e domésticas são protoporfirina-IX (pigmento que se encontra em maior quantidade nos ovos vermelhos), biliverdina-IX e seu quelato de zinco, esses pigmentos parecem ser originários das células do útero. A intensidade de coloração dos ovos depende da quantidade de pigmento diretamente depositado à camada superficial da casca e à cutícula (Butcher e Miles, 2017; Samiullah e Roberts, 2013; Samiullah, *et al.*, 2017).

A câmara de ar é formada pela separação das membranas interna e externa da casca na extremidade mais larga do ovo (região basal), que ocorre logo após a postura devido à contração das membranas, que gera um vácuo que favorece a entrada de ar. A contração é resultante da diferença de temperatura entre o ovo, que na ovoposição apresenta a mesma temperatura do corpo da ave, e o ambiente. Durante o armazenamento o ovo perde água por evaporação, favorecendo o aumento da câmara de ar com o passar do tempo (Jacob *et al.*, 2011).

Para a formação da casca é essencial a presença, no fluido uterino, de um suprimento de íons cálcio, obtido pela dieta, e íons carbonato (CO_3), originária do dióxido de carbono (CO_2) produzido no metabolismo da ave, devendo estar em quantidade suficiente para formar carbonato de cálcio (CaCO_3). O metabolismo do cálcio e a consequente síntese da casca do ovo são regulados pelo sistema endócrino da galinha e inclui a produção e ação de alguns hormônios como o estrogênio, que promove a deposição do cálcio na região medular do osso; o paratormônio, responsável pela reabsorção do cálcio medular; a calcitonina, que inibe a reabsorção óssea do cálcio; e a 1,25-diidroxivitamina D3, que estimula a absorção do cálcio intestinal (Mendonça Jr, 1993). A formação do íon carbonato é mediada pela ação da enzima anidrase carbônica que catalisa a hidratação do dióxido de carbono no tecido uterino, representada pela reação ($\text{CO}_2 +$

$H_2O \leftrightarrow H_2CO_3$) (Baião de Cançado, 1997). O carbonato é necessário para se ligar ao cálcio que chega à glândula da casca durante o processo de deposição da casca e, forma então, o carbonato de cálcio ($CaCO_3$). Mais de 90% do carbonato necessário para a síntese do $CaCO_3$ tem origem no metabolismo das células uterinas (Nascimento e Salle, 2003).

3.2. Qualidade da casca

No Brasil os ovos são classificados segundo as características qualitativas, nas categorias A, destinados à comercialização *in natura*, e B, destinados exclusivamente à industrialização. Em relação aos parâmetros de qualidade dos constituintes da casca, os ovos da categoria A devem apresentar casca e cutícula de forma normal, lisas, limpas e intactas e câmara de ar imóvel, com altura não superior a seis milímetros. Ovos da categoria B são os que apesar de não terem tais características mantêm-se inócuos. Ovos com a casca trincada poderão ser enviados para a fabricação de derivados somente se tiverem a membrana testácea intacta e a superfície da casca limpa, devendo, estes, serem destinados a industrialização o mais rápido possível (BRASIL, 2017).

A alteração na forma representa a perda de qualidade da casca, uma vez que essa é responsável pela definição do formato do ovo. O formato esperado dos ovos de galinha é o elíptico, deformações como ocorrência de ovos arredondados, achatados, alongados e estreitos são indesejáveis, pois além de comprometer a aparência, não são adequados às embalagens cujos ovos são comercializados, aumentando a probabilidade de quebra e conseqüentemente de perdas (Jacob *et al.*, 2011).

Apesar da cor da casca não está relacionada aos fatores de qualidade do ovo, e não interferir no sabor, valor nutricional e características culinárias (ovos brancos e vermelhos são igualmente ricos em proteínas, vitaminas e sais minerais), ela interfere diretamente na aparência do produto, que possui grande apelo comercial. A preferência do consumidor para ovos brancos ou vermelhos é variável, tendo diferenças significativas entre os continentes. No geral, países da Europa, Ásia e África preferem os ovos vermelhos, enquanto países das Américas e Oriente Médio preferem ovos brancos. A coloração da casca deve estar de acordo com o esperado pelo consumidor, ovos com problemas na uniformidade e intensidade de cor costumam ser rejeitados.

Os ovos das galinhas vermelhas apresentam várias intensidades de cor, normalmente a superfície de cada ovo apresenta um tom mais uniforme. A distribuição desigual dos pigmentos sobre a superfície da casca gera defeitos, como a presença de manchas escuras ou despigmentadas espalhadas aleatoriamente na casca. Os problemas na coloração resultam da interferência na síntese ou deposição dos pigmentos na superfície da casca pelas células epiteliais do oviduto, especialmente nas últimas três a quatro horas da formação da casca (Romanoff e Romanoff, 1949; Jacob *et al.*, 2011; Araújo e Albino, 2011; Caveró *et al.*, 2012; Butcher e Miles, 2017; Samiullah *et al.*, 2017).

A espessura da casca é definida pelas camadas que compõem a estrutura da casca, a má formação dessas causam alterações na espessura final. A ocorrência de ovos com casca fina é bastante comum, uma das causas é a expulsão prematura dos ovos da glândula da casca, devido a fatores estressantes ou que causam irritação do oviduto (Romanoff e Romanoff, 1949). Alterações na espessura aumentam a probabilidade da ocorrência de perda na integridade da casca, são exemplos de defeito de integridade ovos trincados em diferentes graus, ovos trincados no útero, ovos de cascas finas ou ausentes (Chukwuka, *et al.*, 2011). As trincas dos ovos quebrados no útero recebem uma camada de cálcio, a espessura dessa camada depende da proximidade de tempo da

ocorrência da fratura com a ovoposição, podendo ser finas e facilmente visualizadas ou espessas sendo percebidas somente por ovoscopia. A incidência de ovos trincados no útero aumenta com a excitação das aves no período da tarde e noite, quando a casca começa a se formar no oviduto (Jacob *et al.*, 2011).

3.2.1. Fatores que interferem na qualidade da casca

Por ser multifatorial, o problema com qualidade da casca requer diferentes abordagens para ser minimizado, como investimento em linhagens de melhor qualidade de casca; controle de doenças no plantel; adequada alimentação das aves, com uso de rações de qualidade e de acordo com a fase de produção das aves; adoção de boas práticas de produção na granja, com minimização de fatores estressantes; controle das condições ambientais; programação da renovação do lote em tempo hábil, entre outros (Jacob, *et al.*, 2011; Mazzuco, 2013; Butcher e Miles, 2015).

3.2.1.1. Genética

A qualidade da casca é influenciada pela genética das aves, visto que os parâmetros de qualidade são influenciados pela hereditariedade, como tamanho e forma do ovo, coloração, textura e espessura da casca (Romanoff e Romanoff, 1949).

Diferentes linhagens de galinhas poedeiras apresentam capacidades distintas de retenção e transporte dos nutrientes presentes na dieta para os ovos. Clunies *et al.* (1992) compararam o metabolismo de cálcio e fósforo de dois grupos diferentes de aves da linhagem *Single-Comb White Leghorn* com 60 semanas de idade, os grupos avaliados apresentavam ovos com diferentes espessuras de casca. Foram avaliados os parâmetros de desempenho; consumo de ração, produção de ovos, peso do ovo, deformação do ovo e peso da casca, e análises de cálcio e fósforo das excretas e da casca dos ovos. O grupo que produzia ovos com casca mais espessa apresentou peso de ovo e casca maiores, bem como maior retenção de cálcio da dieta que o grupo que possuía menor espessura de casca.

3.2.1.2. Idade das aves

A espessura da casca está relacionada ao tamanho da ave e do ovo, com o aumento da idade e consequentemente do tamanho dos ovos, há uma piora na qualidade da casca, devido a uma menor deposição de cálcio por unidade de superfície durante a formação da casca, uma vez que a quantidade de cálcio depositado na casca permanece constante durante todo o ciclo de postura, não acompanhando o aumento do tamanho do ovo. Tal fato foi observado por Barbosa *et al.* (2012) ao avaliar a qualidade dos ovos de matrizes pesadas de 33 e 63 semanas idades. Os autores afirmaram que matrizes mais velhas apresentaram ovos com menores espessura (0,435 mm) e percentuais de casca (8,6%) em relação ao peso do ovo do que as matrizes mais jovens (0,457 mm e 9,5%), o aumento da idade resultou em piora de outros parâmetros de qualidade como resistência e peso específico.

A medida que a ave envelhece os ovos diminuem a intensidade de cor, possivelmente devido a uma menor síntese de pigmento, ou a deposição de uma mesma quantidade de pigmento sobre uma superfície de casca proporcionalmente maior, devido ao aumento do ovo com a idade, comumente aves mais velhas apresentam a região apical (extremidade mais fina) menos corada (Butcher e Miles, 2017).

3.2.1.3. Nutrição

A dieta interfere diretamente na qualidade da casca dos ovos, sendo que essa deve suprir as demandas nutricionais das aves nas diferentes fases de produção. Os nutrientes presentes na dieta devem estar em níveis adequados de forma que um não interfira no aproveitamento do outro pela ave. O cálcio é extremamente importante para a formação da casca do ovo, um único ovo apresenta cerca de três gramas de cálcio, tornando necessária uma adequada suplementação desse mineral nas aves em fase de postura. O cálcio requerido para a formação da casca provém exclusivamente da dieta, sendo transportado pela corrente sanguínea na forma de cálcio iônico ou ligado a uma fosfoproteína. O cálcio ionizado é utilizado na formação da casca, armazenado nos ossos ou excretado, enquanto o cálcio ligado é incorporado à casca. A deficiência na dieta e alterações no metabolismo do cálcio resultam na formação inadequada da casca, com diminuição da taxa de cálcio em sua composição (Mendonça Jr, 1993; Baião e Cançado, 1997).

Os níveis de fósforo interferem na absorção de cálcio no intestino, quando aumentados, o fósforo impede a absorção do cálcio, resultando na produção de ovos fracos. O zinco é cofator da anidrase carbônica, e esta enzima é responsável pela suplementação de íons carbonato durante o processo de formação da casca. A deficiência de zinco e, conseqüente inibição da anidrase carbônica, resulta em diminuição do peso da casca do ovo. As vitaminas também são importantes na dieta das aves, a 1,25-diidroxitamina D₃, estimula a absorção do cálcio intestinal. A vitamina C influencia indiretamente na qualidade, com a capacidade de reduzir os efeitos do estresse que levam aos problemas na casca, como piora na estrutura e força (Mendonça Jr, 1993; Baião e Cançado, 1997; Niekerk, 2014).

3.2.1.4. Manejo Geral

O manejo das aves deve ser adequado, de forma a minimizar os fatores estressantes que podem levar a piora da qualidade dos ovos. Solomon (1991) relatou a piora na casca de ovos de galinhas submetidas ao estresse no período anterior a chegada dos ovos na glândula da casca, a alteração foi resultante da formação imperfeita da camada mamilar, e conseqüentemente, com desorganização na deposição das outras camadas, com formação de ovos de casca fina. A excitação das aves durante o período em que a casca está se formando no oviduto, fim da tarde e período da noite, compromete a integridade da mesma, devido a ocorrência de ovos trincados no útero, dessa forma o manejo deve ser programado para que as aves permaneçam mais tranquilas possível nesse período, definindo o horário adequado ao arraçamento e com adequação do programa de luz (Jacob *et al.*, 2011). O estresse pode levar a alterações na coloração da casca, devido à liberação de hormônios, como a epinefrina, que causa atraso na ovoposição. E o ovo permanece por mais tempo no interior do útero, com manutenção da deposição do carbonato de cálcio na superfície dessa. Pode também haver interrupção na formação da cutícula e dessa forma, os ovos não adquirem a tonalidade de cor esperada, apresentando coloração pálida e ou até totalmente despigmentados (Butcher e Miles, 2017).

3.2.1.5. Temperatura

Aves em estresse calórico interrompem o consumo de alimentos e conseqüentemente dos nutrientes essenciais para a formação da casca, como cálcio, fósforo e vitamina D. Outro problema do aumento de temperatura é a alteração do metabolismo da ave, resultante da respiração ofegante, como tentativa de corrigir a temperatura corporal, alterando o equilíbrio ácido-base no sangue da ave, os esforços para resfriar o corpo sobrepõe a formação do ovo, a mudança de

prioridade fisiológica resulta em alterações na produção dos ovos, com consequente perda de qualidade da casca (Butcher e Miles, 2015).

3.2.1.6. Sanidade

Doenças que agem diretamente no trato reprodutivo, como Influenza aviária, Newcastle e bronquite infecciosa, afetam diretamente a produção de ovos, interferindo também na cor dos ovos, com formação de ovos de casca fina, de contorno irregular e anormalmente pálidos, os problemas de qualidade de ovos resultante de doenças podem persistir por longos períodos (Butcher e Miles, 2017).

3.2.1.7. Medicamentos

Drogas que interferem na formação da casca dos ovos, em especial que impedem a deposição da cutícula, como as sulfonamidas e o anticoccidiano nicarbazina, levam a rápida despigmentação dos ovos. A administração da nicarbazina às galinhas na dosagem de 5 mg por dia resultam na produção de ovos pálidos dentro de 24 horas. O aumento dessa dosagem pode levar à despigmentação completa da casca do ovo (Butcher e Miles, 2017).

3.3. Antimicrobianos, anticoccidianos e sua utilização em avicultura de postura

A avicultura moderna não pode prescindir do uso de antimicrobianos (Spinosa *et al.*, 2005). Nos sistemas de produção usados no país, capazes de impor ao setor de produção uma dinâmica diferente, o convívio entre animais em espaços restritos, de mesma linhagem, idade, nas mesmas condições nutricionais e de higiene, alimentando-se da mesma ração, bebendo da mesma água e respirando o mesmo ar, possibilita o aparecimento de doenças que não serão restritas a um único indivíduo, mas, sim, a toda a população animal. Esse fato tem graves consequências do ponto de vista de manejo, sanidade, mortalidade, rentabilidade do agronegócio e, principalmente, da qualidade do alimento produzido (Palermo-Neto, 2011).

Os agentes antimicrobianos são substâncias químicas capazes de inibir o crescimento de microrganismos ou eliminá-los. Em medicina veterinária, são utilizados em animais de produção na forma de agentes terapêuticos, profiláticos e também como aditivos químicos que funcionam como promotores de crescimento. O uso desses medicamentos no tratamento ou profilaxia é justificado pelo fato de os animais de produção estarem sujeitos às infecções devido às situações de confinamento e ao estresse a que são normalmente submetidos. Aliado a esse fato, a redução no custo dos antimicrobianos tornou compensatório o tratamento dos animais em massa (Gustafson e Bowen, 1997; Doyle, 2006). No entanto, a utilização desses medicamentos em produção animal tem sido questionada, pois, apesar de melhorar a produtividade, a presença de seus resíduos em produtos de origem animal pode provocar reações alérgicas e ocasionar o aparecimento de microrganismos resistentes aos antimicrobianos (Bogiatti e Corcia, 2009; Bondi *et al.*, 2009).

O uso de antimicrobianos em medicina veterinária se dá por finalidades mais amplas do que aquelas empregadas em medicina humana. Além do uso terapêutico e profilático, para galinhas de postura, os antimicrobianos podem ser administrados na metafilaxia. O uso terapêutico do antimicrobiano se dá na ocorrência de doenças infecciosas do plantel e, na profilaxia, o seu uso é preventivo com o intuito de garantir proteção contra possível infecção (Spinosa e Tárraga, 2011). Quando um animal ou alguns animais do plantel apresentam sinais de doença infecciosa e emprega-se o antimicrobiano, em um curto prazo, com o objetivo de prevenir a instalação da

doença em todo o plantel, diz-se do uso metafilático (Companyó *et al.*, 2009). O uso metafilático é também chamado de tratamento de animais em risco ou tratamento de animais em contato. Dessa forma, o antimicrobiano pode ser administrado na ração ou água (Spinosa e Tárraga, 2011).

Os principais antimicrobianos usados em medicina humana e veterinária estão incluídos nas seguintes classes: beta-lactâmicos, tetraciclina, macrolídeos, aminoglicosídeos, anfenicóis, quinolonas/fluoroquinolonas, sulfonamidas, lincosamidas, glicopeptídeos e ionóforos poliéster (Bondi *et al.*, 2009). Segundo Guimarães *et al.* (2010), os antibióticos de origem natural e seus derivados semissintéticos compreendem a maioria dos princípios ativos em uso clínico e podem ser beta-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas), tetraciclina, aminoglicosídeos, macrolídeos, entre outros (lincosamidas, cloranfenicol, rifamicinas, etc). Já os antibióticos de origem sintética seriam do grupo das sulfonamidas, das fluoroquinolonas ou uma oxazolidinona (linezolda).

3.3.1. Sulfonamidas

As sulfonamidas são antimicrobianos eficazes utilizados por via sistêmica, na prevenção e cura das infecções bacterianas. São fármacos derivados da sulfanilamida, que tem estrutura similar à do ácido para-aminobenzóico (PABA), uma substância essencial para a síntese de ácido fólico. As sulfas agem como um antimetabólito, por inibição competitiva, impedindo a biossíntese do ácido fólico e, conseqüentemente a síntese proteica pelas bactérias. As sulfonamidas e diaminopirimidinas são drogas bacteriostáticas, mas quando combinadas, sua ação é potencializada, agindo como bactericidas. São consideradas antimicrobianos de amplo espectro, com atividade sobre bactérias Gram-negativos e positivos, clamídias e protozoários, sendo muito úteis para o tratamento ou prevenção de coccidioses em frangos de corte. Seu uso tem sido extensivo no controle de pulrose, tifo aviário, cólera aviária e coriza infecciosa das galinhas (Górnjak, 2011). Algumas das principais drogas pertencentes a esta classe são a sulfanilamida, a sulfadiazina, a sulfapirimidina e a sulfaquinoxalina.

As sulfonamidas podem causar a inibição da atividade da enzima anidrase carbônica e, a ação dessa enzima é essencial para a formação da casca do ovo, pois ela catalisa a hidratação do dióxido de carbono no tecido uterino que é transformado em ácido carbônico, que por sua vez é a maior fonte de íons carbonato para a formação da casca do ovo. A inibição da anidrase carbônica têm efeitos negativos na formação da casca, reduzindo a disponibilidade de íons cálcio e carbonato (Baião e Cançado, 1997; Berg *et al.*, 2004).

As sulfonamidas apresentam uma estreita margem de segurança, com um limite estreito entre o efeito terapêutico e tóxico, em que mesmo doses terapêuticas podem causar efeitos deletérios sobre o sistema imune, hematopoiético e reprodutivos das aves. A associação das sulfonamidas com as diaminopiridinas (trimetoprim e ormetoprim) reduz riscos de toxicidade, com a redução da dose de sulfa. Ainda que pouco tóxicas, as diaminopiridinas em doses elevadas podem causar deficiência de ácido fólico e hipercalemia. As sulfonamidas são contraindicadas para galinhas com mais de 16 semanas de idade, mesmo em associação com a diaminopiridina, pois podem causar redução do apetite, queda do consumo de água, da produção dos ovos, do peso e da eclosão (Ito *et al.*, 2005).

Radwan *et al.* (1991) conduziram um experimento com o objetivo de investigar os efeitos da utilização de sulfanilamida sobre a absorção intestinal de cálcio intestinal, sobre a atividade contrátil uterina e a sobre a espessura da casca do ovo. Para o estudo foram utilizadas 75 galinhas adultas e a sulfanilamida foi administrada na água por um período de 21 dias nos níveis de 125 mg.L⁻¹ e 250 mg.L⁻¹. Os autores observaram que, independentemente da dose utilizada, a

sulfanilamida causa a perda da qualidade da casca dos ovos por reduzir a absorção intestinal de cálcio e por diminuir sua disponibilidade, além de alterar a deposição normal dos componentes da casca no ovo através do aumento contínuo da contratilidade uterina. Foi concluído que como a maior parte do cálcio depositado na casca vem da dieta, a não absorção adequada desse nutriente no intestino resultará em deficiência de íons cálcio no útero para a formação do carbonato de cálcio, principal componente da casca; e que o aumento das contrações uterinas leva a uma expulsão prematura do ovo com diminuição do tempo de permanência na glândula da casca.

3.3.1.1. Sulfaquinoxalina

A sulfaquinoxalina é classificada como uma sulfonamida entérica, por apresentar uma baixa concentração plasmática após administração oral da dose terapêutica, sendo sua atuação predominante no lúmen intestinal. Assim, a sulfaquinoxalina é comumente utilizada na avicultura para o controle e tratamento de coccidioses além de auxiliar também na redução das perdas de mortalidade por *Pasteurella multocida*, *Salmonella gallinarum* e paratifo. Sua utilização deve ser criteriosa devido à ocorrência de fatores adversos. Especialmente em galinhas poedeiras, a administração de sulfaquinoxalina pode causar queda de produção de ovos, perda da qualidade da casca do ovo, despigmentação de ovos vermelhos e aumento da mortalidade. A literatura também descreve a ocorrência de hepatomegalia, hemorragias no coração, rins, oviduto, intestino, proventrículo, ceco, medula óssea pálida e dermatite gangrenosa (Ito *et al.*, 2005).

Malik *et al.* (2013) avaliaram os efeitos do uso de sulfonamidas sobre parâmetros de qualidade de ovos. Para essa avaliação as aves foram tratadas por três dias consecutivos com vários medicamentos: sulfaquinoxalina (150 mg), sulfametazina sódica (70 mg) e sulfadiazina sódica (70 mg). Os ovos foram coletados no dia anterior a medicação, durante os três dias de tratamento e nos cinco primeiros dias após a retirada do medicamento. Esses foram submetidos às seguintes avaliações da qualidade dos ovos: peso, comprimento e largura do ovo, peso e espessura da casca e UH. O tratamento das aves resultou em perda de qualidade interna e externa dos ovos. Em relação à qualidade externa, ocorreu perda de peso e diminuição da espessura das cascas, que apresentaram superfícies malformadas e ásperas. Tal fato se justifica pela inibição da síntese de ácido fólico pelas sulfonamidas, que resultam em anemia, com consequente redução dos níveis de oxigênio na corrente sanguínea, dificultando a síntese de carbonato de cálcio, um dos principais componentes da casca do ovo. Foram observados ovos manchados de sangue, tal ocorrência se deve ao extravasamento de sangue no útero resultante da anemia hemolítica causada pelo uso da sulfonamida.

3.3.2. Quinolonas

As quinolonas e fluoroquinolonas são grupos relacionados de antimicrobianos, obtidos por síntese laboratorial e usados no tratamento das infecções bacterianas. As quinolonas de primeira geração (ácido nalidíxico, flumequina e ácido oxonílico) apresentam eficiência contra a maioria das Enterobacteriaceae, no entanto, essas não têm nenhuma ação contra *Pseudomonas aeruginosa*, anaeróbios e bactérias Gram-positivos. O espectro de ação das quinolonas foi ampliado pela introdução de derivados fluorados, originando as quinolonas de segunda geração ou fluorquinolonas (enrofloxacina, orbifloxacino, difloxacino, marbofloxacino, norfloxacino, ciprofloxacino). A substituição do átomo de hidrogênio pelo de flúor na posição seis aumentou a atividade contra bactérias Gram-positivos e negativos, com consequente aumento da capacidade de penetração do quimioterápico pela membrana da bactéria. As quinolonas são bactericidas e o mecanismo de ação delas se deve a inibição da replicação do DNA bacteriano e sua transcrição

pelo bloqueio da ação da DNA girase e topoisomerase IV, impedindo processos necessários à replicação bacteriana (Ito *et al.*, 2005; Górnaiak, 2011).

O extensivo uso das quinolonas em aves tem sido facilitado por uma legislação de prescrição muito flexível, pelo aparecimento dos medicamentos para uso em ração e água e pela sua eficácia contra as salmonelas. Em vários países, as quinolonas são extensivamente utilizadas no tratamento de lotes de aves infectadas por *Salmonella Enteritidis* (Górnaiak, 2011).

3.3.2.1. Enrofloxacin

A enrofloxacin é uma piperanil fluorociclopropil quinolona que possui amplo espectro de ação contra bactérias. Seu principal metabólito formado em espécies de animais de produção é a ciprofloxacina. Devido a seu amplo espectro de ação, o uso da enrofloxacin é indicado para o tratamento de infecções por *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, coriza infecciosa das galinhas, infecções por *Ornithobacterium rhinotracheale*, celulite por Gram-negativos, estafilococose, salmoneloses, dentre outras infecções (Ito *et al.*, 2005).

A enrofloxacin se concentra principalmente no fígado e no rim e é excretada na forma ativa pela bile e urina. Apesar de considerada segura, aves com insuficiência hepatorenal podem apresentar efeitos adversos. Apesar de frequente, seu uso é contraindicado na ração, pois cátions presentes como Al_3^+ , Mg_3^+ , Fe_2^+ , Ca_2^+ e Zn^+ podem interagir com o grupo carboxil diminuindo significativamente a atividade do medicamento. O mesmo ocorre em rações acidificadas, em que o pH baixo pode reduzir a atividade antibacteriana de todas as fluorquinolonas, com exceção da flumequina. O uso de fluorquinolonas não é aprovado para poedeiras (Górnaiak, 2011).

Na literatura é muito bem documentado o acúmulo de resíduos de enrofloxacin assim como do seu metabólito ciprofloxacina, bem como de outras quinolonas, em ovos e tecidos de aves tratadas com esse grupo de antimicrobiano (Gorla *et al.*, 1997; McReynolds *et al.*, 2000; Cho *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2009; De Assis *et al.*, 2016; Caldeira *et al.*, 2017). Apesar de não haver na literatura nenhum trabalho que relacione o uso da enrofloxacin com a qualidade da casca, existem relatos que descrevem a perda da qualidade dessa.

3.3.3. Anticoccidianos

Os anticoccidianos têm sido utilizados no tratamento e prevenção da coccidiose, esses são divididos em dois grupos, os ionóforos e os sintéticos. Os medicamentos monensina, lasalocida, salinomycin, maduramicina, narasina e senduramicina compõem o grupo dos ionóforos, e são naturalmente produzidos pela fermentação de microrganismos do gênero *Streptomyces* e *Actinomadura*. Tais compostos são lipossolúveis e agem formando canais ou poros que facilitam o transporte de íons para o citoplasma celular, alterando o equilíbrio hidroeletrolítico celular, resultando na inibição de funções vitais das mitocôndrias dos parasitas. São exemplos de anticoccidianos sintetizados quimicamente a sulfaquinoxalina, robenidina, diclazuril, toltrazuril, amprólio e nicarbazina. Tais medicamentos atuam em diferentes fases evolutivas do parasita, interferindo no desenvolvimento e multiplicação desses no hospedeiro (Revoledo e Ferreira, 2005; Ferreira e Pizarro, 2011).

3.3.3.1. Nicarbazina

A nicarbazina é altamente efetiva na prevenção da coccidiose, principalmente na fase inicial da vida da ave. Atua como coccidiostático, podendo ser coccidicida em algumas etapas. O

medicamento atua na fase de esquizonte de segunda geração, interrompendo o ciclo de formação e desenvolvimento dos merozoítos, com consequente inibição do metabolismo mitocondrial do parasita, limitando a disponibilidade de energia. O uso da nicarbazina é contraindicado, em poedeiras e reprodutoras em fase de postura, pois a administração do medicamento pode resultar em redução da eclodibilidade, despigmentação da casca e queda de postura, e em casos de intoxicação, dispneia e hipertermia pela interferência nos mecanismos termorregulatórios (Revoledo e Ferreira, 2005).

Polin (1959) avaliou o efeito da utilização de nicarbazina sobre a síntese de protoporfirinas, pigmentos responsáveis pela cor dos ovos vermelhos, no oviduto e no sangue e também a concentração dessas na casca do ovo. Pela avaliação *in vitro*, o autor verificou que os tecidos do oviduto de galinhas tratadas e não tratadas com o anticoccidiano apresentam a mesma capacidade de sintetizar protoporfirinas e que a formação de protoporfirinas eritrocitárias não foi inibida pelo uso do medicamento, porém a concentração desse pigmento na casca é diminuída pelo uso de nicarbazina. Dessa maneira, o autor concluiu que a utilização de nicarbazina na dieta de galinhas poedeiras resulta em menor concentração de protoporfirinas na casca dos ovos e que esse decréscimo na deposição de protoporfirinas não é resultante da inibição da síntese dessas pelas células do oviduto e do sangue.

Jones *et al.* (1990) avaliaram os efeitos dos agentes anticoccidianos sobre a produção e qualidade de ovos das galinhas da raça *Leghorn* com 26 semanas de idade. Foram testados os diferentes medicamentos e suas respectivas dosagens: halofuginona (3 mg.kg^{-1}), maduramicina (5 mg.kg^{-1}), monensina (100 mg.kg^{-1}), narasina (70 mg.kg^{-1}), nicarbazina (125 mg.kg^{-1}), robenidina (33 mg.kg^{-1}) e salinomicina (60 mg.kg^{-1}). As aves receberam os tratamentos na ração durante dez dias, e ração sem tratamento nos 16 dias seguintes. Os ovos foram coletados todos os dias do período experimental e por mais três dias de pré-tratamento, e foram analisados nos parâmetros peso, UH, espessura de casca e presença de manchas na gema. Os autores relataram que apenas o grupo tratado com nicarbazina apresentou alterações em comparação ao grupo não tratado. Houve redução do peso dos ovos, em que os menores pesos ocorreram nos dias nove e dez do tratamento e cinco e seis do período de retirada. E as cascas dos ovos desse grupo tiveram diminuição da espessura, estando mais finas nos dias nove e dez do tratamento e dias um e dois no período de retirada.

Hughes *et al.* (1991) ao avaliar o efeito da contaminação da ração por nicarbazina sobre a produção de ovos, fertilidade, eclodibilidade e pigmentação da casca. Verificaram que a descoloração resultante do tratamento das aves com níveis de 25, 50 e 100 mg.kg^{-1} de nicarbazina ocorreu a partir dos dias três e quatro para a menor dosagem (25 mg.kg^{-1}) e no segundo dia para as maiores dosagens (50 e 100 mg.kg^{-1}), em que houve descoloração total (escore zero) nos dias três e quatro dos ovos de galinhas tratadas com ração contendo 100 mg.kg^{-1} do anticoccidiano. No experimento foi observado que a recuperação da coloração da casca ocorreu após seis, sete e oito dias de interrupção do tratamento de menor ao de maior dosagem.

Samiullah *et al.*, (2017) realizaram um trabalho com o objetivo de investigar o efeito da utilização de nicarbazina na dieta de galinhas poedeiras marrons sobre a expressão dos genes envolvidos na síntese de protoporfirinas e, na contagem mitocondrial das células do oviduto nos diferentes estágios da formação do ovo e da casca. Foi verificado que no grupo controle o número de mitocôndrias se manteve constante e no grupo tratado a contagem dessas caiu significativamente entre no momento que se inicia a síntese do pigmento (período intermediário da formação da casca no útero da galinha, ou seja, 15 horas após a ovoposição anterior). Foi observado também

que a expressão dos genes se altera normalmente nos diferentes estágios de formação da casca, assim genes específicos estão mais ativos em determinados momentos, como por exemplo, o gene δ -aminolevulínico sintase (ALAS1) que codifica uma enzima que catalisa a reação de formação do primeiro composto da via das porfirinas, o ácido δ -aminolevulínico. O gene ALAS1, que está localizado dentro da matriz mitocondrial, normalmente está mais ativo no período intermediário da formação da casca no útero da galinha. Com o tratamento com nicarbazina esse gene não aumentou sua expressão, se mantendo estavelmente baixo, interferindo na síntese do pigmento. Foi observado a interação do tratamento com o estágio de formação da casca, de forma que no grupo controle há aumento da concentração das protoporfirinas nos tecidos na fase final da formação da casca. O anticoccidiano, no entanto levou a redução dessa concentração, e tais níveis decresceram proporcionalmente com o aumento do tempo de administração da droga.

3.4. Métodos de avaliação da qualidade da casca

O monitoramento da qualidade da casca pode ser adotado como medida de desempenho da produção. Diversos parâmetros têm sido propostos para avaliar a qualidade da casca do ovo, como peso da casca, porcentagem, espessura, força, densidade e cor da casca. Os diferentes métodos de avaliação dividem-se em métodos diretos, que requerem a destruição do ovo e métodos indiretos, que preservam a integridade do produto. São exemplos de métodos diretos a medição de resistência à ruptura, como força de fratura por impacto e a força de perfuração ou compressão. Métodos indiretos incluem gravidade específica e deformação não destrutiva (Ketta e Tumová, 2016).

3.4.1. Resistência da casca

Um importante parâmetro para a avaliação da qualidade da casca é a resistência, visto que ocorrem grandes perdas na produção devido a ovos quebrados ou trincados. A quebra da casca do ovo depende igualmente da força da casca e da magnitude do impacto aplicado nas diferentes etapas de produção como postura, coleta, seleção e transporte (Lin *et al.*, 2004). A resistência da casca está relacionada com as propriedades materiais e estruturais presentes na composição da casca. As propriedades materiais dependem da presença e interação de componentes orgânicos e inorgânicos da casca do ovo. As propriedades estruturais são dependentes da espessura da casca, da distribuição dos materiais na superfície do ovo, bem como do seu tamanho e formato (Mazzuco, 2013).

Diferentes métodos e equipamentos são utilizados para mensurar a força da casca em ovos, os testes medem a força da casca de forma direta ou indireta, sendo que os mais utilizados são a força utilizada para quebrar e deformação não destrutiva. Nos testes de compressão, os ovos são colocados longitudinalmente entre duas placas paralelas e comprimidos, sendo a carga aumentada regularmente. A força e a deformação são registradas, e o resultado é fornecido em termos de força da casca. A força pode ser medida também por testes de impacto e perfuração (Hamilton, 1982).

3.4.2. Peso específico

O método do peso específico ou gravidade específica avalia indiretamente a resistência da casca, sendo um dos métodos mais utilizados para a avaliação de sua qualidade. O peso específico pode ser calculado por dois métodos: o método de imersão em solução salina ou o método que utiliza o princípio de Arquimedes. No método de imersão, os ovos inteiros são imersos em recipientes com soluções salinas com densidades de 1.050 a 1.105, com intervalos de 0.005. Os ovos são

colocados nos recipientes com as soluções da menor para a maior densidade. Na solução em que o ovo flutuar será a gravidade determinada, e quanto maior a gravidade específica melhor será a qualidade da casca (Hamilton, 1982).

O método que utiliza o princípio de Arquimedes considera os dados de peso do ovo no ar e o peso da água deslocada pelo ovo quando totalmente submerso, e expressa os valores de peso específico em gramas por mililitros de água (g/mL H₂O). Tal método foi utilizado por Barbosa *et al.* (2012) para avaliação da qualidade da casca de ovos de matrizes de diferentes idades. Os autores observaram que os ovos das matrizes mais velhas apresentaram menor peso específico que ovos das matrizes jovens, demonstrando uma melhor qualidade de casca nos ovos de matrizes jovens.

A casca do ovo permite trocas gasosas entre o meio interno e externo. No entanto, as trocas são mais intensas em cascas de menor qualidade, devido à diminuição da espessura e aumento dos poros presentes na superfície. Ocorrendo maior perda de água no ovo após a postura em consequência da evaporação, com aumento progressivo da câmara de ar e, consequentemente, a diminuição da gravidade específica do ovo (Fangaud *et al.*, 1967; Barbosa *et al.*, 2012).

3.4.3. Peso e porcentagem da casca

O peso e a porcentagem da casca se alteram com o tamanho do ovo e, ou com a espessura da casca, podendo comprometer outras características qualitativas logo, a avaliação desses parâmetros permite inferir sobre a qualidade da casca. A medição do peso da casca é realizada com uso de balanças de precisão, depois de adequada limpeza para remoção de resíduos de outros componentes do ovo. A porcentagem da casca é descrita pela proporção de casca em relação ao peso total do ovo, obtida pela divisão do peso da casca pelo peso do ovo, para expressar em porcentagem o resultado obtido na divisão deve ser multiplicado por 100 (Barbosa *et al.*, 2012).

3.4.4. Espessura da casca

A espessura da casca é uma medida utilizada para estimar a qualidade externa dos ovos e está diretamente relacionada com a resistência da casca. No entanto, não necessariamente um ovo com maior espessura de casca apresenta maior resistência aos insultos mecânicos a que está sujeito. Tal fato se deve aos fatores que compõem a força estrutural, que depende da forma, tamanho, espessura e distribuição da casca no ovo. Assim, uma casca de menor espessura com altas propriedades de força material pode ser mais forte que uma de maior espessura com baixa força material (Hamilton, 1982).

A casca do ovo não é uniforme, há variações de espessura em maior ou menor grau por toda sua extensão, normalmente a casca é mais fina na região equatorial, mais grossa no polo menor do ovo e de espessura intermediária no polo maior. Uma das formas de medição da espessura da casca é a utilização de equipamentos de medição como micrômetro ou paquímetro que expressa a espessura da casca em milímetros. É importante determinar a metodologia para a medição, delimitando o local onde será realizada ou utilizando uma média das medidas realizadas no ovo (Bavaresco e Gentilini, 2011).

3.4.5. Porosidade da casca

A quantidade de poros presente na casca interfere na qualidade da mesma. Diversos métodos são utilizados para essa avaliação, como visualização por microscopia eletrônica e por coloração por

azul de metileno (Rahn, 1981; Peebles e Brake, 1985) e porosometria de mercúrio (Scala *et al.*, 2000).

Vilela *et al.* (2016) avaliaram a qualidade da casca de ovos de galinhas poedeiras em três idades distintas (30, 50 e 70 semanas) e compararam ovos de casca normal, com ovos de casca vítrea (a casca vítrea é uma condição que desqualifica os ovos e sugere perda de qualidade da casca, caracterizada pela presença de pontos cinza claro de diferentes diâmetros em toda a superfície do ovo). Para avaliação da porosidade da casca, foi utilizado o método de coloração com azul de metileno com posterior contagem visual dos poros em áreas pré-definidas. Os autores verificaram o aumento proporcional da porosidade da casca com a idade, tanto para ovos de casca normal como vítrea. No entanto, as cascas vítreas apresentaram maior diâmetro dos poros, o que facilita a entrada de microrganismos e possibilita maior perda de dióxido de carbono e água para o ambiente, reduzindo a vida útil de prateleira.

3.4.6. Teor de cálcio

O cálcio é o principal mineral que constitui a casca do ovo, correspondendo a 98% do componente mineral presente. Alterações na composição da casca interferem na qualidade da casca, a redução na deposição do carbonato do cálcio leva a formação de cascas finas e com pouca resistência (Mateos, 1991).

Diversos métodos têm sido utilizados para a determinação do teor de cálcio presente nos ovos, entre eles a termogravimetria, a complexação por EDTA, a fotometria (Pereira *et al.*, 2009), a cromatografia iônica e a espectroscopia de absorção atômica (Santos *et al.*, 2012).

O MAPA estabelece o método de Oxidimetria como o de escolha para determinação do teor de cálcio em produtos de origem animal. O método se baseia na precipitação do cálcio em uma solução obtida das cinzas da amostra, por adição de oxalato de amônio. O precipitado formado (oxalato de cálcio) é dissolvido em meio ácido, formando ácido oxálico, que é determinado por oxidimetria com permanganato de potássio (BRASIL, 2014).

3.4.7. Coloração da casca

A coloração da casca pode ser avaliada por métodos qualitativos através do uso de padrões de cor ou por equipamentos. O uso de padrões de cores, que contém as possíveis tonalidades dos ovos vermelhos, dos mais claros (despigmentados) aos mais escuros, definem os escores para as diferentes intensidades de cor. O ovo avaliado deve ser comparado às cores presentes, e recebe a nota correspondente a cor a qual mais se assemelha, de acordo com a percepção e critério do analista (Hughes *et al.*, 1991)

O uso de equipamentos permite medir as nuances de cor que juntas compõem a coloração de dado objeto. Assim, as cores são desmembradas, sendo expressas em termos de luminosidade (brilho), matiz (cor) e saturação (vivacidade). Os colorímetros determinam a cor da casca objetivamente por três parâmetros; L^* luminosidade, com valor entre 0 (preto) e 100 (branco); a^* matiz, em função da escala vermelho (>0) a verde (<0); e b^* matiz em função da escala azul (<0) a amarela (>0). Förster *et al.*, (1996) avaliaram a coloração da casca de ovos vermelhos com uso do colorímetro pelos parâmetros L^* , a^* e b^* e verificaram que os ovos mais atraentes tinham baixos valores de L^* e altos valores positivos de a^* e b^* . Esses autores definiram como boa cor de casca os seguintes valores de referência: $L^* = 60$, $a^* = 20$ e $b^* = 30$.

Os refletômetros são utilizados por muitos criadores de aves do mundo, e funciona pela leitura percentual entre o preto e o branco que são expressos por 0% e 100% respectivamente. A maioria dos mercados dos ovos vermelhos considera como uma leitura aceitável os valores de 25 a 40% (TSS, 2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local

As aves foram criadas na Fazenda Experimental Prof. Hélio Barbosa (FEPHB) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV/UFMG), localizada no município de Igarapé, Minas Gerais.

As avaliações da qualidade da casca dos ovos: peso específico do ovo, peso da casca, porcentagem de casca, espessura da casca e coloração da casca, foram realizadas no Laboratório de Aves e Ovos do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal (DTIPOA) da EV/UFMG.

A avaliação da resistência da casca foi realizada no Laboratório de Operações, Processamento e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG.

As avaliações microscópicas de porosidade da casca foram realizadas no Laboratório de Doença das Aves do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) da EV/UFMG.

A avaliação do teor de cálcio da casca foi realizada no Laboratório de Nutrição do Departamento de Zootecnia da EV/UFMG.

4.2. As aves

Foram utilizadas 200 galinhas de postura, distribuídas entre os quatro tratamentos (50 aves por tratamento), da linhagem *Lohmann Brown*, com 60 semanas de idade e pertencentes ao mesmo lote. As aves foram alojadas em gaiolas de metal galvanizado, em grupos de cinco aves por gaiola (dez gaiolas por tratamento), receberam água e ração à vontade e foram submetidas a manejo semelhante aos usados nas criações comerciais. Todos os procedimentos de manejo e criação das aves foram realizados de acordo com os Princípios de Experimentação Animal, adotados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UFMG e aprovados sob o protocolo nº 298/2018.

4.3. A ração

A ração sem medicamento fornecida às aves, formulada a atender as demandas nutricionais da fase de postura, foi produzida na fábrica da própria fazenda.

As rações contendo os medicamentos a serem analisados foram formuladas pela adição dos medicamentos, adquiridos no comércio na apresentação em pó, à ração produzida na fazenda e homogeneizados com o auxílio de um misturador em “y” durante dez minutos. Entre a formulação de um tratamento e outro o misturador era limpo com o auxílio de um soprador e posteriormente era colocado para funcionar adicionando fubá de forma que não houvesse a contaminação de um tratamento com possível resíduo de outro.

A quantidade de ração produzida foi calculada pela informação de consumo da linhagem fornecida pela empresa, que define que uma ave da linhagem *Lohmann Brown*, em produção, consome cerca de 120 gramas por dia (LOHMANN BRASIL, 2016). Dessa forma, para o grupo B, tratado durante três dias, foram produzidos 18 quilos de ração com medicamento e para os grupos C e D, tratados durante cinco dias, foram produzidos 30 quilos de ração com medicamento cada.

4.4. Tratamentos

Os tratamentos foram definidos de acordo com o medicamento administrado à ração das aves, sendo os seguintes:

- Grupo controle A: ração sem medicamento;
- Tratamento B: ração contendo 250 mg de sulfaquinoxalina por quilo, durante três dias;
- Tratamento C: ração contendo 125 mg de enrofloxacina por quilo, durante cinco dias;
- Tratamento D: ração contendo 40 mg de nicarbazina por quilo, durante cinco dias.

As dosagens dos medicamentos usados foram calculadas com base nas informações constantes na bula destes medicamentos. Para a nicarbazina foi utilizado um terço da dose recomendada para a prevenção de coccidiose em frangos de corte, para simular uma contaminação da ração de postura com o medicamento.

O período experimental teve duração de 15 dias. Após a coleta de todos os ovos do dia “zero” foram fornecidas às aves as rações contendo os diversos antibióticos (tratamentos) para cada um dos três grupos tratados e a ração do grupo controle. O grupo B recebeu a ração contendo sulfaquinoxalina durante três dias e os grupos C e D receberam as rações contendo enrofloxacina e nicarbazina, respectivamente, durante cinco dias. Após o período de três dias para o grupo B e cinco dias para os grupos C e D, as aves voltaram a receber ração sem medicamento. As aves do tratamento A (controle) receberam ração sem medicamentos, durante todo o período de criação.

Para as avaliações de qualidade de casca os ovos produzidos durante os dias quatro, cinco, seis, sete, 11 e 15 do período experimental foram coletados, identificados, acondicionados em caixas de papelão e enviados ao Laboratório de Aves e Ovos do DTIPOA. Os ovos produzidos nos outros dias, devido à presença dos resíduos de medicamentos, não foram comercializados, sendo coletados e descartados adequadamente.

4.5. Avaliações de qualidade da casca

4.5.1. Avaliação da resistência da casca

Para a avaliação da resistência da casca foram utilizados 12 ovos de cada tratamento por dia de coleta, esses ovos foram separados unicamente para essa análise.

A resistência da casca foi determinada pelo método de fratura por compressão, por meio do aparelho *TA.X T2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, England)* pertencente ao Setor de Análise de Alimentos, da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Na montagem do equipamento foi utilizada uma sonda P4 DIA *Cylinder* de aço inoxidável de 4 mm de diâmetro, um suporte de metal em forma de anel com 5 cm de diâmetro e um cadinho de porcelana para o posicionamento do ovo. A programação do aparelho foi realizada de acordo com Barbosa *et al.* (2012), em que foram definidos uma distância de 6 mm, força de gatilho de sonda de 3,0 g e velocidade pré, durante e pós-teste de 3,0; 0,5; e 5,0 mm/s, respectivamente.

Para a realização do teste os ovos inteiros foram colocados individualmente no cadinho de porcelana, na posição longitudinal, com a região basal voltada para cima. O cadinho foi centralizado sobre o suporte de metal. Com a realização do teste, a casca de cada ovo foi pressionada até a ocorrência da fratura, e a força necessária usada é a indicadora da resistência da casca.

4.5.2. Avaliação do peso específico do ovo

Para as avaliações de peso específico foram utilizados 12 ovos de cada tratamento por dia de coleta. O método de análise utilizado é baseado no princípio de Arquimedes, o qual utiliza os dados de peso do ovo no ar e o peso do ovo na água para calcular os valores do peso específico, que são expressos em g/mL H₂O, e obtidos pela fórmula:

$$\text{Peso específico} = \frac{(\text{Peso do ovo no ar})}{(\text{Peso do ovo no ar}) - (\text{Peso do ovo na água})}$$

Para a obtenção dos valores de peso do ovo no ar e na água foi utilizado um equipamento adaptado que permitisse a pesagem do ovo no ar e na água simultaneamente (Fig. 2). A estrutura utilizada foi montada com uma balança de precisão de 0,01 g e dois suportes de ferro, um para sustentar um recipiente contendo água destilada, a um nível acima da balança evitando o contato com a mesma, e outro sobre a balança, contendo estrutura apropriada para mergulhar o ovo no recipiente contendo água.

Figura 2: Equipamento para avaliação do peso específico.



Fonte: Arquivo pessoal

Após a montagem do equipamento, a balança foi zerada e iniciaram-se as pesagens dos ovos, primeiro a pesagem do ovo fora da água, seguida da pesagem do ovo dentro da água. A balança era zerada sempre antes da próxima pesagem. Os pesos obtidos foram anotados para o cálculo posterior do peso específico.

4.5.3. Avaliação do peso da casca

Para a avaliação do peso da casca, os mesmos ovos utilizados para as avaliações de peso específico foram quebrados e as cascas lavadas em água corrente para retirada de resíduos do albúmen. As cascas foram mantidas em temperatura ambiente para secagem durante dez dias, após esse período as cascas foram pesadas individualmente em balança de precisão de 0,01 g.

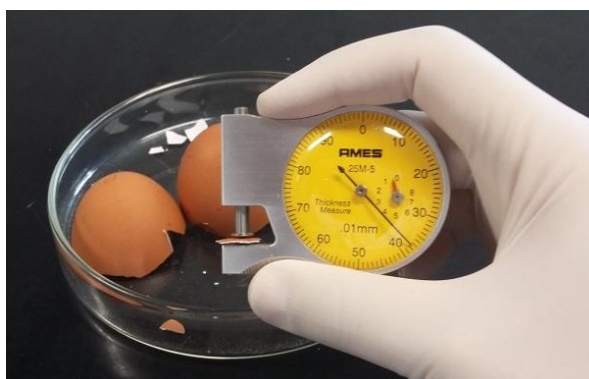
4.5.4. Avaliação da porcentagem de casca

Para as avaliações de porcentagem da casca, foram utilizados os valores anotados de peso do ovo no ar, obtido na avaliação do peso específico, e peso da casca, obtido na avaliação de peso da casca. Os percentuais de casca foram calculados dividindo-se o valor de peso da casca pelo valor de peso do ovo e multiplicando-se por 100.

4.5.5. Avaliação da espessura da casca

Para as avaliações de espessura da casca foram aproveitadas as mesmas cascas utilizadas nas análises de peso da casca. A mensuração da espessura da casca foi realizada pelo uso do micrômetro modelo 25M-5 AMES® 0,01 mm (Fig. 3). As medições foram realizadas nas diferentes regiões da casca; região apical, extremidade afilada, região equatorial e região basal, extremidade alargada que contém a camada de ar. A espessura de cada ovo foi expressa pela espessura média calculada com base nas medidas de espessura das três regiões anotadas.

Figura 3: Medição da espessura da casca



Fonte: Arquivo pessoal

4.5.6. Avaliação da porosidade da casca

Para a avaliação da porosidade da casca foram utilizados dez ovos de cada tratamento por dia de coleta, esses ovos foram separados unicamente para essa análise. Foi utilizado o método de análise pela contagem do número de poros pela microscopia óptica.

Os ovos foram quebrados e lavados para remoção do albúmen aderido a casca. Posteriormente foram retirados cinco fragmentos da casca, de forma a incluir todas as três regiões (apical, equatorial e basal), os fragmentos foram fervidos separadamente em hidróxido de sódio a 5%, durante dez minutos, para remoção da cutícula, membranas e sujidades aderidas. Os fragmentos foram secos a temperatura ambiente durante duas horas, após esse período, foram corados, na face interna, por meio de conta-gotas com solução aquosa de azul de metileno a 1%, o excesso do corante foi retirado de forma a não manchar a face externa da casca. Os fragmentos corados foram secos à temperatura ambiente durante uma hora. Após esses procedimentos foi demarcada, com a utilização de um molde, uma área de 1 cm², dividida em quatro áreas de 25 mm², na face externa de cada fragmento de casca. A contagem dos poros foi realizada com uso de microscópio óptico no menor aumento (10x), sendo a soma das quatro áreas de 25 mm² considerada o número de poros por cm² para cada um dos fragmentos avaliados. A quantidade de poros por cm² em cada ovo foi calculada por meio da média dos cinco fragmentos avaliados.

4.5.7. Avaliação do teor de cálcio da casca

Para a determinação do teor de cálcio presente na casca foram utilizadas três repetições de um pool de três cascas de ovos por tratamento. O teste seguiu o método de oxidimetria (BRASIL, 2014) por ser o teste de eleição para a determinação de cálcio em produtos de origem animal.

Preparo e queima das amostras:

Inicialmente foi realizado o procedimento de calcinação dos cadinhos de porcelana, para isso os cadinhos foram mantidos durante uma hora na mufla a 600 °C, após esse período essa foi desligada e os cadinhos foram retirados quando a temperatura no interior da mufla atingiu a temperatura próxima dos 150 °C. Os cadinhos foram colocados no dessecador por cerca de 30 minutos, até o resfriamento total.

Durante o calcinação dos cadinhos foi realizada a moagem das amostras e, cada pool de três cascas foi triturado com o auxílio de um conjunto de pistilo e gral em porcelana. A amostra triturada foi acondicionada em saquinhos identificados.

Os cadinhos calcinados foram colocados em balança de precisão de 0,0001 g. A balança foi zerada e foi pesado aproximadamente um grama da amostra do pool de cascas no cadinho, o peso próximo a um grama foi anotado e utilizado posteriormente. Os cadinhos foram identificados segundo a amostra correspondente. Foi realizado a pré-queima durante dez minutos em uma chapa aquecida, posteriormente os cadinhos com as amostras foram colocados na mufla a 600 °C por quatro horas. Os cadinhos foram retirados quando a temperatura no interior da mufla atingiu a temperatura próxima dos 150 °C. Os cadinhos foram mantidos no dessecador até resfriarem completamente, permitindo a realização dos próximos procedimentos.

Preparo de solução mineral:

As cinzas obtidas na queima das amostras foram utilizadas no preparo da solução mineral que consiste na dissolução do produto da cinza em solução de ácido clorídrico (HCl) a 50% (1:1), a fim de solubilizar os minerais presentes. As cinzas foram transferidas para um béquer de 250 mL, o cadinho que continha as cinzas foi “lavado” com 10mL de solução de HCl 1:1, que foi transferida para o béquer contendo as cinzas, o procedimento foi repetido com mais 10mL de solução. O cadinho foi lavado com pouca quantidade de água destilada, retirando ao máximo o

resíduo contido no mesmo, e essa foi transferida para o mesmo béquer contendo os 20mL de solução e as cinzas, que foi levado a chapa aquecedora, dentro da capela de exaustão, até levantar fervura. Após a retirada da chapa e aguardar a saída dos vapores, foi realizada uma filtração, utilizando papel filtro qualitativo, para um balão volumétrico de 250 mL. O béquer e o filtro foram lavados repetidas vezes com água destilada para garantir que todo resíduo de minerais fosse transferido, e o volume do balão foi completado com água destilada, sendo homogeneizado e identificado. Essa solução foi utilizada nos próximos procedimentos, sendo chamada por solução mãe ou solução estoque.

Avaliação do cálcio:

Para a avaliação do cálcio foi utilizado o método pela titulação com permanganato de potássio. Para isso, 5 mL da solução estoque foi transferida para um erlenmeyer, e duas gotas do indicador vermelho de metila 0,1% foram adicionadas. Esse foi levado à chapa até aquecer, quando em ebulição, foram adicionados 20 mL de Oxalato de amônio. A solução foi neutralizada com hidróxido de amônio 1:1 que foi adicionado até atingir a cor amarelo. De gota em gota, ácido clorídrico 1:3 foi adicionado até atingir a coloração rósea. A solução resultante ficou em descanso entre uma e três horas, e foi filtrada no funil sobre um Kitasato, usando o vácuo, durante a filtração o erlenmeyer foi lavado com 10 mL hidróxido de amônio 1:50, duas vezes. As bordas do erlenmeyer onde estava a solução e o funil usado na filtração foram lavados com ácido sulfúrico a 5% quente, lavando assim todo precipitado retornando para o erlenmeyer num volume de 100 a 150 mL. Por fim, o erlenmeyer foi colocado na chapa para ferver e a titulação foi feita à quente com o permanganato de potássio 0,05N até a primeira viragem para cor rosa claro. A porcentagem do cálcio foi obtida pelo uso da fórmula:

$$\text{Teor de Cálcio} = \frac{(V \times N \times 0,02004 \times D)}{\text{Alíquota} \times \text{peso da amostra}}$$

Em que:

V= quantidade de permanganato de potássio gasto na titulação

N= normalidade do permanganato

0,02004= miliequivalente-grama do cálcio

D= quantidade de solução estoque que foi preparada

Alíquota = quantidade de solução estoque pipetada (em geral, 25mL)

4.5.8. Avaliação da coloração da casca

A avaliação da cor da casca foi realizada pelo uso do aparelho colorímetro CR-400 (Minolta, Konica, São Paulo, SP, Brasil). Foram utilizados 12 ovos de cada tratamento por dia de coleta.

O teste foi realizado no mesmo local do laboratório. O aparelho foi posicionado nas três regiões da casca (apical, equatorial e basal), sendo evitadas as regiões com sujidades. Foram avaliados três parâmetros de cor: L*, a* e b*, foram anotados os parâmetros de cor registrados para cada região. Segundo Harder et al. (2007) o valor de a* caracteriza coloração na região do vermelho (+a*) ao verde (-a*), o valor b* indica coloração no intervalo do amarelo (+b*) ao azul (-b*). O valor L* nos fornece a luminosidade, variando do branco (L*=100) ao preto (L*=0).

4.6. Delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado sendo quatro tratamentos e seis dias de avaliação. Para as análises peso específico do ovo, peso, porcentagem, resistência, espessura e coloração da casca foram utilizadas 12 repetições, para as análises de porosidade foram utilizadas dez repetições e para avaliação de porcentagem de cálcio foram utilizadas três repetições de um pool de três cascas.

Os dados foram analisados utilizando a metodologia dos quadrados mínimos ordinais, no software de análise estatística R (Core Team, 2019). Os dados colhidos para cada variável analisada foram testados quanto a sua normalidade e homocedasticidade pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Quando a amostra apresentou distribuição normal, porém não apresentou homocedasticidade foi-se utilizado a metodologia dos quadrados mínimos generalizados para obtenção dos modelos.

Para amostras que não apresentavam distribuição normal buscou-se a melhor transformação da variável resposta através da transformação Box-Cox. Na impossibilidade de se obter distribuição normal os dados foram analisados através da metodologia não paramétrica de transformação por Rank alinhados (*Aligned Rank Transformation*) conforme descrito por Higgs *et al.* (1990) e implementada no pacote R “ARTool” (Wobbrock *et al.*, 2011). Todas as médias foram comparadas através do teste de Tukey ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das avaliações da qualidade da casca dos ovos das galinhas de postura que receberam medicamentos (sulfaquinoxalina, enrofloxacina e nicarbazina) administrados à ração foram comparados estatisticamente com os resultados das avaliações dos ovos obtidos pelas aves do grupo controle (aves não medicadas). Assim foram verificados os efeitos do medicamento, do dia de tratamento e a interação entre eles. Não houve efeito de interação para os parâmetros resistência da casca, peso específico, peso, porcentagem e espessura da casca e teor de cálcio, sendo avaliados os fatores separadamente. Houve interação para as características de coloração e porosidade da casca, dessa forma o efeito obtido com o tratamento, para essas duas características, depende igualmente do medicamento e do dia de administração ou retirada do mesmo.

5.1. Qualidade da casca dos ovos de galinhas tratadas com o antimicrobiano Sulfaquinoxalina

Os resultados de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca e teor de cálcio dos tratamentos A (controle) e B (sulfaquinoxalina) estão demonstrados na Tab.1. Foram observadas diferenças significativas ($P < 0,001$) para alguns parâmetros de qualidade avaliados e os resultados demonstraram perda na qualidade da casca dos ovos de galinhas que foram tratadas com o antimicrobiano sulfaquinoxalina.

Os ovos provenientes de galinhas tratadas (tratamento B) apresentaram valor médio de peso específico (1,0783 g/mL H₂O) menor ($P < 0,001$) que o valor médio apresentado pelos ovos de galinhas que não receberam medicação (1,0807 g/mL H₂O). Como o peso específico avalia indiretamente a qualidade da casca, esses resultados demonstraram que a utilização de sulfaquinoxalina para o tratamento ou profilaxia em aves de postura contribuiu para perda da

qualidade da casca dos ovos. Foi observado também uma redução da porcentagem da casca dos ovos das galinhas tratadas (9,43%) em relação as não tratadas (9,73%), essa redução demonstrou uma menor proporção de quantidade de casca em relação ao ovo.

Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos para os valores de resistência da casca, peso e espessura da casca e teor de cálcio.

Tabela 1: Resultados médios dos valores de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca, e teor de cálcio, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com sulfaquinoxalina (B).

Tratamento	Resistência da casca (g)	Peso específico (g/mL H ₂ O) ¹	Peso da casca (g)	% de casca ¹	Espessura da casca (mm)	Cálcio (mg/Kg)
A	5186,55a	1.081a	6,10a	9.73a	0,400a	0,439a
B	5109,33a	1.078b	5,99a	9.43b	0,392a	0,441a
CV(%) ²	20,73	NA ³	9,03	9,52	6,66	NA ³

¹ Médias seguidas de letras distintas na coluna são diferentes pelo teste T ($P<0,001$).

² CV: Coeficiente de variação.

³ NA: Não se aplica. Variáveis não paramétricas.

A diminuição da qualidade da casca dos ovos de galinhas tratadas com sulfonamidas também foi observado por outros autores. Radwan *et al.* (1991) ofereceram sulfanilamida para aves e observaram que o medicamento causa perda da qualidade da casca dos ovos por reduzir a absorção intestinal de cálcio e por diminuir sua disponibilidade, além de alterar a deposição normal dos componentes da casca no ovo através do aumento contínuo da contratilidade uterina. Malik *et al.* (2013) relataram que o tratamento de aves de postura com medicamentos à base de sulfonamidas (sulfaquinoxalina - 150 mg, sulfametazina sódica - 70mg e sulfadiazina sódica - 70 mg) resultou em perda de peso e diminuição da espessura das cascas, que também apresentaram superfícies malformadas e ásperas. Segundo esses últimos autores a perda da qualidade externa dos ovos pode ser justificada pela diminuição da síntese de carbonato de cálcio, um dos principais componentes da casca do ovo.

O tratamento com sulfaquinoxalina alterou a quantidade de poros presentes na casca (Tab. 2), e os ovos das galinhas tratadas apresentaram maior quantidade de poros (134,49) que os ovos das não tratadas (109,52). Essa alteração dependeu igualmente do dia do tratamento, e ocorreu no quarto dia de experimento, que corresponde ao ovo produzido no último dia em que as aves receberam o medicamento na ração. O aumento do número de poros pode ter contribuído para a diminuição do peso específico dos ovos, por favorecer as trocas gasosas e permitir uma maior perda de água.

Tabela 2-Resultados médios dos valores de porosidade da casca dos ovos das galinhas não tratadas (A) e tratadas com sulfaquinoxalina (B).

Tratamento	Porosidade da casca ¹						CV ²
	Dias de experimento						
	4	5	6	7	11	15	
A	109,52bB	107,73aB	120,45aAB	116,26aAB	140,08aA	129,08aAB	18,6
B	134,49aA	123,55aA	115,01aA	130,56aA	114,85aA	119,83aA	

¹ Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, são diferentes pelo teste de T ($P<0,05$).

² CV: Coeficiente de variação.

Foi observado efeito da interação tratamento x dia de avaliação para o parâmetro cor da casca ($P<0,001$). As aves que receberam sulfaquinoxalina na ração apresentaram redução dos valores

do parâmetro b* na região equatorial no último dia de avaliação (Tab.3). Porém, em nenhum outro dia do tratamento, foram observadas diferenças nos parâmetros de cor avaliados (L*, a*, b*).

Tabela 3: Resultados médios dos parâmetros L* a* b*, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com sulfaquinoxalina (B).

			Coloração da casca ¹						
			Dias de experimento						
Parâmetros	Tratamento		4	5	6	7	11	15	CV ²
Basal	L*	A	56,44aA	56,37aA	55,96aA	54,87aA	56,62aA	55,87aA	0,79
		B	53,57aA	54,34aA	56,85aA	54,16aA	55,00aA	53,89aA	
	a*	A	19,63aA	19,44aA	19,90aA	19,63aA	19,89aA	19,43aA	22,68
		B	21,21aA	20,37aA	19,21aA	19,80aA	20,66aA	19,20aA	
	b*	A	30,94aA	29,92aA	31,58aA	30,06aA	31,00aA	30,00aA	11,61
		B	31,26aA	30,54aA	30,29aA	30,46aA	30,72aA	29,99aA	
Equatorial	L*	A	60,47aA	59,85aA	59,74aA	58,12aA	59,84aA	58,98aA	8,4
		B	58,61aA	58,99aA	60,51aA	59,50aA	58,53aA	58,37aA	
	a*	A	17,64aA	17,99aA	18,80aA	18,50aA	18,35aA	18,06aA	11,9
		B	19,10aA	18,82aA	18,26aA	18,12aA	19,39aA	17,77aA	
	b*	A	31,57aAB	31,40aAB	32,42aA	30,65aAB	31,46aB	31,28bAB	NA ³
		B	32,91aA	31,46aAB	31,19aAB	31,42aAB	31,93aAB	31,05aC	
Apical	L*	A	61,28aA	59,81aA	59,60aA	56,00aA	60,42aA	58,25aA	7,51
		B	58,71aA	58,68aA	60,75aA	58,70aA	57,60aA	59,16aA	
	a*	A	18,76aA	17,73aA	19,00aA	19,47aA	17,95aA	18,55aA	16,93
		B	16,75aA	18,64aA	18,12aA	18,71aA	20,08aA	17,49aA	
	b*	A	31,09aA	31,27aA	32,13aA	30,32aA	31,08aA	30,64aA	NA ³
		B	32,71aA	30,77aA	30,99aA	31,75aA	31,83aA	30,97aA	

¹ Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, são diferentes pelo teste de T (P<0,001).

² CV: Coeficiente de variação

³ NA: Não se aplica. Variáveis não paramétricas.

Segundo Butcher e Miles (2017), drogas que interferem na formação da casca dos ovos, em especial que impedem a deposição da cutícula, como as sulfonamidas, levam despigmentação dos ovos. Porém, a alteração na cor no parâmetro b* encontrada nesse experimento não foi considerada como efeito do tratamento medicamentoso, pois essa alteração só foi observada 12 dias após a retirada do medicamento e nos dias anteriores não foram observadas nenhuma diferença entre os tratamentos e dias avaliados.

5.2. Qualidade da casca dos ovos de galinhas tratadas com o antimicrobiano Enrofloxacina

Os resultados de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca, teor de cálcio e porosidade dos tratamentos A (controle) e C (enrofloxacina) estão demonstrados na Tab.4. Não foram observadas diferenças (P>0,05) entre os tratamentos para esses parâmetros de qualidade avaliados.

Tabela 4: Resultados médios dos valores de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca, teor de cálcio e porosidade, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com enrofloxacina (C).

Tratamento	Resistência (g)	Peso específico (g/mL H ₂ O)	Peso da casca (g)	% de casca	Espessura da casca (mm)	Cálcio (mg/Kg)	Nº poros
A	5186,55a	1.0807a	6,10a	9.73a	0,3996a	0,439a	123,08a
C	5330,57a	1.0797a	6,18a	9.63a	0,3973a	0,437a	113,67a
CV (%) ¹	20,73	NA ²	9,03	9,52	6,66	NA ²	18,6

Médias seguidas de letras iguais na coluna são semelhantes estatisticamente pelo teste de T (P>0,05).

¹ CV: Coeficiente de variação.

² NA: Não se aplica. Variáveis não paramétricas.

Apesar de não terem sido verificadas alterações nas avaliações de qualidade da casca (Tab.4), alguns ovos produzidos pelas galinhas tratadas com enrofloxacina apresentaram alterações na forma da casca, com superfícies malformadas e ásperas (Fig.4). As alterações ocorreram nos ovos coletados a partir do sexto dia de experimento, um dia após a última administração do medicamento.

Figura 4: Ovos com superfície enrugada produzidos por galinhas tratadas com o antimicrobiano enrofloxacina (C), nos dias seis, sete 11 e 15 do experimento.



Fonte: Arquivo pessoal

Foram observadas alterações significativas (P<0,001) na coloração da casca, avaliada pelos parâmetros L*, a* e b*, dos ovos tratados com enrofloxacina (Tab.5). O tratamento das aves resultou em ovos mais claros, em comparação aos ovos de galinhas não tratadas, no sétimo dia de experimento, que corresponde ao ovo produzido um dia após o término do tratamento. O clareamento da casca foi evidenciado com o aumento do parâmetro L*, nas regiões equatorial e apical (61,35 e 61,33) em relação as galinhas não tratadas (58,12 e 56,00) respectivamente. Também foi observado redução dos valores do parâmetro a* na região equatorial (17,00) em comparação ao grupo controle (18,80), com produção de ovos mais claros no sexto dia de experimento, que corresponde ao ovo produzido no último dia de tratamento.

Tabela 5: Resultados médios dos parâmetros L* a* b*, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com enrofloxacina (C).

Parâmetros	Tratamento	Coloração da casca ¹						CV ²	
		Dias de experimento							
		4	5	6	7	11	15		
Basal	L*	A	56,44aA	56,37aA	55,96aA	54,87aA	56,62aA	55,87aA	0,79
		C	57,54aA	57,64aA	56,62aA	57,89aA	57,28aA	54,556aA	
	a*	A	19,63aA	19,44aA	19,90aA	19,63aA	19,89aA	19,43aA	22,68
		C	18,66aA	18,44aA	18,89aA	18,76aA	19,32aA	18,66aA	
	b*	A	30,94aA	29,92aA	31,58aA	30,06aA	31,00aA	30,00aA	11,61
		C	30,97aA	29,77aA	31,58aA	30,90aA	31,41aA	30,22aA	
Equatorial	L*	A	60,47aA	59,85aA	59,74aA	58,12aA	59,84aA	58,98aA	8,4
		C	61,16aA	61,80aA	61,68aA	61,35bA	60,70aA	58,96aA	
	a*	A	17,64aA	17,99aA	18,80aA	18,50aA	18,35aA	18,06aA	11,9
		C	16,96aA	16,46aA	17,00bA	17,13aA	17,93aA	17,08aA	
	b*	A	31,57aAB	31,40aAB	32,42aA	30,65aAB	31,46aB	31,28aAB	NA ³
		C	31,32aA	30,23aA	32,04aA	31,16aA	32,01aA	31,03aA	
Apical	L*	A	61,28aA	59,81aA	59,60aA	56,00bA	60,42aA	58,25aA	7,51
		C	60,97aA	62,11aA	62,87aA	61,33aA	60,11aA	59,86aA	
	a*	A	18,76aA	17,73aA	19,00aA	19,47aA	17,95aA	18,55aA	16,93
		C	16,48aA	16,15aA	16,69aA	16,89aA	18,13aA	16,79aA	
	b*	A	31,09aA	31,27aA	32,13aA	30,32aA	31,08aA	30,64aA	NA ³
		C	30,63aA	30,00aA	31,74aA	30,35aA	30,72aA	30,73aA	

¹ Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, são diferentes pelo teste T (P<0,001).

² CV: Coeficiente de variação.

³ NA: Não se aplica. Variáveis não paramétricas.

Apesar do uso de fluorquinolonas não ser aprovado para poedeiras, elas são muito utilizadas no dia a dia da produção comercial de postura por ser um medicamento de amplo espectro de ação contra bactérias e indicado para o tratamento de inúmeras infecções comuns em avicultura de postura. E, como relatado no item 3 dessa dissertação, na literatura existente são documentados os acúmulos de resíduos de enrofloxacina bem como de outras quinolonas no conteúdo interno de ovos e em tecidos de aves tratadas. Porém, apesar de não haver na literatura nenhum trabalho que relacione o uso da enrofloxacina com a qualidade da casca, existem relatos que descrevem a perda da qualidade dessa.

5.3. Qualidade da casca dos ovos de galinhas tratadas com o anticoccidiano Nicarbazina

Os resultados de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem, espessura e porosidade da casca e teor de cálcio dos tratamentos A (controle) e D (nicarbazina) estão demonstrados na Tab.6.

Tabela 6: Resultados médios dos valores de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca, teor de cálcio e porosidade, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com nicarbazina (D).

Tratamento	Resistência (g)	Peso específico (g/mL H ₂ O)	Peso casca	% de casca	Espessura casca (mm)	Cálcio (mg/Kg)	Nº poros
A	5186,55a	1.0807a	6,10a	9.73a	0,3996a	0,439a	123,08a
D	5165,56a	1.0826a	6,07a	9.87a	0,4022a	0,446a	117,00a
CV(%) ¹	20,73	NA ²	9,03	9,52	6,66	NA ²	18,6

Médias seguidas de letras semelhantes na coluna são iguais pelo teste T (P>0,05).

¹CV: Coeficiente de variação.

²NA: Não se aplica. Variáveis não paramétricas.

O tratamento das galinhas com o anticoccidiano nicarbazina resultou em perda de qualidade dos ovos devido basicamente a despigmentação das cascas, sendo que com relação aos outros parâmetros avaliados não houve diferença (P>0,05) entre os grupos não tratado e o que consumiu a ração contaminada com o medicamento. Geralmente, não são utilizados anticoccidianos para galinhas de postura, principalmente quando essas são criadas em gaiolas (como no caso do presente trabalho), mas ocasionalmente pode ocorrer contaminação da ração durante sua produção nas fábricas. Para simular essa contaminação da ração de postura com medicamento, o tratamento D foi formulado com subdosagens de nicarbazina na ração.

Os resultados encontrados demonstraram que o medicamento nicarbazina, como foi utilizado, não interferiu na formação e constituição das estruturas que formam a casca. No entanto, o tratamento com o anticoccidiano foi realizado em uma baixa dosagem e por um curto período de tempo, o que não permite afirmar se o mesmo, quando utilizado em altas dosagens e por um período prolongado, não altera os parâmetros de qualidade avaliados. Como foi dito anteriormente, normalmente a nicarbazina não é utilizada em aves de postura, dessa maneira, se ocorrer a contaminação acidental a mesma será em baixas dosagens por um período curto de tempo.

Diferente dos resultados apresentados no nesse trabalho, Sherwood *et al.* (1956) demonstraram a perda da qualidade dos ovos de galinhas reprodutoras em fase de postura tratadas com nicarbazina por longos períodos. No experimento as aves receberam diferentes dosagens de nicarbazina (6, 20, 50, 125 e 700 mg.kg⁻¹) durante 12 dias. Como efeito do tratamento, os autores relataram que além da despigmentação da casca, foram observados aumento da mortalidade embrionária e queda na eclodibilidade. A piora do desempenho reprodutivo das aves observada pelos autores pode estar relacionada a piora da qualidade da casca dos ovos resultante do tratamento com nicarbazina.

A alteração da qualidade da casca dos ovos de galinhas submetidas ao tratamento com anticoccidianos por longos períodos também foi observada por Jones *et al.* (1990). Esses autores observaram, durante o período de tratamento e logo após a retirada do medicamento, redução do peso e diminuição da espessura da casca dos ovos das galinhas que foram tratadas com nicarbazina.

O tratamento das aves com nicarbazina resultou em despigmentação de todas as regiões da casca dos ovos (Tab. 7), essa despigmentação foi evidenciada pelo aumento da faixa branca (L*) e diminuição da faixa vermelha (*a). Essas alterações foram identificadas a partir dos ovos produzidos no terceiro dia de tratamento das aves até os ovos produzidos no sétimo dia do experimento, ou seja, dois dias após o término do tratamento com o anticoccidiano (Fig.5).

No 11º dia de experimento as cascas não mais apresentavam a despigmentação, os ovos desse dia foram formados cinco dias após a interrupção na administração da nicarbazina. Devido a definição das datas de coleta dos ovos, não foram avaliados os ovos produzidos entre os dias sete e 11, não podendo afirmar com exatidão com quantos dias de suspensão da nicarbazina os ovos voltaram a coloração normal.

Tabela 7: Resultados médios dos parâmetros L* a* b*, dos ovos de galinhas não tratadas (A) e tratadas com nicarbazina (D).

			Coloração da casca ¹						
			Dias de experimento						
	Parâmetros	Tratamento	4	5	6	7	11	15	CV ²
Basal	L*	A	56,44bA	56,37bA	55,96bA	54,87bA	56,62aA	55,87aA	0,79
		D	67,13aC	68,01aC	67,24aC	63,77aBC	58,61aAB	55,76aA	
	a*	A	19,63aA	19,44aA	19,90aA	19,63aA	19,89aA	19,43aA	22,68
		D	13,23bB	12,70bB	12,85bB	14,14bB	18,64aA	17,69aA	
	b*	A	30,94aA	29,92aA	31,58aA	30,06aA	31,00aA	30,00aA	11,61
		D	27,98bB	27,94aB	28,83aAB	27,40aB	31,98aA	30,17aAB	
Equatorial	L*	A	60,47bA	59,85bA	59,74bA	58,12bA	59,84aA	58,98aA	8,4
		D	70,85aAB	71,10aA	70,92aAB	65,42aBC	60,98aCD	58,80aD	
	a*	A	17,64aA	17,99aA	18,80aA	18,50aA	18,35aA	18,06aA	11,9
		D	11,43bBC	11,10bC	11,00bC	14,71bAB	17,58aA	16,75aA	
	b*	A	31,57aAB	31,40aAB	32,42aA	30,65aAB	31,46aB	31,28aAB	NA ³
		D	27,94aB	26,86aB	27,68aB	28,54aAB	31,05bA	31,03bA	
Apical	L*	A	61,28bA	59,81bA	59,60bA	56,00bA	60,42aA	58,25aA	7,51
		D	68,95aAB	70,35aA	70,81aA	64,41aB	60,53aBC	58,08aC	
	a*	A	18,76aA	17,73aA	19,00aA	19,47aA	17,95aA	18,55aA	16,93
		D	11,66bBC	11,11bBC	10,84bC	14,46bAB	17,60aA	16,91aA	
	b*	A	31,09aA	31,27aA	32,13aA	30,32aA	31,08aA	30,64aA	NA ³
		D	27,72aB	26,31aB	27,25aB	28,60aAB	31,56bB	30,14bAB	

¹ Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, são diferentes pelo teste T (P<0,001).

² CV2: coeficiente de variação.

³ NA: Não se aplica. Variáveis não paramétricas.

O tempo necessário para a recuperação da coloração normal dos ovos após o tratamento com nicarbazina depende da dosagem do medicamento administrada. Hughes *et al.* (1991) ao avaliar o efeito da contaminação da ração por nicarbazina sobre a produção de ovos, fertilidade, eclodibilidade e pigmentação da casca verificaram que a descoloração resultante do tratamento das aves com níveis de 25, 50 e 100 mg.kg⁻¹ de nicarbazina ocorreu a partir dos dias três e quatro para a menor dosagem (25 mg.kg⁻¹) e no segundo dia para as maiores dosagens (50 e 100 mg.kg⁻¹). Foi observada uma descoloração total nos dias três e quatro dos ovos de galinhas tratadas com ração contendo 100 mg.kg⁻¹ do anticoccidiano. Os autores observaram que a recuperação da coloração da casca ocorreu após seis, sete e oito dias de interrupção do tratamento para as dosagens de 25, 50 e 100 mg.kg⁻¹ respectivamente.

O mecanismo de interferência da nicarbazina na deposição dos pigmentos sobre a casca dos ovos foi investigado por alguns autores. Polin (1959) avaliou a concentração das porfirinas na casca dos ovos e a capacidade de síntese *in vitro* desses pigmentos pelos tecidos do oviduto de galinhas tratadas como o anticoccidiano. E verificou que, com cinco dias de tratamento a concentração de porfirinas na casca teve redução de 58% e 71% nos grupos tratados com 50 e 100 mg.kg⁻¹ de

nicarbazina respectivamente. Foi observada que a diminuição da deposição do pigmento não está relacionada a perda da capacidade de síntese *in vitro* do pigmento pelos segmentos do oviduto, uma vez que essa foi mantida.

Samiullah et al., (2017) também investigaram a interferência da utilização da nicarbazina na ração para aves de postura na síntese das protoporfirinas nos diferentes estágios de formação da casca do ovo pelo estudo da variabilidade da expressão dos genes envolvidos na formação do pigmento e pela quantificação do número de mitocôndrias por célula do oviduto. Os autores verificaram que o tratamento com nicarbazina interferiu na síntese dos pigmentos da casca pela redução da quantidade de mitocôndrias no momento em que a sintetização das protoporfirinas se intensifica e pela redução na expressão de genes específicos, mantendo-os estavelmente baixos. A interferência na síntese dos pigmentos resultou na redução da concentração das protoporfirinas nos tecidos do oviduto na fase final de formação da casca, tais níveis decresceram proporcionalmente com o aumento do tempo de administração da droga. Provavelmente, o mesmo mecanismo de interferência na síntese de pigmentos da casca pode ter ocorrido no presente trabalho, pois foram verificados ovos totalmente despigmentados (Fig.5).

Figura 5: Efeitos da utilização de nicarbazina na ração de galinhas de postura na despigmentação da casca dos ovos



Fonte: Arquivo pessoal

6. CONCLUSÃO

O tratamento de galinhas poedeiras com medicamentos durante a fase de postura altera a qualidade da casca dos ovos produzidos da seguinte maneira:

- O antimicrobiano sulfaquinoxalina quando utilizado para tratamento ou profilaxia de aves em fase de postura provoca a diminuição da porcentagem de casca e o aumento da porosidade da mesma, levando a uma piora do peso específico e diminuindo a qualidade do ovo produzido;
- O antimicrobiano enrofloxacina quando utilizado em aves de postura não altera as avaliações de resistência da casca, peso específico dos ovos, peso, porcentagem e espessura da casca e teor de cálcio, porém pode ser detectada uma perda na tonalidade da casca dos ovos, e;
- O uso do acidental do anticoccidiano nicarbazina na ração de galinhas poedeiras provoca a despigmentação das cascas dos ovos vermelhos. Essa despigmentação pode ser causada pela diminuição da síntese de protoporfirinas (pigmentos responsáveis pela coloração dos ovos). Após a retirada do anticoccidiano nicarbazina da ração das aves de postura, os ovos produzidos retornam à coloração normal.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2018**. São Paulo. 2018a. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2018>> Acesso em: 12 ago. 2018
2. ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal. **Produção de aves e de suínos será menor neste ano, aponta a ABPA**. São Paulo. 2018 Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/noticia/artigos/todas/producao-de-aves-e-de-suinos-sera-menor-neste-ano-aponta-a-abpa-2642>> Acesso em: 03 jan. 2019
3. ARAÚJO, W. A. G.; ALBINO, L. F. T. Importância de qualidade da casca do ovo em matriz pesada. In: ARAÚJO, W. A. G. e ALBINO, L. F. T. **Incubação comercial**. Viçosa: Transworld Research Network, 2011, p. 123 - 137.
4. BAIÃO, N. C.; CANÇADO, S. V. Fatores que afetam a qualidade da casca do ovo. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária da UFMG**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, n. 21, p. 43 - 59, 1997.
5. BAPTISTA, R. F. *et al.* Influência do trincamento da casca do ovo sobre sua qualidade comercial. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. Niterói, v. 14, n. 1, p. 35-38, jan-abr, 2007.
6. BAVARESCO, C.; GENTILINI, F. P. Metodologia para aferição de espessura de casca. In: Congresso de Iniciação Científica da UFPel, 2011, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFRGS, 2013.
7. BARBOSA, V. M. *et al.* Avaliação da qualidade da casca dos ovos provenientes de matrizes pesadas com diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 64, n. 4, p. 1036 - 1044, 2012.
8. BERG, C. *et al.* Embryonic exposure to oestrogen causes eggshell thinning and altered shell gland carbonic anhydrase expression in the domestic hen. **Reproduction** (online). n. 128, p. 455-461, 2004. Disponível em: <www.reproduction-online.org> Acesso em: 20 ago. 2018.
9. BOGIALLI, S.; CORCIA, A. Recent applications of liquid chromatography-mass spectrometry to residue analysis of antimicrobials in food of animal origin. **Analical Bioanalytical Chemistry**, v. 395, p. 947 - 966, 2009.

10. BONDI, M. C. *et al.* An overview of sample preparation producers for LC-MS multiclass antibiotic determination in environmental and food samples. **Analical Bioanalytical Chemistry**, v. 395, p. 921 – 946, 2009.
11. BORSOI, A.; PALERMO-NETO, J. Uso de antimicrobianos na postura comercial. Problema de saúde aviária ou de saúde pública? In: XIII Congresso APA produção e comercialização de ovos. **Anais...** Ribeirão Preto, 2015.
12. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.
13. BRASIL, Ministério da agricultura Pecuária e Abastecimento. **Determinação de cálcio em produtos de origem animal por oxidimetria**. Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/RS, 2014.
14. BUTCHER, G. D.; MILES, R. D. **Concepts of Eggshell Quality**. Universidade da Flórida, 2015. Disponível em: < <https://edis.ifas.ufl.edu/vm013>> Acesso em: 07/01/2019.
15. BUTCHER, G. D.; MILES, R. D. **Factors Causing Poor Pigmentation of Brown-Shelled Eggs**. Universidade da Flórida, 2017. Disponível em: < <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/VM/VM04700.pdf>> Acesso em: 19/12/2018.
16. CALDEIRA, L. G. M. *et al.* Validation of an UHPLC-MS/MS Method for Screening of Antimicrobial Residues in Eggs and Their Application to Analyses of Eggs from Laying Hens Subjected to Pharmacological Treatment. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**. v. 2017, p. 1 - 14, 2017.
17. CARVALHO, D. P. **Qualidade externa de ovos comerciais**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Goiás), Goiânia, 2013.
18. CAVERO, D. *et al.* Attractive eggshell color as a breeding goal. **Lohmann information**, v. 47, n. 2, p. 15 - 21, 2012. Disponível em: <http://www.lohmann-information.com/content/1_i_47_artikel12.pdf> Acesso em 18/01/2019.
19. CEPEA, Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **Ovos/perspec2018**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz: Piracicaba, 10 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/releases/ovos-perspec-2018-apos-queda-em-2017-setor-aposta-em-recuperacao-das-exportacoes-em-2018.aspx>> Acesso em: 12 ago. 2018
20. CHO, H. J. *et al.* Monitoring of flourquinolone residual levels in chicken eggs by microbiological assay and confirmation by liquid chromatography. **Biomedical Chromatography**. n. 22, p. 92 - 99, 2008.
21. CHUKWUKA, O. K. *et al.* Egg quality defects in poultry management and food safety. **Asian Journal of Agricultural Research**. v. 5, n. 1, p. 1 - 16, 2011.
22. CLUNIES, M.; PARKS, D.; LEESON, S. Calcium and phosphorus metabolism and eggshell thickness in laying hens producing thick or thin shells. **Poultry Science**, v. 71, p. 490 - 498, 1992.
23. COMPANYÓ, R. *et al.* Antibiotics in food: legislation and validation of analytical methods. **Analical Bioanalytical Chemistry**, v. 395, p. 877 – 891, 2009.
24. DCI, Diário Comércio Indústria & Serviços. **Custos estáveis estimulam alta da produção de ovos no Brasil**. Disponível em: <<https://www.dci.com.br/impresso/custos-estaveis-estimulam-alta-da-produc-o-de-ovos-no-brasil-1.675193>> Acesso em: 12 ago. 2018
25. DE ASSIS, D. C. S. *et al.* Evaluation of the Presence and Levels of Enrofloxacin, Ciprofloxacin, Sulfaquinoxaline and Oxytetracycline in Broiler Chickens after Drug Administration. **Plos One**. v. 11, p. e0166402, 2016.
26. DOYLE, M. E. **Veterinary Drug Residues in Processed Meats: Potential Health Risk (A Review of the Scientific Literature)**. Food Research Institute: Madison, 2006.

27. FANGAUD, R. *et al.* **Huevos: planificación comercial.** Zaragoza: Acribia. 1967.
28. FERREIRA, A. J. P.; PIZARRO, L. D. C. R. Agentes antiprotozoários. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
29. FÖRSTER, A. *et al.* Use of photometrically determined shell color parameters as selection criteria for marketable brown shelled eggs. **Archiv für Geflügelkunde**, v. 60, p. 1 - 6, 1996.
30. FRASER, A. C.; BAIN, M. M.; SOLOMON, S. E. Transmission electron microscopy of the vertical crystal layer and cuticle of the eggshell of the domestic fowl. **British Poultry Science** v. 40, 626 – 631, 1999.
31. FREITAS, L.W. *et al.* Aspectos qualitativos de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Revista Agrarian.** v. 4, n. 11, p. 66 - 72, 2011.
32. GOMES, M. **Brasil bate recorde em produção de ovos e fica em sétimo no ranking mundial.** 13 nov. 2017. Disponível em: <<https://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/economia>> Acesso em: 12 ago. 2018
33. GORLA, N. E. *et al.* HPLC residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in eggs of laying hens. **International Journal of Antimicrobial Agents.** n. 8, p. 253 - 256, 1997.
34. GÓRNIAC, S. L. Sulfas, quinolonas e outros quimioterápicos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, p. 409 - 441.
35. GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 3, n. 3, p. 667 - 679, 2010.
36. GUSTAFSON, R. H.; BOWEN, R. E. Antibiotic use in animal agriculture. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, p 531 – 541, 1997.
37. HAMILTON, R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science.** v. 61, p. 2022 - 2039, 1982.
38. HARDER, M.N.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Avaliação quantitativa por colorímetro digital da cor do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com urucum (Bixa orellana). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias.** v. 102, n. 563 - 564, p. 339 - 342, 2007.
39. HIGGINS, J.J., BLAIR, R.C.; TASHTOUSH, S. The aligned rank transform procedure. **Conference on Applied Statistics in Agriculture**, Kansas. p. 185 – 195, 1990.
40. HUGHES, B. L.; JONES, J. E.; TOLER, J. E. Effects of exposing broiler breeders to nicarbazin contaminated feed. **PoultryScience**, v. 70, p. 476 - 482, 1991.
41. HUNTON, P. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. **Revista Brasileira de Ciência Avícola.** v. 7, n. 2, p. 67 - 71, abr - jun, 2005.
42. ITO, N. M. K. *et al.* Antimicrobianos: Usos preventivos e curativos em avicultura. In: PALERMO-NETO, J., SPINOSA, H. S. e GÓRNIAC, S. L.: **Farmacologia Aplicada à Avicultura:** boas práticas no manejo de medicamentos. São Paulo: Roca, 2005, p. 115-147.
43. JACOB, J. P.; MILES, R. D.; MATHER, F. B. **Egg quality.** Universidade da Flórida, 2011.
44. JONES, J. E. *et al.* Production and egg-quality responses of white leghorn layers to anticoccidial agents. **Poultry Science.** v. 69, n. 3, p. 378 - 387, 1990.
45. KETTA, M. e TUMOVÁ, E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. **Czech Journal Animal Science.** v. 61, n. 7, p. 299 - 309, 2016.
46. LI-CHAN, E e KIM, H. O. Structure and chemical composition of eggs. In: **Mine Y:** Egg Bioscience and Biotechnology. Nova jersey: John Wiley, 2008, p. 1 – 65.
47. LIN, H. *et al.* New approach of testing the effect of heat stress on eggshell quality: mechanical and material properties of eggshell and membrane. **British Poultry Science.** v. 45, n. 4, p. 476 - 482, 2004.

48. LOHMANN BRASIL. Lohmann Brown Lite: Dados de desempenho. São Paulo. 2016. Disponível em: < <https://ltz.com.br/lohmann-brown> > Acesso em: 10/09/2018
49. MALIK, H. E. E., OMER, J. E.; ELAMIN, K. M. Effects of Sulfanomides residues on egg quality traits. **International Journal of Poultry Science**. v. 12 n. 5, p. 312 - 317, 2013.
50. MATEOS, G. C. Factores que influyem en la calidad del huevo. In: **Nutrición y alimentación de las gallinas ponedoras**. 9. ed. Madrid: Mundi-Prensa, 1991, p. 227 - 248.
51. MAZZUCO, H. Problemas na qualidade da casca do ovo: identificando as causas e possíveis soluções. **Avicultura Industrial**. n. 6, ed. 1223, p. 16 - 26, 2013.
52. MCREYNOLDS, J. L., *et al.* Antimicrobial residue detection in chicken yolk samples following administration to egg-production chickens and effects of residue detection on competitive exclusion culture (PREEMPT) establishment. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. n. 48, p. 6435 - 6438, 2000.
53. MENDONÇA JR, C. X. Fatores nutricionais envolvidos na qualidade do ovo. Simpósio Técnico de Produção de Ovos. São Paulo, 1993. **Anais...** São Paulo: Assoc Paulista de Avicultura (APA), 1993. p. 29 - 51.
54. MILES, R. D. Fatores nutricionais relacionados à qualidade da casca dos ovos. In: IV Simpósio Goiano de Avicultura, 2000, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sebrae, 2000. p. 163-173.
55. NASCIMENTO, V. P.; SALLE, C. T. P. O ovo. In: GONZALES, E.; MACARI, M. **Manejo da Incubação**. 2. ed. Campinas: FACTA, 2003. p. 97-124.
56. Nys *et al.* Avian eggshell mineralization. **Avian and Poultry Biology Reviews**. v. 10, n. 3, p. 143 - 166, 1993.
57. NIEKERK, V. **Egg quality**. Lown in put breeds technical note. 2014. Disponível em <www.lowninputbreeds.org> Acesso em 12/12/2018.
58. PAMvet-PR. **Medicamentos Veterinários Utilizados na Avicultura de Postura no Estado do Paraná** 2005. Disponível em: <http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/vigilancia%20sanitaria/relatorio%20avicultura.pdf> Acesso dia: 14/08/2018.
59. PALERMO-NETO, J. Considerações gerais sobre o uso de agentes que alteram a produção animal. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 561-570.
60. PALERMO-NETO, J. E TITZE-DE-ALMEIDA, R. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: Spinosa, H. S., Górnika, S. L.; Bernardi, M. M.: **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 3. ed. Guanabara Koogan: São Paulo, 2002, p. 558 - 573.
61. PARSONS, A. H. Structure of the eggshell. **Poultry Science**, v. 61, n. 10, 1982, p. 2013-2021.
62. PEREIRA, J. G. *et al.* Termogravimetria: um novo enfoque para a clássica determinação de cálcio em cascas de ovos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, 2009.
63. POGGENPOEL, D.G. *et al.* Response to long-term selection for egg production in laying hens. **Poultry Science**, v. 37, n. 4, p. 743 - 56, 1996.
64. POLIN, D. Porphyrin formation by tissues from laying hens fed Nicarbazin. **Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 100, p. 695 - 698, 1959.
65. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2019. URL <https://www.R-project.org>
66. RADWAN, A. A. *et al.* Influence of sulfanilamide on intestinal calcium absorption, uterine contractile activity and egg shell thickness in the domestic fowl. **Poultry Abstracts**. p. 187, 1992.
67. REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A. J. P. Anticoccidianos. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GORNIAK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura: boas práticas no manejo de medicamentos**. São Paulo: Roca, 2005, p. 189 - 199.

68. ROMANOFF, A. L. e ROMANOFF, A. J. **The Avian egg**. John Wiley & Sons, INC: Nova York, 1949.
69. SAMIULLAH, S. e ROBERTS, J. R. The location of protoporphyrin in the eggshell of brown-shelled eggs. **Poultry Science**, v. 92, p. 2783 – 2788, 2013.
70. SAMIULLAH, S.; ROBERTS, J.; WU, S. Downregulation of ALAS1 by nicarbazin treatment underlies the reduced synthesis of protoporphyrin IX in shell gland of laying hens. **Scientific Reports**, v. 7, n. 6253, 2017.
71. SANTOS, et al. Análises dos Constituintes Inorgânicos da Casca do Ovo. **Scientia Plena**, v. 8, n. 3, 2012.
72. SCHWARTZ, S. *et al.* Red, white, and blue eggs as models of porphyrin and heme metabolism. **Annals New York Academy of Sciences**, v. 244, 570 - 588, 1975.
73. SEEMANN, M. Factors which influence pigmentation. **Lohmann Information**. n. 24, p. 20-26, 2000. Disponível em: <http://www.lohmann-information.com/archive_year_2000.html> Acesso em 23 ago. 2018
74. SESTI, L. e ITO, N.M.K. Fisiopatologia do sistema reprodutor. In JÚNIOR BERCHIERI, A. *et al.* **Doenças das aves**. 2. ed Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. 2009. 314 - 378p
75. SHERWOOD, D. H.; MILBY, T. T.; HIGGINS, W. A. The effect of nicarbazin on reproduction in white rock breeder hens. **Poultry Science**, v. 35, p. 1014 – 1019, 1956.
76. SOLOMON, S.E. **Egg and Eggshell Quality**. Londres: Wolfe Publishing, 1991.
77. SPINOSA, H.S.; ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I. Antimicrobianos: Considerações Gerais. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L. **Farmacologia Aplicada à Avicultura: Boas Práticas no Manejo de Medicamentos**. São Paulo: Roca, p. 87 - 104, 2005.
78. SPINOSA, H. S.; TÁRRAGA, K. M. Considerações gerais sobre os antimicrobianos. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura: boas práticas no manejo de medicamentos**. São Paulo: Roca, 2005, p. 409-417. 2011
79. STADELMAN, W.J. Quality identification of Shell eggs. In: STADELMAN, W.J. e COTTERILL, O.J. **Egg Science and technology**. 4.ed. New York: Food Products Press. 1994, p. 39 - 66.
80. TSS, Technical Services and Supplies Ltd. **QCM+ Range**. Inglaterra, 2019. Disponível em: <<http://www.tss-york.com/products/qcmrange>> Acesso em: 12/12/2018.
81. TULLETT, S.G.; DEEMING, D.C. The relationship between eggshell porosity and oxygen consumption of the embryo in domestic fowl. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 72, p. 529 - 533, 1982.
82. VILELA, D. R. *et al.* Qualidade interna e externa de ovos de poedeiras comerciais com cascas normal e vítrea. **Ciência animal brasileira**. v. 17, n. 4, p. 509 - 518, 2016.
83. WOBBROCK, J. O. *et al.* The aligned rank transform for nonparametric factorial analyses using only anova procedures. **Proceedings of the SIGCHI**, p. 143 – 146, 2011.
84. WONG LIONG, J. W., FRANK, J. F. e BAILEY, S. Visualization of Eggshell Membranes and Their Interaction with Salmonella enteritidis Using Confocal Scanning Laser Microscopy. **Journal of Food Protection**, vol. 60, n. 9, p. 1022 - 1028, 1997.
85. ZHAO, S. X. *et al.* Developing and optimizing and immunoaffinity cleanup technique for determination of quinolones from chicken muscle. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. n. 57 p. 365 - 371, 2009.