

Vanessa Kelly Ferreira do Rosário Santos

**Parâmetros sanguíneos e histologia hepática de frangos de corte
suplementados com dietas contendo óleos essenciais**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração:

Produção Animal

Orientador:

Anna Christina de Almeida

Coorientadores:

Claudia Regina Vieira

Rogério Marcos de Souza

MONTES CLAROS

2017

S237p
2017

Santos, Vanessa Kelly Ferreira do Rosário.

Parâmetros sanguíneos e histologia hepática de frangos de corte suplementados com dietas contendo óleos essenciais / Vanessa Kelly Ferreira do Rosário Santos. Montes Claros, MG: Instituto de Ciências Agrárias/UFMG, 2017.

51 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

Orientadora: Prof.^a Anna Christina de Almeida.

Banca examinadora: Neide Judith Faria de Oliveira, Wedson Carlos Lima Nogueira, Anna Christina de Almeida

Referências: f: 40-49

1. Avicultura. 2. Óleos essenciais – Toxicidade. 3. Produção aves. I. Almeida, Anna Christina. II. Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. III. Título.

CDU: 636.5

Elaborada pela Biblioteca Comunitária em Ciências Agrárias do ICA/UFMG

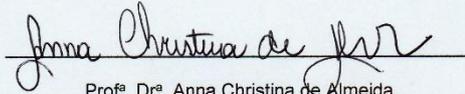
Vanessa Kelly Ferreira Do Rosário Santos

Parâmetros sanguíneos e histologia hepática de frangos de corte
suplementados com dietas contendo óleos essenciais

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Profª. Drª. Neide Judith Faria de Oliveira
(Universidade Federal de Minas Gerais – ICA/UFMG)

Dr. Wedson Carlos Lima Nogueira
(Pós-doutorando em Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais – ICA/UFMG)



Profª. Drª. Anna Christina de Almeida
Orientadora (Universidade Federal de Minas Gerais – ICA/UFMG)

Montes Claros, 28 de abril de 2017

AGRADECIMENTOS

Não foi fácil chegar até aqui. Por isso o momento é de agradecer.

Agradecer á Deus pela rica oportunidade de concretizar um sonho, que antes de ter nascido no meu coração, nasceu no coração Dele. Pelo sustento durante essa jornada e por sua mão forte á me conduzir.

Á Professora Doutora Anna Christina de Almeida, minha orientadora, pelo incentivo constante ao aprofundamento do estudo, pelo apoio emocional em momentos difíceis, pelo abraço forte quando eu estava sem forças para continuar, pelas mãos estendidas em todas as vezes que fraquejei e por todos os ensinamentos. Serei eternamente grata á Deus por tê-la como parte da minha vida.

Á professora Claudia Regina, minha coorientadora pela parceria e pelos ensinamentos.

Ao professor Rogério, meu coorientador por todos os ensinamentos e pelo carinho que sempre dispensou a minha pessoa.

Aos meus amigos Nathalia, Rodrigo e Sabrina pela amizade, companheirismo e momentos de estudo juntos.

Á Cyntia, pelo apoio e carinho que sempre a mim foram dispensados. Sou grata á Deus pela sua vida. Jamais me esquecerei de você.

Á Mariana, Lis, Yhago, Lívia Mara, Lívia Prates, Djesihre pela cooperação nas muitas análises realizadas e horas no laboratório.

Á Sergio Duarte pela cooperação e doação de tempo em nos ajudar nas análises. Sem a sua ajuda não teríamos conseguido.

Ao Prof. Dr. Renato Lima Santos pela colaboração nas análises histopatológicas no Laboratório de Patologia molecular da Escola de Veterinária da UFMG.

Ao meu pai (in memoria) pelo incentivo em estudar, em mudar de vida, em crescer. Sinto muito pelo senhor não estar aqui neste momento.

Á minha mãe pelo amor incondicional e por toda ajuda.

Ao meu marido pelo companheirismo, pela ajuda, pelo esforço que fez para que eu conseguisse chegar até aqui. Esse trabalho só foi possível porque você estava ao meu lado. Essa conquista também é sua.

Aos meus filhos Carol e João Victor pelo amor incondicional. Agradeço pela compreensão pela minha ausência e por acreditarem nos meus sonhos. Sou quem sou hoje graças ao amor que vocês me fazem sentir todos os dias.

Agradeço a Nicinha e Waner pela ajuda, quando o mestrado era um sonho distante e vocês me fizeram acreditar que era possível.

Agradeço á toda minha família pelo apoio e compreensão.

Agradeço aos meus amigos pelo carinho e torcida.

“Por mais longa que seja a caminhada o mais importante é dar o primeiro passo”.
(Vinícius de Moraes)

RESUMO

O uso de antibióticos como melhoradores de desempenho de aves é uma prática que objetiva a melhora no desempenho das aves e promoção da saúde intestinal. Entretanto a ampla utilização e uso inadequado contribuem para o surgimento de microrganismos resistentes tornando-se um problema de saúde pública no mundo, levando a necessidade de pesquisas de novos produtos que possam trazer os mesmos benefícios para as aves. Os óleos essenciais são pesquisados como potenciais produtos com boa atuação na melhora do desempenho, porém são escassos os estudos que avaliam a toxicidade e alterações que essas substâncias podem causar nas aves. Com isso, objetivou-se avaliar o perfil hematológico, função hepática e análise histopatológica de fígado de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais microencapsulados extraídos de capim-Limão (*Cymbopogon flexuosus*) e Chá-de-Pedestre (*Lippia rotundifolia*). Foram utilizados 150 pintos com um dia de idade da linhagem Cobb, alojados em 30 gaiolas por delineamento inteiramente casualizado, em cinco tratamentos com três repetições de 10 animais. Os tratamentos consistiram em: T1- dieta controle sem melhorador de desempenho; T2- dieta controle contendo melhoradores de desempenho convencionais; T3- dieta contendo óleo essencial de capim-limão em substituição aos melhoradores de desempenho convencionais ; T4- dieta contendo óleo essencial de chá-de-pedestre em substituição aos melhoradores de desempenho convencionais e T5- dieta contendo óleo essencial de capim-limão e óleo essencial de chá-de-pedestre em substituição aos melhoradores de desempenho convencionais. Aos 42 dias, as aves foram eutanasiadas e coletou-se sangue para a realização de hemograma e bioquímica sérica e o fígado para avaliação de parâmetros histopatológicos. Os parâmetros relacionados ao hemograma indicaram valores mais baixos no volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média no grupo que recebeu dieta sem melhorador de desempenho. Neste mesmo grupo de aves, os valores médios de heterófilos foram maiores que nos demais grupos. Os valores médios observados para a enzima gama-glutamil transpeptidase no grupo que recebeu ração contendo óleo de capim limão, foram superiores aos observados nos demais tratamentos. Observou-se efeito do sexo sobre os valores de aspartato aminotransferase, albumina e glicose. Lesões características de lipidose, hiperplasia de ductos biliares e fibroplasia foram observadas nos grupos de aves que receberam dieta contendo óleos essenciais em escores variáveis, sendo mais altos no grupo de aves que receberam dieta contendo óleo de chá-de-pedestre. Neste estudo, os óleos essenciais de capim limão e chá-de-pedestre microencapsulados, adicionados à ração, não promoveram alterações nos parâmetros hematológicos das aves. Observou-se alteração nos níveis de atividade enzimática da gama-glutamil transferase nas aves alimentadas com ração contendo óleo essencial de capim limão e lesões hepáticas caracterizadas por lipidose, hiperplasia de ductos biliares e fibroplasia em maiores escores em aves alimentadas com ração contendo óleos essenciais chá de pedestre.

Palavras Chave: Capim-limão, *Cymbopogon flexuosus*, Chá-de-Pedestre, *Lippia rotundifolia*, Toxicidade.

BLOOD PARAMETERS AND HEPATIC HISTOLOGY OF BROILERS SUPPLEMENTED WITH DIETS CONTAINING ESSENTIAL OILS.

The use of antibiotics for bird performance enhancement is a practice that aims at improving bird performance and promoting intestinal health. However, the widespread and inadequate use of such antibiotics has contributed to the emergence of resistant microorganisms becoming a public health problem in the world, leading to the need for further research on new products that can bring the same benefits on birds. Essential oils are investigated as potential products with good performance in performance enhancement. Nonetheless, there are only a few studies that evaluate the toxicity and changes that these substances can cause on birds. The objective of this study was to evaluate the hematological profile, liver function and liver histopathological analysis of broilers fed with portions containing microencapsulated essential oils extracted from Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and Pedestrian Tea (*Lippia rotundifolia*). One hundred and five day-old Cobb-type chicks housed in 30 cages by a completely randomized design were used in five treatments with three replicates of 10 animals. The treatments consisted of T1- control diet without performance improvement; T2- control diet containing conventional performance enhancers; T3- lemon-grass essential oil-based diet replacing conventional performance enhancers; T4- Pedestrian tea essential oil-based diet replacing the conventional performance enhancers and T5- Lemon grass essential oil and essential oil of pedestrian tea in lieu of conventional performance enhancers. At 42 days, the birds were euthanized and blood was collected for blood counts and serum biochemistry and the liver was evaluated for histopathological parameters. The parameters related to the blood counts indicated lower values in mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin in the group that received diet without performance improvement. In this same group of birds, the mean values of heterophiles were higher than in the other groups. The mean values observed for the gamma glutamyl transpeptidase enzyme in the group that received lemon grass oil feed were higher than those observed in the other treatments. The gender effect on the values of aspartate aminotransferase, albumin and glucose was observed. Wound characteristics from lipidosis, bile duct hyperplasia, and fibroplasia were observed in groups of birds that received a diet containing essential oils in variable scores, being higher in the group of birds that received a diet containing tea-pedestrian oil. In this study, the essential oils of microencapsulated lemon grass and pedestrian tea added to the diet did not cause changes in the hematological parameters of the birds. Changes in the levels of gammaglutamyl transferase enzymatic activity on birds fed with lemon grass essential oil were observed as well as higher scores of liver wounds characterized by lipidosis, bile duct hyperplasia, and fibroplasia with higher scores by birds fed with portions containing essential oils pedestrian tea.

Keywords: Lemongrass, *Cymbopogon flexuosus*, Pedestrian Tea, *Lippia rotundifolia*, Toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Exemplar de capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>)	21
Figura 2 - Exemplar de Chá-de-pedestre (<i>Lippia rotundifolia</i>)	22
Figura 3 - Lesões observadas no fígado de aves alimentadas com dieta suplementada com óleo essencial de de chá-de-pedestre (<i>L. roduntifolia</i>)	38
Gráfico 1 - Escore patológico do fígado de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais	35
Gráfico 2 - Influência do sexo sobre o escore patológico do fígado de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais	36
Quadro 1 - Classificação de escore para Lipidose, Fibroplasia e Hiperplasia de Ductos Biliares	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Eritrograma de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais de capim limão e chá de pedestre	32
Tabela 2 - Leucograma de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais de capim limão e chá de pedestre	33
Tabela 3 - Atividade de enzimas hepáticas e bioquímica sérica de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais de capim limão e chá de pedestre	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al- Albumina
ALT- Alanina Aminotransferase
AST- Aspartato Aminotransferase
CHCM- Concentração Hemoglobina Corpuscular média
CT- Colesterol Total
EM- Energia metabolizável
Eo- Eosinófilo
Eri- Eritrócitos
F- fêmea
fl- Micrometro cúbico
Gb- Globulina
GGT- Gama glutamil transpeptidase
GL- Glicose
HCM- Hemoglobina Corpuscular média
Hf- Heterófilo
Hg- Hemoglobina
Ht- Hematócrito
Lf- Linfócito
Lt- Leucócitos
M- macho;
mm³- milímetro cúbico
Mn- Monócito
OE- Óleo essencial
PB- Proteína Bruta
pg- Picograma
PT- Proteína Total
RAG- Relação Albumina Globulina
Tg- Triglicerídeos
VCM- Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 Antibióticos melhoradores de desempenho	19
3.2 Compostos fitogênicos como melhoradores de desempenho animal	20
3.3 Capim Limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>)	21
3.4 Óleo essencial de Chá-de-Pedestre (<i>Lippia rotundifolia</i>)	22
3.5 Ação dos óleos essenciais no trato gastrointestinal.	23
3.6 Perfil hematológico em aves	24
3.7 Atividade de enzimas hepáticas e lesões hepáticas em aves	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Animais e dietas experimentais	27
4.2 Parâmetros hematológicos e bioquímica sérica	27
4.3 Parâmetros histopatológicos	28
4.4 Análise estatística	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÃO	39
7 REFERÊNCIAS	40
APÊNDICE I - Composição e perfil nutricional da dieta basal de frangos de corte conforme as fases de crescimento	48
ANEXO 1 - Certificado comitê ética-UFMG	49

1 INTRODUÇÃO

Os antibióticos em subdosagens adicionados à dieta de aves são amplamente utilizados como melhoradores de desempenho promovendo melhor aproveitamento dos nutrientes com maiores taxas de crescimento e a eficiência na conversão alimentar além de atuarem na saúde intestinal das aves. No entanto, esta prática contribuiu para o surgimento de linhagens de microrganismos resistentes aos antimicrobianos como também para a presença de resíduos químicos nos alimentos de origem animal.

No intuito de resguardar a segurança alimentar, muitos países têm restringido ou mesmo proibido o uso de antibióticos como aditivos para alimentação animal com intuito de minimizar a transmissão e a proliferação de bactérias resistentes através da cadeia alimentar (ZENG *et al.*, 2015).

Este fato levou a indústria de alimentos para animais desenvolverem pesquisas na busca de produtos alternativos para inclusão como aditivos nas dietas, especialmente de aves e suínos. Pesquisas são dedicadas aos estudos com uso de ácidos orgânicos, algumas enzimas, os pré e probióticos e atualmente com fitogênicos, entre eles os óleos essenciais, com resultados importantes quanto ao aumento no ganho de peso, melhora na ingestão de alimentos e conversão alimentar, conforme apresentado em revisões amplas realizadas por ZENG *et al.* (2015), DHAMA, *et al.* (2015), KRISHAN; NARANG (2014).

Entretanto, a avaliação de possíveis efeitos tóxicos e ou alterações no metabolismo das aves são escassos e os resultados são variáveis com os óleos utilizados (TOLLBA; SHABAAN; ABDEL-MAGEED, 2010), tais como o alecrim (TRAESSEL *et al.*, 2011), tomilho (TOLLBA; SHABAAN; ABDEL-MAGEED, 2010; TOGHYANI *et al.*, 2010; TOGHYANI *et al.*, 2011; SALEH *et al.*, 2014;) e gengibre (TOGHYANI *et al.*, 2011; SALEH *et al.*, 2014; MEHR *et al.*, 2014).

O óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*) e de Chá-de-Pedestre (*Lippia rotundifolia*) podem ser alternativas de melhoradores de desempenho por apresentarem ação antimicrobiana comprovada (SOUZA *et al.*, 2015; AZEVEDO *et al.*, 2016).

O capim limão (*Cymbopogon flexuosus*) é originário da Ásia e recebe o nome popular de capim limão ou capim cidreira (MAY *et al.*, 2008). Os componentes majoritários presentes no óleo são mirceno, geraniol e citral (SIMÕES; SPITZER, 2000), sendo o composto citral o de maior quantidade e que confere ao óleo essencial propriedades medicinais conhecidas pela cultura popular, entre essas, a atividade antimicrobiana (ADUKWU; ALLEN; PHILLIPS, 2012).

Chá-de-Pedestre (*Lippia rotundifolia*), conhecida popularmente como alecrim-do-campo, camará, erva-cidreira-do-campo, falsa-melissa, dentre outros, é um arbusto da família Verbenaceae que ocorre na América do Sul, América Central e algumas regiões da África (LEITÃO *et al.*, 2008). Trata-se de um vegetal, pouco estudado, embora promissor, com atividade farmacológicas em estudo (RESENDE *et al.*, 2015). Souza *et al.* (2015) comprovaram sua atividade antimicrobiana frente a cepas bacterianas isoladas do intestino de aves.

Embora na literatura sejam encontrados estudos com o uso de plantas medicinais como melhoradores de desempenho para aves, esses são escassos quanto à toxicidade ao organismo animal. Diante dessa constatação, percebe-se a importância de avaliar parâmetros sanguíneos e possíveis lesões no fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo óleos essenciais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os parâmetros sanguíneos e histopatológica hepática de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais microencapsulados.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o perfil hematológico, função hepática e análises histopatológicas do fígado de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais microencapsulados extraídos de capim-Limão (*Cymbopogon flexuosus*).
- Avaliar o perfil hematológico, função hepática e análises histopatológicas do fígado de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais microencapsulados extraídos de Chá-de-Pedestre (*Lippia rotundifolia*).
- Comparar os resultados obtidos entre grupos de aves alimentados com dieta contendo os dois óleos essenciais e com dietas controles contendo melhoradores de desempenho convencionais e sem melhoradores de desempenho.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Antibióticos melhoradores de desempenho

Os antibióticos melhoradores de desempenho possuem a finalidade de controlar o desenvolvimento dos microrganismos patogênicos no intestino dos animais inibindo ou eliminando, o que resulta na diminuição da competição por alimento, promovendo assim o equilíbrio da população microbiana, permitindo menor exposição às toxinas microbianas, além de evitar que o animal desvie energia para o metabolismo no sistema imunitário em função de doenças. Atuam diretamente sobre a parede intestinal, com melhoria na digestão e absorção de nutrientes, e conseqüentemente contribuem para o aumento do ganho de peso, melhorando a conversão alimentar e redução da mortalidade (ZEN *et al.*, 2015; DHAMA, *et al.*, 2015; KRISHAN; NARANG, 2014).

Os antibióticos melhoradores de desempenho permitidos pela legislação para aves são: avilamicina, bacitracina metileno disalicilato, bacitracina de zinco, colistina, clorexidina, enramicina, flavomicina, halquinol, lincomicina, tilosina e virginamicina. Os aditivos anticoccidianos: amprólio, amprólioassociado com etopabato, clopidol associado com metilbonzoquato, diclazuril, lasalocida, maduramicina amônio, maduramicina+nicarbazina, monensina, narasina, narasina associado com nicarbazina, nicarbazina, robendina, salinomicina, semduramicina+nicarbazina (BRASIL, 2015).

Os antibióticos melhoradores de desempenho que são proibidos pela legislação Brasileira para aves são: avoparcina, arsenicais e antimoniais cloranfenicol e nitrofuranos, hormônios como aditivos para aves, olaquinox, carbadox, violeta genciana, espiramicina e eritromicina, anfenicóis, tetraciclina, beta lactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas (BRASIL, 2013).

Segundo a Animal Health Institute (2009), a proibição dos antibióticos melhoradores de desempenho na Dinamarca resultou em aumento no aparecimento de doenças, na taxa de mortalidade e conseqüente aumento do uso de antibióticos para fins terapêuticos. A aplicação de forma correta e em níveis adequados pode viabilizar o uso dos antimicrobianos, minimizando assim os prejuízos e aumentando os lucros do produtor, sem causar riscos à saúde humana.

Um dos maiores desafios na área de produção animal tem sido a busca por alternativas para reduzir o uso de antimicrobianos como melhoradores de desempenho em rações (DIBNER; RICHARDS, 2005), tendo como marco o fato de uma das maiores importadoras de carne de frango do Brasil, ter proibido o uso de melhoradores de desempenho na alimentação animal (COUNCIL, 2003).

3.2 Compostos fitogênicos como melhoradores de desempenho animal

Os aditivos fitogênicos são utilizados na nutrição animal e consistem em produtos compostos por óleos essenciais e extratos vegetais, que são utilizados nas rações com o objetivo de melhorar o desempenho animal e substituir os antimicrobianos convencionais (CARLOS *et al.*, 2013, DHAMA, *et al.* 2015).

Pesquisas com extratos vegetais revelaram que os mesmos, quando são adicionados nas rações de frangos, podem ser eficientes em melhorar a utilização dos nutrientes. São também conhecidos por fitobióticos ou nutracêuticos que compreendem uma ampla variedade de ervas, especiarias, e produtos derivados tais como os óleos essenciais, óleo-resinas e extratos (WINDISCH; SCHEDULE; PLITZNER, 2008), que adicionados à dieta dos animais são capazes de aumentar a produtividade, melhorar a qualidade da ração e as condições de higiene, além de melhorar a qualidade dos alimentos derivados dos mesmos (MARCINČAK; POLPEKA; ZDOLEC, 2011).

Os óleos essenciais são compostos aromáticos obtidos a partir de material vegetal (flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutos e raízes), compreendendo a maior parte dos compostos ativos das plantas. Eles são particularmente associados com características essências de plantas e perfumes, definidos como "ervas e especiarias". Além de seu uso tradicional, uma série de efeitos benéficos tem sido relatada, entre estes estão a sua influência benéfica sobre o metabolismo de lipídeos, a capacidade de estimular a digestão, propriedades antimicrobianas e antioxidantes, e potencial anti-inflamatório (BRENES; ROURA, 2010).

Estudos estão em desenvolvimento com objetivo de esclarecer a ação exata dos óleos essenciais sobre o processo digestivo. Basmacioğlu Malayoğlu *et al.* (2010) citam que poderia ocorrer uma ação conjunta sobre o processo digestivo incluindo melhoria na palatabilidade e aumento do consumo de ração, estimulação da secreção de enzimas digestivas e da função endócrina, aumento das motilidades gástrica e intestinal, ação sobre a microbiota patogênica estimulação da resposta imune, atividade anti-inflamatória e antioxidante

Os óleos essenciais e seus compostos têm boa aplicação como aditivos, embora os resultados não sejam unânimes. De uma maneira geral, atuam promovendo seleção para os microrganismos benéficos do intestino (TRAESEL *et al.*, 2011). Muitas espécies tem ação melhor ou no mínimo igual aos antimicrobianos no desempenho e rendimento de carcaça, estando entre ele o orégano (*Origanum vulgare*) (RIZZO; MENTEN; RACANICCI, 2010; TRAESEL *et al.*, 2011; MATHLOUTHI *et al.*, 2012); o pimentão vermelho (*Capsicum annum*) (BARRETO; MENTEN; RACANICCI, 2008); o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (TRAESEL *et al.*, 2011; BONA *et al.*, 2012); o alho (*Allium sativum*) (KIRKPINAR; UNLU; OZDEMIR, 2014); e o cravo (*Syzygium aromaticum*) (BARRETO; MENTEN; RACANICCI, 2008; RIZZO; MENTEN; RACANICCI, 2010; AGOSTINI *et al.*, 2012; MEHR *et al.*, 2014).

3.3 Capim Limão (*Cymbopogon flexuosus*)

O capim limão (*Cymbopogon flexuosus*) (FIGURA 1) é um vegetal da Família Poaceae é originário da Ásia e geralmente recebe o nome popular de capim limão da Índia Oriental e por muitas vezes é chamada de capim cidreira (MAY *et al.*, 2008). É uma planta perene, ereta, cespitosa, de 0,6 a 3m de altura, com caule rizomatoso muito ramificado, escuro, curto e palhoso, tem crescimento intenso no inverno nas condições climáticas do Brasil (LORENZI; MATOS, 2002; CASTRO; RAMOS, 2003).

Figura 1 - Exemplar de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*)



Fonte: www.google.com.br/searchq=capim+limão&source

Da planta são obtidos os óleos essenciais mirceno, geraniol e citral (SIMÕES *et al.*, 2000). Sendo o citral em maior quantidade e também que confere ao óleo essencial diversas propriedades medicinais conhecidas há anos e aproveitadas na cultura popular, entre elas a atividade antimicrobiana (ADUKWU; ALLEN; PHILLIPS, 2012). O citral também confere ao *C. flexuosus* aroma semelhante ao do limão, devido ao seu aroma o capim-limão é utilizado há muitos anos na culinária asiática, além de ser mundialmente conhecida como planta medicinal (GANJEWALA, 2009).

ADUKWU *et al.* (2016) observaram efeito antimicrobiano de *C. flexuosus* sobre linhagens bacterianas multirresistentes à droga. Óleo essencial de capim limão é considerado como alimentos seguro e aprovado como substância aromatizante e como aditivo alimentar para consumo humano (FAO, 2016).

Azevedo *et al.* (2017) avaliaram o efeito do óleo essencial de capim-limão como aditivo na dieta sobre o desempenho, rendimento de carcaça e peso de órgãos de frangos de corte, concluindo que os testes não foram suficientes para a indicação do seu uso como aditivo na alimentação de frangos de corte, em substituição aos antimicrobianos.

3.4 Óleo essencial de Chá-de-Pedestre (*Lippia rotundifolia*)

Espécie da família *Verbenaceae*, conhecida popularmente como Chá-de-pedestre, Alecrim-do-campo, Camará, Erva-cidreira-do-campo, Falsa-melissa, dentre outros (FIGURA 2). Possui porte arbustivo, de dois a quatro metros de altura, ramos claros, longos e quebradiços, que saem da base da planta e flores róseas-lilases que surgem na axila das folhas. A planta exala um odor forte e enjoativo que lembra o odor da melissa. As partes mais utilizadas são as folhas e partes florais. É uma planta nativa do Brasil encontrada em jardins e utilizada como fitoterápico na medicina popular (SOUZA *et al.*, 2015). Segundo Salimena (2002), pode-se encontrar facilmente essa espécie vegetal na Cadeia do Espinhaço (Minas Gerais) e na Chapada Diamantina (Bahia), juntamente com outras espécies do gênero. O Chá-de-pedestre (*Lippia rotundifolia*) é uma planta endêmica do Cerrado brasileiro, pouco estudada, embora promissora.

Figura 2 - Exemplar de Chá-de-pedestre (*Lippia rotundifolia*)



Fonte: https://c1.staticflickr.com/8/7442/8988938039_bd71fbb32d_b.jpg

O componente em maior quantidade do óleo essencial é o β -mirceno (GOMIDE *et al.*, 2013).

Souza *et al.* (2015) comprovaram sua atividade antimicrobiana e Gomide *et al.* (2013) comprovaram sua atividade frente a células cancerígenas, apesar de não ser considerado citotóxico pelo Instituto Nacional de Câncer dos EUA.

Em estudo para avaliar o efeito do óleo essencial de *L. rotundifolia* como aditivo na dieta sobre o desempenho, rendimento de carcaça e peso de órgãos de frangos de corte, Azevedo *et al.*, (2017) concluíram que os testes utilizados não foram suficientes para a indicação de sua utilização como aditivo na alimentação de frangos de corte, em substituição aos antimicrobianos. Não foram encontrados na literatura pesquisada outros estudos deste óleo em alimentação animal.

3.5 Ação dos óleos essenciais no trato gastrointestinal.

A atividade antimicrobiana e antiparasitária dos óleos essenciais é descrita na literatura, sendo a atividade antibacteriana do óleo de capim limão e chá de pedestre, objetos deste trabalho descritos por Azevedo *et al.* (2016) e Souza *et al.*, (2015) ao estudarem cepas isoladas de intestino de aves. Estudos de atividade sobre a microbiota intestinal de outras espécies também são descritas (THAPA *et al.*, 2012).

O efeito modulador de óleos essenciais sobre a microbiota intestinal de aves é variável com os óleos e patógenos em estudo. Redução em bactérias patogênicas do intestino e aumento de na presença *Lactobacillus* foram descritos por Giannenas *et al.*(2014) ao avaliarem efeito de mistura de óleos essenciais contendo thymol e eugenol e por Rahimi *et al.* (2011) ao avaliarem efeito de *Thymus vulgaris*, *Echinacea purpúrea* e *Allium sativum*. Outros autores relataram m efeito do óleo de *Thymus vulgaris* com redução de *Lactobacilos* da microbiota do intestino (PLACHA *et al.* 2014). KIRKPINAR, UNLU; OZDEMIR, (2011) observaram redução na contagem de *Clostridium* mas nenhum efeito foi observado sobre microbiota aeróbia e *Lactobacillus* ao avaliarem o efeito do óleo essencial de orégano e de alho. Ainda são necessários estudos que indiquem uma composição com óleos essenciais que tenham melhor efeito sobre microbita intestinal (ZENG *et al.*, 2015).

A possível irritabilidade dos óleos essenciais na mucosa intestinal foi amplamente discutida por Zeng *et al.* (2015), que ponderaram sobre a necessidade de um equilíbrio entre os efeitos benéficos dos óleos na redução da microbiota patogênica que permitiria uma regeneração mais efetiva das criptas e vilosidades e conseqüentemente melhoria na capacidade absorptiva das células. Karangiya *et al.* (2016) citaram que aumento na largura e comprimento das vilosidades representa um aumento na área de superfície absorptiva do intestino e, portanto, uma maior capacidade de absorção, resultando em maior aumento de peso corporal. Estes autores também inferem que a digestibilidade do nutriente é maior quando se tem maior profundidade de criptas, pois as células são responsáveis pela secreção de eletrólitos que aumentam a secreção de água no lúmen intestinal com a finalidade de digestão.

Estudos desenvolvidos por Karangiya *et al.* (2016) observaram melhor conversão alimentar e ganho de peso em aves que receberam óleos de gengibre e de alho na dieta, bem como uma maior capacidade absorptiva do intestino, sendo mais expressiva no grupo que recebeu óleo de gengibre com maior largura e comprimento das vilosidades e profundidade das criptas. AMAD *et al.* (2013) indicaram que adição de mistura de óleos essenciais contendo timol e especiarias na dieta, melhorou a conversão alimentar de frangos de corte e observaram maior relação vilo: cripta em frangos alimentados com esses fitogênicos. SILVA *et al.* (2010) verificaram maior altura de vilos no jejuno de frangos que receberam 0,4% do óleo essencial de aroeira vermelha e concluíram que este efeito poderia estar associado a atividade antiinflamatória e antimicrobiana do óleo e em estudo. Bona *et al.* (2012) citaram que os resultados de efeito sobre a morfometria intestinal pode estar associada aos compostos presentes em cada óleo.

Basmacioglu Malayoglu *et al.* (2010) estudaram efeito do óleo de orégano adicionado à dieta sobre a fisiologia intestinal de aves de corte e observaram que aves do grupo que receberam óleo na dieta apresentaram maior atividade da quimotripsina no pâncreas e na digesta intestinal, bem como a digestibilidade da proteína bruta quando comparada a um grupo com dieta sem óleo. Lee *et al* (2003) também observaram efeito sobre as enzimas do trato digestivo em aves que receberam na dieta um produto comercial contendo timol. A atividade da amilase intestinal na digesta foi maior no grupo de aves que receberam o produto comercial comparado a outras dietas.

Outro efeito importante dos óleos essenciais é capacidade antioxidante em órgãos que poderão auxiliar na resposta produtiva do animal. Habibi; Sadeghi e Karimi (2014), ao avaliarem efeito de óleos essenciais de gengibre em frangos de corte sob situação de estresse, concluíram que os grupo de aves que recebeu óleo essencial na dieta apresentou maior atividade da enzima superóxido dismutase no fígado e decréscimo na concentração de malonaldeído quando comparado ao grupo controle que recebeu dieta sem o óleo. Os autores concluíram que óleos essenciais poderão ser uma substituição adequada para antioxidantes sintéticos em dietas de frangos de corte. Basmacioglu Malayoglu *et al.* (2010) observaram que o efeito antioxidante do óleo de orégano pode ter contribuído com ganho de peso das aves na fase inicial ao avaliarem grupos de aves de corte recebendo dietas com e sem o óleo.

Estudos que avaliassem a ação dos óleos essenciais de *C. flexuosus* e *L. rotundifolia* sobre intestino de aves ou de outras espécies não foram encontrados na literatura pesquisada.

3.6 Perfil hematológico em aves

A ausência de informações sobre valores sanguíneos de referência para aves limitam o uso de parâmetros laboratoriais para avaliação clínica de aves selvagens ou de produção. No entanto, estes parâmetros laboratoriais são úteis para avaliar aspectos relacionados à saúde animal, incluindo das aves (SMITH *et al.*, 2007).

A composição celular do sistema imunológico das aves é dividida em três classes sanguíneas: os eritrócitos ou glóbulos vermelhos, leucócitos ou glóbulos brancos e trombócitos (DIBNER; RICHARDS, 2005). O hemograma consta de uma série de provas que possibilitam detectar fenômenos fisiopatológicos importantes nos animais e anormalidades que se refletem no sangue e divide-se em eritrograma e leucograma (NORIEGA, 2000). Os números de células sanguíneas encontrados na literatura podem variar entre as aves de diferentes espécies, idade, sexo, influências hormonais e ambientais (CAMPBELL, 2012 b).

A literatura pesquisada não apresenta dados referentes à avaliação de parâmetros hematológicos em frangos recebendo os óleos de *Cymbopogon flexuosus* e de *Lippia rotundifolia*. A utilização de óleo essencial de *Thymus vulgaris* na ração de aves não interferiu nos parâmetros hematológicos das aves em alguns estudos realizados (ALI, 2014; SALEH *et al.*, 2014; TOGHYANI *et al.*, 2010).

Variações entre os parâmetros para leucograma são descritas na literatura em aves de corte saudáveis. A linhagem, as condições de confinamento, condições ambientais, entre outros fatores como sexo, idade e raça (BORSA, 2009; CARDOSO; TESSARI, 2003; COLÓN, 2015; TALEBI *et al.*, 2005; TRÎNCA, *et al.*, 2012) podem interferir nos resultados. Campbell (2012 b) cita que existe variação marcante entre dados de hemograma de aves na mesma espécie.

HASHEMIPOUR *et al.* (2016), observaram redução nos níveis de colesterol em aves recebendo dieta contendo mistura de timol e carvacrol. Toghyani *et al.* (2010), observaram elevação nos níveis de colesterol utilizando óleo de tomilho. O efeito hipocolesterolêmico dos óleos essenciais para aves ainda demanda maiores estudos, pois a presença ou ausência do efeito hipocolesterolêmico de componentes da dieta dependem de outros fatores como idade, raça, entre outros (HASHEMIPOUR *et al.*, 2016).

As médias normais de proteína total, albumina, globulina e relação albumina/globulina séricas foram encontradas para frangos de corte alimentados com mistura de óleos essenciais de orégano, sálvia, alecrim e pimenta (TRAESEL *et al.*, 2011). A relação adequada entre albumina e globulina dentro de parâmetros normais, não indicando estímulo imune específico das aves foram encontrados por Traesel *et al.* (2011).

3.7 Atividade de enzimas hepáticas e lesões hepáticas em aves

Nas aves, o dano hepático pode apresentar-se por diversas causas. Muitas doenças e infecções causadas por bactérias e vírus podem lesionar este órgão (cólera aviária, salmonelose, colibacilose, tuberculose, hepatite com corpos de inclusão, Doença de Marek). Doenças metabólicas como a lipídose hepática ou síndrome do fígado gorduroso, causado por erros na alimentação (balanço energético positivo) ou por a presença de micotoxinas na ração (CRESPO; SHIVAPRASAD, 2008; BERCHIERI JUNIOR; MACARI, 2009) também são descritas em aves.

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima da mitocôndria e o citosol da maioria das células (hepáticas, musculares, renais, neuronais, eritrócitos, esplênicas, intestinais e pulmonares). Também pode ter localização plasmática e por isso não é uma enzima específica, mas sua determinação pode usar-se como índice de alteração de células hepáticas e musculares em conjunto com outros indicadores. É um bom marcador de dano tissular, mas não deve considerar-se como diagnóstico específico de nenhuma doença. A atividade da AST é considerada como um marcador sensível, mas não específico de distúrbio hepatocelular na maioria das aves, e deve ser mensurada juntamente com uma enzima músculo-específica, como a creatinaquinase (CK), para que seja possível diferenciar dano hepático ou muscular (SCHMIDT; REAVIL; PHALEN, 2003)

A atividade da alanina aminotransferase (ALT) possui valor limitado como teste para avaliar distúrbios hepatocelulares em aves. Como em equinos e ruminantes, ALT é encontrada no citosol do hepatócito, no músculo e em outros tecidos (LUMEIJ, 1997; CAMPBELL, 2012a).

Tradicionalmente, elevações da atividade da ALT estão relacionadas à lesão hepática ou muscular (HARR, 2002; GRUNKEMEYER, 2010). A atividade da ALT nas aves pode estar elevada em decorrência de dano em múltiplos tecidos, dificultando a sua interpretação (JAENSCH, 2000; GRUNKEMEYER, 2010).

A GGT (gama glutamiltransferase) é enzima de membrana associada a vários tecidos. Atividade sérica ou plasmática elevada ocorre por meio do aumento de produção e de liberação pelo tecido hepatobiliar (CAMPBELL, 2012a). O aumento dos níveis da GGT sanguínea indica lesão hepática ativa, porém, níveis normais não garantem o funcionamento normal do fígado (FUDGE, 2000).

Existe uma discussão na literatura abordando a atividade anticolesterolêmica dos óleos essenciais, sendo esta relacionada com a composição dos óleos em estudo. Costa *et al.* (2010) e Adeneye e Agbaje (2007) observaram níveis mais baixos de colesterol em grupo de aves que receberam dieta contendo óleo de capim limão. Andrade *et al.* (2014), estudando toxicidade de outro vegetal do gênero *Lippia* sp. não observaram alterações nos parâmetros hepáticos, incluindo os níveis de colesterol. Já Basmacioglu Malayoglu *et al.* (2010), observaram aumento nos níveis de colesterol em aves recebendo dieta com óleo de orégano.

Lesões hepáticas indicativas de toxicidade por óleos essenciais em aves não foram encontradas na literatura consultada.

Adukwu *et al.* (2016) avaliaram a citotoxicidade de *Cymbopogon flexuosus*, porém em fibroblastos humanos e na dosagem em estudo, tanto o óleo quanto o citral apresentaram redução na viabilidade das células, indicando a necessidade de estudos posteriores. Estes mesmos autores citam que estudos prévios já descreveram fatores de toxicidade em células de mamíferos.

Costa *et al.* (2010) ao avaliarem toxicidade aguda de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em ratos, não observaram alterações hepáticas relacionadas à lesões degenerativas ou proliferativas indicativas de toxicidade, bem como não observaram efeito de genotoxicidade. Estes autores citaram que a falta de testes controlados que avaliem a toxicidade do óleo essencial de capim limão, dificulta a conclusão de pesquisas.

Ao avaliarem a toxicidade do óleo essencial de *Lippia origanoides*, Andrade *et al.* (2014) não observaram alterações histopatológicas nos órgãos, incluindo fígado, em testes de avaliação de toxicidade aguda e subcrônica em ratos recebendo 120mg/kg por via oral.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal de Minas Gerais, protocolo nº 277/2015 (ANEXO 1).

4.1 Animais e dietas experimentais

Os procedimentos foram realizados de acordo com Azevedo *et al.* (2017). Foram utilizados 150 pintos da linhagem Cobb 500®, machos e fêmeas com um dia de idade alojados em 30 gaiolas cujas dimensões eram 60 cm x 35 cm x 100 cm de largura, altura e comprimento, respectivamente, com bebedouros e comedouros. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2 x 5, sendo 2 o número de sexos e 5 o número de tratamentos, com três repetições de 10 animais. Os tratamentos experimentais foram: a) Controle negativo - ração formulada conforme níveis nutricionais recomendados por Rostagno *et al.* (2011) (APÊNDICE I), sem antimicrobiano e anticoccidiano; b) Controle positivo – ração suplementada com 10 ppm de Enramicina e 42 ppm de Salinomicina; c) óleo essencial de Capim Limão – ração com 120mg de óleo essencial para cada kg de peso dos animais; d) óleo essencial de Chá-de-Pedestre – ração com 120mg de óleo essencial para cada kg de peso dos animais; e) “associação” – ração com a mistura dos dois óleos essenciais. A dose utilizada foi definida a partir da atividade antimicrobiana apresentada pelos óleos em testes *in vitro* preliminares de Souza *et al.* (2015) e Azevedo *et al.*, (2016), bem como a identificação dos óleos.

O planejamento nutricional foi dividido em três fases: inicial de 1 a 21 dias, crescimento de 22 a 33 dias e final de 34 a 42 dias. As rações foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental, na forma farelada. Os óleos essenciais em estudo foram convertidos em microcápsulas pelo método de coacervação com polímeros comestíveis. Na análise de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas foi possível identificar os compostos e a estabilidade na ração após a microencapsulação. Os compostos majoritários do óleo essencial de capim limão foram o citral e o mirceno, e no óleo essencial de Chá-de-Pedestre, o limoneno e mirtenal (AZEVEDO *et al.*, 2017).

4.2 Parâmetros hematológicos e bioquímica sérica

Aos 43 dias de vida foram selecionadas duas aves de cada parcela experimental, das quais foi obtido o sangue para hemograma e análises de bioquímica sérica, totalizando 30 aves. As aves foram separadas por sexo, sendo 15 machos e 15 fêmeas, após jejum de oito horas o sangue da veia ulnar cutânea foi coletado segundo recomendações da Organização Pan-Americana de Saúde/Organização Mundial de Saúde (OPAS/OMS) (MANUAL..., 2010) e transferido para tubos de coleta apropriados para realização de hemograma e bioquímica sérica. As análises referentes ao perfil hematológico foram realizadas por Citrometria de Fluxo,

Triglicerídeos (Tg) por Colorimetria de Ponto Final, Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT) por Técnica Cinética U.V, Gama glutamil transferase (GGT) por Método Cinético Colorimétrico e glicose (GL) por Metodologia Cinética.

4.3 Parâmetros histopatológicos

As aves foram eutanasiadas com 40 mg/kg de peso corporal de tipopental sódico, endovenoso (MINISTÉRIO..., 2013). O fígado foi coletado para avaliação histopatológica, sendo os mesmos pesados e depositados em frascos com formalina a 10% e submetidos a três lavagens com álcool 70% em dias consecutivos. Realizaram-se as análises com coloração Hematoxilina e eosina (HE), no laboratório de Patologia Molecular da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Para avaliação das lesões histopatológica definiram-se escores conforme quadro 1.

Quadro 1 - Classificação de escore para Lipidose, Fibroplasia e Hiperplasia de Ductos Biliares

Escore	Lipidose	Fibroplasia	Hiperplasia de Ductos Biliares
0,5	H.L.M.D	F.P.M.M	P.D.M.M
1,0	H.L.M.M	F.P.M.D	P.D.B.D
2,0	H.L.M.O	F.P.M.O	P.D.B.O
3,0	-	F.P.M.I	-

Nota: Lipidose: H.L.M.D: Hepatócitos com micro e macrovacuolos, bem delimitados, compatível com lipidose multifocal discreta, H.L.M.M: Hepatócitos com micro e macrovacuolos, bem delimitados, compatível com lipidose difusa mínima, H.L.M.O: Hepatócitos com micro e macrovacuolos, bem delimitados, compatível com lipidose multifocal moderada; Fibroplasia: F.P.M.M: Fibroplasia periportal multifocal mínima, F.P.M.D: Fibroplasia periportal multifocal discreta, F.P.M.O: Fibroplasia periportal multifocal moderada, F.P.M.I: Fibroplasia predominantemente periportal multifocal intensa; Proliferação: P.D.M.M: Proliferação de ductos biliares, multifocal mínima, P.D.B.D: Proliferação de ductos biliares, multifocal discreto, P.D.M.O: Proliferação de ductos biliares, multifocal moderado
Fonte: Elaborado pela autora, 2017.

4.4 Análise estatística

Para análise estatística de provas hematológicas foi utilizado o programa R Core Team (2013) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para as análises histopatológicas, foi realizada estatística não paramétrica adotando o teste de Kruskal-Wallis para comparar as médias de cada grupo, utilizando o programa GraphPad Prism version 5.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período em que as aves estiveram alojadas, não foram observadas alterações clínicas ou comportamentais. Os índices de produtividade do lote ficaram dentro dos parâmetros considerados normais para a linhagem de frangos de corte comercial COBB (AZEVEDO *et al.*, 2017).

Os valores médios obtidos no hemograma e leucograma estão apresentados na tabela 1 e definiu-se, neste estudo, por utilizar os resultados obtidos com análises das aves do grupo controle positivo e padrão de referência para valores normais para espécie.

Os parâmetros relacionados aos Eritrócitos (Eri), Hemoglobina (Hg), Hematócrito (Ht), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), apresentaram-se dentro dos intervalos considerados normais quando comparados ao grupo controle positivo e não houve diferença significativa entre os tratamentos para qualquer destes parâmetros analisados.

Os heterófilos (Hf) (TABELA 2) apresentaram maiores valores médios no controle negativo, quando comparados ao controle positivo. Como as aves se mantiveram saudáveis durante o período de tratamento, a heterofilia observada pode ser indicativo de estresse, que pode ter ocorrido no momento da coleta (CAMPBELL, 2012b; SAMOUR, 2013).

Na literatura pesquisada não são apresentados dados referentes à avaliação de parâmetros hematológicos em frangos recebendo os óleos de *Cymbopogon flexuosus* e de *Lippia rotundifolia*. Estudos realizados com *Thymus vulgaris* na ração corroboram com os resultados obtidos neste trabalho, visto que também não houve interferência nos parâmetros hematológicos analisados (TOGHYANI *et al.*, 2010, SALEH *et al.*, 2014, ALI *et al.*, 2014).

A possível ação no sistema imunológico das aves com a utilização dos óleos essenciais, objetos deste trabalho, não foi encontrada na literatura consultada. A atividade imunomoduladora foi descrita para outros óleos essenciais (BRENES; ROURA, 2010; DHAMA *et al.*, 2015) em outros modelos de estudos. Em estudos com aves, Traesel *et al.* (2011) observaram que os óleos de orégano, sálvia e alecrim, levaram detecção de níveis mais baixos das frações proteicas do soro das aves. Os autores concluíram que, os baixos níveis observados poderiam estar relacionados com uma menor exposição a patógenos ambientais e comensais ocorridas devido à ação antimicrobiana dos óleos. Por outro lado, outros autores evidenciaram a possível atividade dos óleos essenciais como estimulantes do sistema imune com uso de óleo de tomilho (TOGHYANI *et al.*, 2010; TOGHYANI *et al.*, 2011; SALEH *et al.*, 2014;) e de ginseng (SALEH *et al.*, 2014) usados na dieta de frangos de corte, os quais promoveram estímulo na imunidade inata, com aumento significativo na atividade fagocítica de heterófilos e na resposta humoral, com produção de anticorpos contra vírus vacinais específicos. Estes autores não observaram efeito do tomilho sobre os valores de heterofilos, porém os resultados quanto aos linfócitos, monócitos, bem como na relação heterófilos/linfócitos foram semelhantes aos obtidos no trabalho aqui apresentado.

As estimativas da atividade enzimática de AST e ALT não foram significativas em qualquer dos tratamentos analisados ($P < 0,05$) (TABELA 3), porém, os níveis de AST nas aves apresentaram diferença significativa entre os sexos ($P > 0,05$). Níveis altos de AST podem estar relacionados com injúria na membrana dos hepatócitos e alterações nas vias biliares, porém é necessário avaliar com cautela, pois esta pode ser produzida em outros tecidos musculares (TENNANT; CENTER, 2008; GRUNKEMEYER, 2010).

Os valores médios observados para a enzima GGT no grupo que recebeu ração contendo óleo de capim limão foram superiores aos observados nos demais tratamentos ($P < 0,05$) (TABELA 3). GGT é utilizada como marcador primário para doenças hepatobiliares e pode ser indicativa de colelitíases intra-hepáticas ou extra-hepática (TENNANT; CENTER, 2008; GRUNKEMEYER, 2010).

O efeito de óleos essenciais sobre as funções hepáticas de aves é variável. Os óleos de canela, orégano, pimentão, tomilho (TOGHYANI *et al.*, 2011) e ginseng (CATALÁN *et al.*, 2013) não influenciaram nos componentes bioquímicos hepáticos. Porém, nas condições deste trabalho, os resultados relacionados a GGT (TABELA 4) podem indicar a presença de danos hepáticos nas aves, podendo estes estarem associados a fibroplasia hepática e hiperplasia de ductos biliares dos grupo que recebeu a ração acrescida dos óleos essenciais (GRÁFICO 1). Estes dados podem ser associados aos relatos quanto aos parâmetros sanguíneos encontrados para GGT no tratamento com óleo de capim limão (TABELA 3), indicando que lesões hepáticas possam ter sido induzidas pelo óleo, na dose utilizada neste estudo.

A literatura descreve associação de lesões hepáticas com alterações de enzimas GGT e injúrias hepáticas, pois os resultados de perfil bioquímico podem indicar perda da capacidade de síntese do fígado ou danos hepatocelulares, os quais refletem na capacidade do fígado exercer o metabolismo correto de lipídeos, proteínas e carboidratos (GRUNKEMEYER, 2010), como pode ter ocorrido neste experimento. Neste estudo não foi observada associação entre alterações no perfil hematológico, com alterações hepáticas e Grunkemeyer, (2010), cita que estas alterações podem ocorrer de forma inespecífica.

Os níveis de triglicérides foram semelhantes entre os tratamentos (TABELA 3), resultado semelhante ao encontrado com uso de óleos essenciais de cravo (MEHR *et al.*, 2014) de tomilho (TOGHYANI *et al.*, 2010) e de alho e orégano (KIRKPINAR *et al.*, 2011) na ração de frangos de corte, indicando possível equilíbrio entre a absorção intestinal, síntese e secreção nos hepatócitos e absorção no tecido adiposo conforme descrito por Lumeij (2008).

Não houve diferença nos valores médios de proteína total, albumina, globulina e relação albumina/globulina séricas observados entre os tratamentos e o controle positivo ($P < 0,05$) (TABELA 3). No entanto, ao observar o efeito do sexo sobre a albumina esta foi significativa. A relação adequada entre albumina e globulina é reforçada pelo leucograma (TABELA 3), dentro de parâmetros normais, não indicando estímulo imune específico das aves (TRAESEL *et al.*, 2011) nos tratamentos com óleo essencial e com melhorador de desempenho.

Tabela 1 - Eritrograma de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais de capim limão e chá de pedestre

Tratamento ¹	Sexo ³	Eri	Hg	Ht	VCM	HCM	CHCM
		Milhões/mm ³	g%	%	fl	pg	%
Controle Negativo	M	3,11 ± 0,32	10,72 ± 1,13	28,59 ± 3,22	91,66 ± 3,28	34,66 ± 2,27	37,80 ± 1,95
	F	3,15 ± 0,57	10,03 ± 1,26	28,15 ± 4,95	90,00 ± 4,05	32,98 ± 3,60	36,80 ± 3,70
		3,52 ± 0,82	10,38 ± 0,96	30,80 ± 7,31	87,40b ± 3,21	30,32b ± 4,72	34,71 ± 5,30
		3,05 ± 0,36	11,00 ± 1,54	28,28 ± 4,45	92,32a ± 5,37	36,03a ± 2,82	38,85 ± 2,36
		3,08 ± 0,23	9,90 ± 1,75	28,03 ± 2,58	90,99a ± 2,34	33,73a ± 0,93	37,07 ± 0,86
		2,95 ± 0,27	10,18 ± 1,07	26,68 ± 2,14	90,50a ± 1,76	35,02a ± 0,67	38,71 ± 1,21
		3,06 ± 0,20	10,41 ± 0,66	28,01 ± 1,66	92,95a ± 3,17	34,00a ± 1,12	37,18 ± 1,12
Controle Positivo	M	3,26 ± 0,60	10,40 ± 0,81	29,13 ± 4,92	89,53 ± 2,36	32,34 ± 3,58	36,09 ± 3,53
	F	3,78 ± 1,05	10,36 ± 1,28	32,46 ± 10,06	85,26 ± 2,57	28,31 ± 5,54	33,33 ± 7,22
Capim Limão	M	3,28 ± 0,24	12,23 ± 1,15	31,56 ± 3,68	95,93 ± 4,31	37,22 ± 1,02	38,83 ± 1,70
	F	2,82 ± 0,33	9,76 ± 0,15	25,00 ± 1,92	88,71 ± 3,82	34,84 ± 3,82	38,86 ± 3,33
Chá -de -Pedestre	M	3,04 ± 0,28	10,30 ± 0,86	27,43 ± 2,77	90,11 ± 2,37	33,87 ± 1,35	37,58 ± 0,87
	F	3,12 ± 0,22	9,50 ± 2,55	28,73 ± 2,76	91,88 ± 2,39	33,59 ± 0,55	36,56 ± 0,57
Associação ²	M	2,92 ± 0,10	9,96 ± 0,92	26,43 ± 1,01	90,51 ± 1,36	35,15 ± 0,90	38,85 ± 1,59
	F	2,98 ± 0,42	10,40 ± 1,37	26,93 ± 3,20	90,48 ± 2,43	34,88 ± 0,51	38,56 ± 1,03
Associação	M	3,08 ± 0,26	10,70 ± 0,81	28,40 ± 1,85	92,21 ± 1,96	34,72 ± 0,69	37,65 ± 0,59
	F	3,04 ± 0,19	10,13 ± 0,45	27,63 ± 1,73	93,70 ± 4,43	33,29 ± 1,06	36,71 ± 1,46
Fonte de variação		Valor p					
TR		0,26	0,61	0,56	0,03	0,01	0,14
S		0,83	0,13	0,77	0,14	0,08	0,36
TR x S		0,49	0,32	0,34	0,06	0,67	0,93

Eri: Eritrócitos; Hg: Hemoglobina; Ht :Hematócrito; VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular média; CHCM: Concentração Hemoglobina Corpuscular média; fl: Micrometro cúbico; pg: Picograma. ¹ Tratamento: [Ração controle negativo: sem aditivos; Ração controle positivo: com antimicrobiano e anticoccidiano; Ração controle + óleo essencial de *C. flexuosus*; Ração controle + óleo essencial de *L. rotundifolia*]; ² Associação: Ração controle + óleo essencial de *C. flexuosus* e *L. rotundifolia*. ³Sexo: [M: macho; F: fêmea]. ^{a,b}- Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Tabela 2 - Leucograma de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais de capim limão e chá de pedestre

Tratamento ¹	Sexo ³	Lt	Hf	Hf/Lf	Eo	Lf	Mn
----- mm ³ -----							
Controle Negativo	M	28,89 ± 3,31	7,46±2,74	0,10 ± 0,03	11,26 ± 6,35	72,40 ± 7,07	8,86 ± 4,20
	F	27,58 ± 4,23	8,00±5,43	0,12 ± 0,12	12,73 ± 6,39	69,46 ± 10,80	9,80 ± 4,66
		30,39 ± 4,94	12,16b±7,52	0,20 ± 0,17	11,83 ± 7,33	65,66 ± 12,51	10,33 ± 6,68
Controle Positivo		26,74 ± 4,41	7,50a±2,88	0,10 ± 0,04	12,50 ± 7,44	74,33 ± 10,09	5,66 ± 2,58
Capim Limão		28,30 ± 3,80	7,16a±1,16	0,09 ± 0,01	10,83 ± 5,03	73,50 ± 3,14	8,50 ± 2,42
Chá –de -Pedestre		28,56 ± 3,31	6,16a±0,98	0,08 ± 0,00	12,33 ± 8,91	69,50 ± 10,67	12,00 ± 4,47
Associação ²		27,19 ± 2,09	5,66a±2,25	0,08 ± 0,03	12,50 ± 3,78	71,66 ± 6,31	10,16 ± 2,63
Controle Negativo	M	27,69 ± 3,51	9,66±2,88	0,13 ± 0,03	9,33 ± 9,23	74,00 ± 4,58	7,00 ± 3,60
	F	33,09 ± 5,18	14,66±10,69	0,28 ± 0,23	14,33 ± 5,50	57,33 ± 12,74	13,66 ± 8,08
Controle Positivo	M	29,86 ± 3,82	10,00±1,00	0,14 ± 0,02	14,33 ± 10,96	70,00 ± 13,89	5,66 ± 4,04
	F	23,62 ± 2,18	5,00±1,00	0,06 ± 0,01	10,66 ± 2,88	78,66 ± 2,30	5,66 ± 0,57
Capim Limão	M	28,59±5,87	6,66±1,15	0,09 ± 0,01	11,66 ± 5,03	72,33 ± 2,88	9,33 ± 3,21
	F	28,01±1,17	7,66±1,15	0,10 ± 0,01	10,00 ± 6,00	74,66 ± 3,51	7,66 ± 1,52
Chá-de-Pedestre	M	29,75±2,55	6,33±1,15	0,08 ± 0,00	9,00 ± 4,00	73,00 ± 8,88	11,66 ± 6,35
	F	27,37±4,08	6,00±1,00	0,09±0,00	15,66 ± 12,22	66,00 ± 13,00	12,33 ± 3,05
Associação	M	28,55 ± 1,98	4,66±3,05	0,06 ± 0,04	12,00 ± 2,64	72,66 ± 6,02	10,66 ± 2,51
	F	25,83 ± 1,23	6,66±0,57	0,09 ± 0,01	13,00 ± 5,29	70,66 ± 7,76	9,66 ± 3,21
Fator de variação		Valor p					
TR		0,43	0,04	0,06	0,99	0,44	0,13
S		0,32	0,69	0,44	0,57	0,36	0,54
TR x S		0,10	0,25	0,17	0,69	0,15	0,45

Lt: Leucócitos; Hf: Heterófilo; Eo: Eosinófilo; Lf: Linfócito; Mn: Monócito. mm³: milímetro cúbico. 1 Tratamento: [Ração controle negativo: sem aditivos; Ração controle positivo: com antimicrobiano e anticoccidiano; Ração controle + óleo essencial de *C. flexuosus*; Ração controle + óleo essencial de *L. rotundifolia*]; 2 Associação: Ração controle + óleo essencial de *C. flexuosus* e *L. rotundifolia*. 3Sexo: [M: macho; F: fêmea].a,b- Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Tabela 3 - Atividade de enzimas hepáticas e bioquímica sérica de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais de capim limão e chá de pedestre

Tratamento ¹	Sexo ³	AST	ALT	GGT	Tg	PT	Al	Gb	RAG	CT	GL
		-----U./L-----			--- mg/dL ---		-----g/L-----			----- mg/dL -----	
	M	297,40b ± 96,48	9,40 ± 0,82	22,66 ± 6,22	19,06 ± 9,76	3,20 ± 0,62	1,68a ± 0,15	1,51 ± 0,70	1,56 ± 1,30	115,40 ± 18,82	206,20 ± 34,14
	F	400,86a ± 178,23	10,20 ± 1,47	20,46 ± 4,27	17,00 ± 12,07	2,82 ± 0,39	1,53b ± 0,25	1,28 ± 0,37	1,31 ± 0,53	105,26 ± 18,42	191,13 ± 27,99
Controle Negativo		257,66 ± 9,22	9,00 ± 1,09	21,33b ± 3,66	14,33 ± 8,52	2,97 ± 0,31	1,44 ± 0,24	1,53 ± 0,26	0,97 ± 0,25	96,33 ± 12,17	195,16 ± 46,63
Controle Positivo		335,83 ± 200,98	10,00 ± 1,54	17,50b ± 2,81	25,00 ± 16,58	2,79 ± 0,62	1,62 ± 0,15	1,17 ± 0,54	1,88 ± 1,54	127,66 ± 14,12	219,33 ± 13,45
Capim Limão		301,00 ± 95,34	9,50 ± 0,83	27,16a ± 5,56	25,33 ± 5,78	2,83 ± 0,50	1,64 ± 0,19	1,19 ± 0,43	1,53 ± 0,64	105,33 ± 19,28	198,83 ± 20,19
Chá-de-Pedestre		431,00 ± 174,94	10,00 ± 0,89	20,66b ± 5,46	15,83 ± 6,24	3,26 ± 0,51	1,58 ± 0,23	1,67 ± 0,54	1,07 ± 0,50	110,00 ± 14,99	175,66 ± 34,10
Associação ²		420,16 ± 154,18	10,50 ± 1,51	21,16b ± 5,11	9,66 ± 5,75	3,18 ± 0,72	1,74 ± 0,21	1,43 ± 0,88	1,74 ± 1,31	112,33 ± 22,83	204,33 ± 25,90
Controle Negativo	M	256,66 ± 12,66	8,66 ± 1,15	22,33 ± 4,50	14,33 ± 12,50	3,08 ± 0,32	1,60 ± 0,06	1,48 ± 0,26	1,10 ± 0,16	106,33 ± 7,63	235,00a ± 19,00
Controle Negativo	F	258,66 ± 7,02	9,33 ± 1,15	20,33 ± 3,21	14,33 ± 5,03	2,87 ± 0,34	1,29 ± 0,27	1,58 ± 0,30	0,84 ± 0,30	86,33 ± 3,51	155,33b ± 17,78
Controle Positivo	M	263,33 ± 32,33	9,33 ± 0,57	19,00 ± 3,46	27,00 ± 9,16	2,93 ± 0,87	1,74 ± 0,07	1,19 ± 0,80	2,42 ± 2,24	129,00 ± 21,70	216,00b ± 16,64
Controle Positivo	F	408,33 ± 290,12	10,66 ± 2,08	16,00 ± 1,00	23,00 ± 24,33	2,65 ± 0,37	1,50 ± 0,10	1,14 ± 0,27	1,35 ± 0,27	126,33 ± 4,72	222,66a ± 11,93
Capim Limão	M	266,00 ± 9,64	9,33 ± 0,57	29,66 ± 7,50	25,33 ± 8,62	3,22 ± 0,36	1,68 ± 0,10	1,54 ± 0,27	1,10 ± 0,14	114,33 ± 20,55	202,33a ± 28,21
Capim Limão	F	336,00 ± 137,69	9,66 ± 1,15	24,66 ± 1,52	25,33 ± 3,05	2,44 ± 0,21	1,59 ± 0,28	0,84 ± 0,19	1,97 ± 0,67	96,33 ± 16,25	195,33b ± 13,65
Chá-de-Pedestre	M	284,66 ± 28,53	9,66 ± 0,57	21,33 ± 7,37	15,66 ± 7,37	3,50 ± 0,57	1,69 ± 0,20	1,81 ± 0,75	1,12 ± 0,72	114,00 ± 10,53	164,33b ± 50,16
Chá-de-Pedestre	F	577,33 ± 107,05	10,33 ± 1,15	20,00 ± 4,35	16,00 ± 6,55	3,02 ± 0,40	1,48 ± 0,25	1,53 ± 0,34	1,01 ± 0,31	106,00 ± 20,07	187,00a ± 2,64
Associação ²	M	416,33 ± 189,43	10,00 ± 1,00	21,00 ± 5,29	13,00 ± 6,24	3,26 ± 1,05	1,71 ± 0,30	1,54 ± 1,33	2,07 ± 1,95	113,33 ± 31,72	213,33a ± 9,71
Associação ²	F	424,00 ± 153,29	11,00 ± 2,00	21,33 ± 6,11	6,33 ± 3,21	3,10 ± 0,44	1,77 ± 0,14	1,33 ± 0,36	1,40 ± 0,42	111,33 ± 17,15	195,33b ± 36,61
Fonte de variação		Valor p									
TR		0,14	0,32	0,04	0,06	0,51	0,19	0,55	0,45	0,06	0,07
S		0,04	0,09	0,23	0,59	0,07	0,04	0,30	0,51	0,12	0,10
TR X S		0,32	0,96	0,90	0,96	0,86	0,55	0,82	0,55	0,84	0,01

Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), Gama glutamil transpeptidase (GGT), Triglicerídeos (Tg), Proteína Total(PT), Albumina (Al), Globulina(Gb), Relação Albumina Globulina(RAG), Colesterol Total (CT) e Glicose (GL). *1- Ração controle negativo, sem aditivos. 2- Ração controle positivo, com antimicrobiano e anticoccidiano. 3- Ração controle + óleo essencial de *C. flexuosus*. 4-Ração controle + óleo essencial de *L. rotundifolia*. 5- Ração controle + "associação" entre os óleos essenciais de *C. flexuosus* e *L. rotundifolia*. **a, b**- Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, são significativamente diferentes entre si ($P<0,05$).

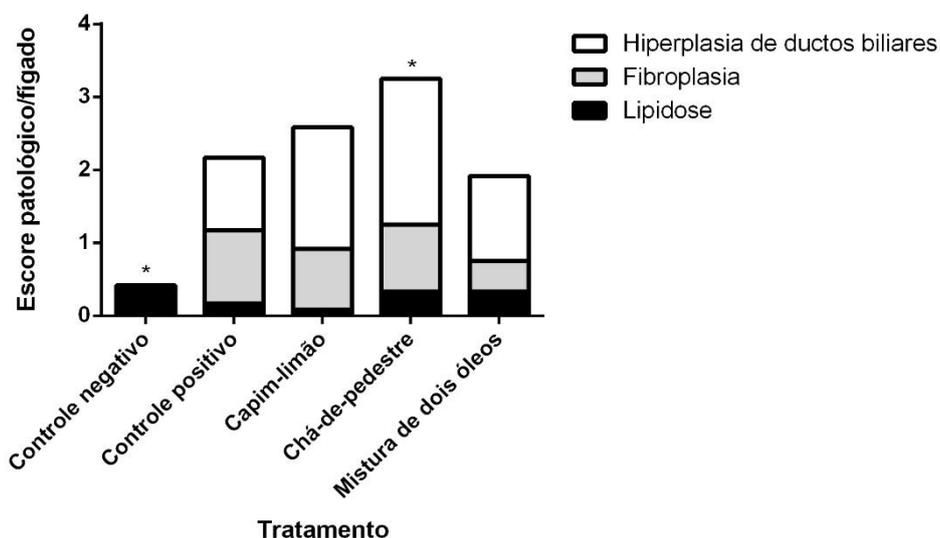
Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

As médias de colesterol sérico foram similares ($P>0,05$) entre os tratamentos e entre os sexos, indicando normalidade no metabolismo hepático de lipídeos. A literatura indica resultados do poder hipocolesterolêmico de ratos ao ingerirem óleos essenciais na dieta contendo capim limão (COSTA *et al.*, 2010; ADENEYE; AGBAJE, 2007 e Andrade *et al.*, 2014), estudaram outro vegetal do gênero *Lippia* e não observaram alteração no nível de colesterol de ratos recebendo este óleo na dieta.

Os valores médios de glicose observados foram similares entre os tratamentos ($P>0,05$) (TABELA 3), entretanto estes foram mais altos para os machos ($p<0,05$). Schmidt *et al.* (2007) citaram que Períodos prolongados de jejum em aves saudáveis (até oito dias) não diminuem a utilização de glicose, como nos mamíferos. Na literatura consultada (TOLLBA *et al.*, 2010; TRAESEL *et al.*, 2011; TOGHYANI *et al.*, 2010, TOGHYANI *et al.*, 2011, MEHR *et al.*, 2014, SALEH *et al.*, 2014;) não foi descrito alteração nos níveis de glicemia das aves com uso de dietas contendo óleos essenciais.

Em relação às análises histopatológicas (GRÁFICO 1), lesões foram observadas em todos os tratamentos em diferentes escores. Discreta lipidose foi observada nas aves do controle negativo. Os demais grupos receberam escores que variaram de 2 a 3 para lipidose, hiperplasia de ductos biliares e fibroplasia. O grupo de aves que recebeu óleo de chá-de-pedestre na dieta apresentou maiores escores de lesões em comparação aos demais grupos ($p<0,05$). Não se observou efeito do sexo sobre o escore das lesões (GRÁFICO 2).

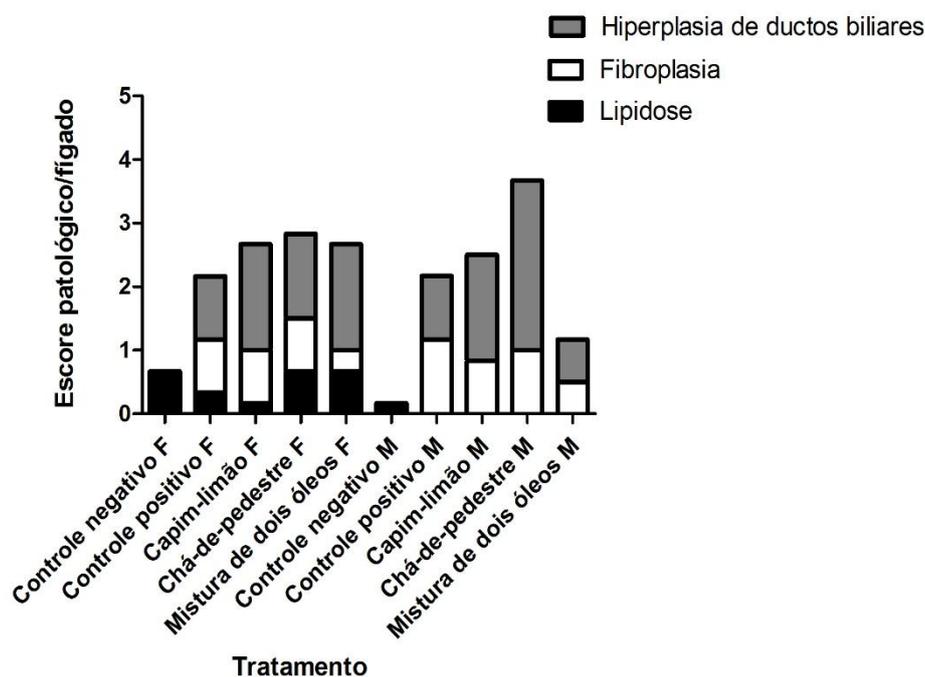
Gráfico 1 - Escore patológico do fígado de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais



Nota: Controle negativo: Ração controle negativo, sem aditivos. Controle positivo: Ração controle positivo, com antimicrobiano e anticoccidiano. Capim limão: Ração controle + óleo essencial de *C. flexuosus*. Chá-de-pedestre: Ração controle + óleo essencial de *L. rotundifolia*. Mistura dos dois óleos: Ração controle + “associação” entre os óleos essenciais de *C. flexuosus* e *L. rotundifolia*. Teste Kruskal-Wallis * indica ($p < 0,0162$).

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

Gráfico 2 - Influência do sexo sobre o escore patológico do fígado de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais



Nota: Controle negativo: Ração controle negativo, sem aditivos. Controle positivo: Ração controle positivo, com antimicrobiano e anticoccidiano. Capim limão: Ração controle + óleo essencial de *C. flexuosus*. Chá-de-pedestre: Ração controle + óleo essencial de *L. rotundifolia*. Mistura dos dois óleos: Ração controle + “associação” entre os óleos essenciais de *C. flexuosus* e *L. rotundifolia*. F: Fêmea; M: Macho
 Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

A Lipidose observada neste estudo deve ser analisada com cautela, não sendo atribuída a uma possível ação dos óleos essenciais, já que também foi observada nas aves que não receberam dietas com óleos essenciais. No entanto, em outros estudos foi possível observar diferença nos níveis de lipidose em função da origem dos óleos utilizados na formulação das dietas de aves (TUFARELLI, 2015), ainda que essa alteração seja um quadro reversível dependendo da extensão (BLEVINS *et al.*, 2010). Schimidt; Reavill; Phalen (2003) citaram que a lipidose é frequente em aves e pode estar associada com a dieta, danos de toxicidade ou no metabolismo de enzimas hepáticas, porém neste trabalho, somente o tratamento contendo óleo de capim limão apresentou níveis de GGT mais altos que os demais tratamentos.

A ocorrência de lesões caracterizadas por hiperplasia de ductos biliares (FIGURA 3A) e fibroplasia (FIGURA 3B) foram encontrados em todos os tratamentos, exceto controle negativo, sendo estes escores maiores no grupo de aves que recebeu ração contendo óleo de chá de pedestre.

Em aves, hiperplasia de ductos biliares e fibroplasia são classificadas como lesões inespecíficas e estão associadas com alterações no metabolismo hepático (SCHIMIDT;

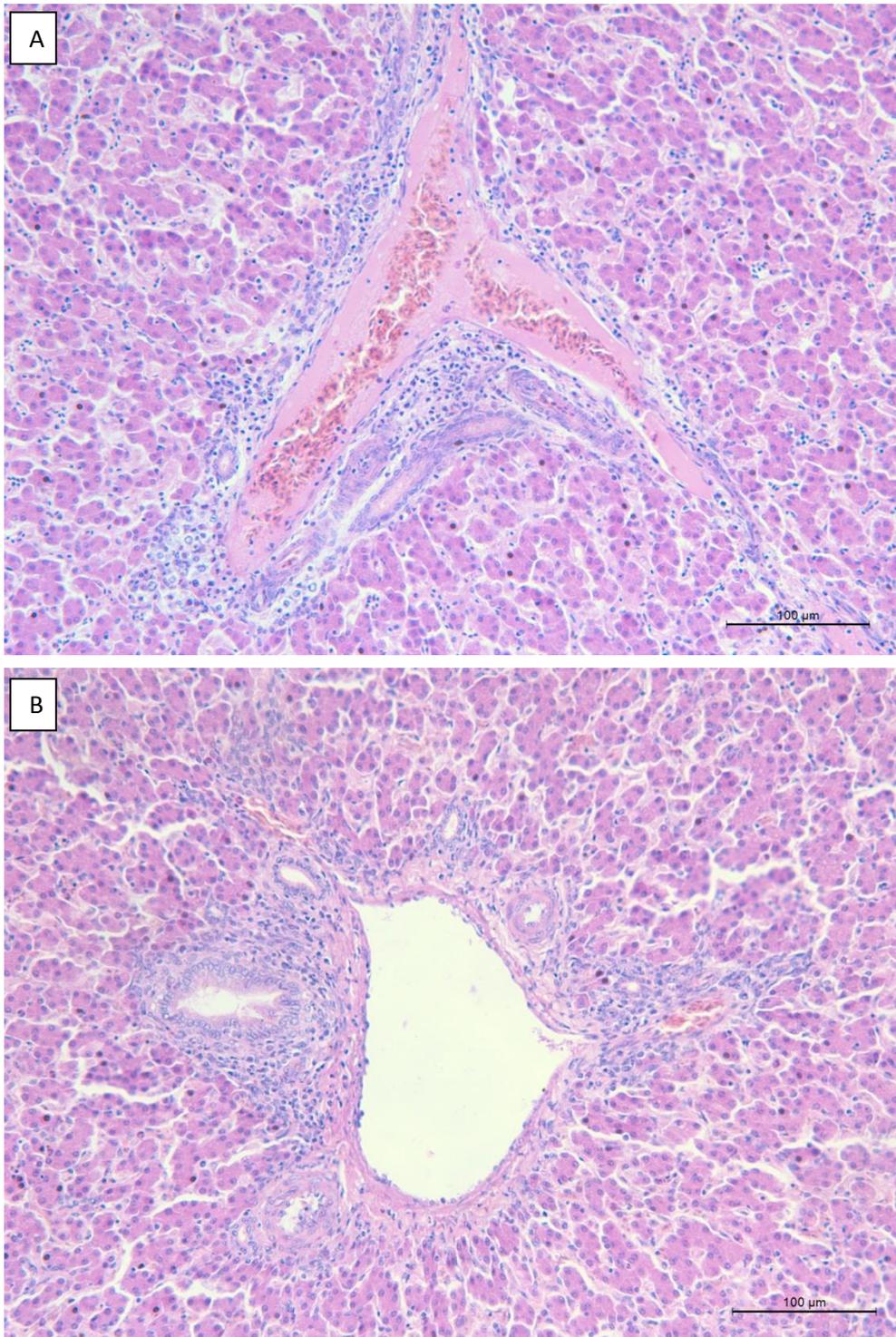
REAVILL; PHALEN, 2003) e ocorrem como processo pós lesão de parênquima hepático, de origens variadas, e na maioria das vezes, não são observadas manifestações clínicas anteriores à morte, dificultando a identificação exata das causas (HOCHLEITHNER *et al.*, 2013). Entretanto, lesões desta natureza foram descritas em trabalhos em que se avaliou a ação de produtos tóxicos no fígado de aves (SCHIMIDT; REAVILL; PHALEN 2003).

Estudos que avaliaram a toxicidade de *Cymbopogon flexuosus* e *Lippia rotundifolia* não foram encontrados na literatura consultada. Estudos realizados com outras plantas do mesmo gênero não relataram toxicidade como o descrito por Costa *et al.* (2011) ao analisarem toxicidade e genotoxicidade oral de *Cymbopogon citratus* na dose de 3500 mg/kpv em camundongos e por Andrade *et al.* (2014) descreveram que *Lippia origanoides* na dosagem de 120µL/mL não induziu toxicidade oral aguda e nem subcrônica em ratos. Ambos estudos avaliaram por parâmetros hematológicos, bioquímica sérica e análises histopatológicas dos órgãos estudados.

Apesar de serem utilizados na medicina humana e animal, existem poucas informações sobre a absorção de compostos dos óleos essenciais após a administração oral (KOHLERT *et al.*, 2000). Quanto à toxicidade, as informações são raras, mas está confirmada a ação tóxica de óleos essenciais sobre as células eucarióticas, causando efeitos colaterais variáveis, porém, Raut e Karuppayil (2014) destacaram como seguro o uso de óleos essenciais em baixas concentrações, porém, estudos que avaliem as concentrações tóxicas para cada óleo são necessárias.

A escassez de referência padrão para parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos para frangos de corte dificulta a interpretação dos resultados, e os resultados aqui obtidos com poderá contribuir com pesquisas futuras considerando que são parâmetros fisiológicos essenciais para estudos em produção de aves.

Figura 3 - Lesões observadas no fígado de aves alimentadas com dieta suplementada com óleo essencial de chá-de-pedestre (*L. roduntifolia*)



Nota: A-Hiperplasia de ductos biliares e infiltrado inflamatório. B-Fibroplasia, hiperplasia de ductos biliares e infiltrado inflamatório. Coloração HE, 100 µm

Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.

6 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de capim limão e chá-de-pedestre microencapsulados não promoveram alterações nos parâmetros hematológicos das aves, quando comparados ao grupo de aves controle.

Observou-se alteração nos níveis de atividade enzimática da gamaglutamil transferase (GGT) nas aves alimentadas com ração contendo óleo essencial de capim limão.

As aves alimentadas com ração contendo óleos essenciais de capim limão e chá-de-pedestre apresentaram lesões hepáticas caracterizadas por lipidose, hiperplasia de ductos biliares e fibroplasia e escores maiores de lesões observados nas aves alimentadas com ração contendo óleo de chá de pedestre.

7 REFERÊNCIAS

- ADENEYE, A.A., AGBAJE, E.O Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. nn rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n.4, p. 440-444 2007
- ADUKWU, E.C., *et al.* Antimicrobial activity, cytotoxicity and chemical analysis of lemongrass essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) and pure citral. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.100, n.22, p. p 9619–9627, 2016. Disponível em : <10.1007/s00253-016-7807-y >Acesso em 17Jul.
- ADUKWU, E.C.; ALLEN, S.C.H.; PHILLIPS, C.A. The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v.113, n.5, p.1217-1227, 2012. Disponível em : <10.1111/j.1365-2672.2012.05418.x>. Acesso em 14 abr. 2017.
- AGOSTINI, P. S.; *et al.* Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology and morphology in broiler chicken. **Livestock Science**, v. 14, n. 1-03, p. 113-118, 2012. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.04.010>>. Acesso em 14 abr. 2017.
- ALI, A. H. H. Productive performance and immune response of broiler chicks as affected by dietary thyme leaves powder. **Egyptian Poultry Science Journal**, v. 34, 71-84, 2014. Disponível em: <<http://www.epsaegypt.com/wp-content/uploads/2014/04/05-1488.pdf>>. Acesso em 14 abr. 2017.
- AMAD, A. A.; WENDLER, K. R.; ZENTEK, J. Effects of a phytogenic feed additive on growth performance, selected blood criteria and jejunal morphology in broiler chickens. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 7, p. 549-554, 2013. Disponível em: <10.9755/ejfa.v25i7.12364> Acesso em 14 abr. 2017.
- ANDRADE, A. V. *et al.* Antimicrobial activity and acute and chronic toxicity of the essential oil of *Lippia organoides*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n.12, p.1153-1161, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2014001200002>>. Acesso em 16 Jul. 2017.
- ANIMAL HEALTH INSTITUTE- AHI. Political bans on antibiotics are Counterproductive. **European test case: increased animal disease, mixed human health benefit**, 2009. Disponível em:<<http://www.ahi.org/Files/Antibiotics%20in%20Livestock/H.%20Danish%20experience.pdf>>. Acesso em 14 abr. 2017.
- AZEVEDO, I. L. *et al.* Eficácia in vitro do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus* steud. wats.) frente a bactérias entéricas de origem avícola. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.10, n.1, p.25-31, 2016. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/avb/article/view/29718/31908>>. Acesso em 14 Jul. 2017.
- AZEVEDO, I. L. *et al.* Use of *Lippia rotundifolia* and *Cymbopogon flexuosus* essential oils, individually or in combination, in broiler diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n.1, p.13-19, 2017. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-92902017000100003>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

BARRETO, M.S.R.; MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M. Plant extracts used as growth promoters in broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.10, n.2, p.109-115, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2008000200006>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

BASMACIOĞLU MALAYOĞLU, H. *et al.* Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat–soybean meal diets. **British Poultry Science**, v. 51, n. 1, p. 67-80, 2010. Disponível em: <10.1080/00071660903573702>. Acesso em 16 Jul. 2017.

BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI M. **Doença das aves**. 1. ed. Campinas: FACTA,800p, 2009.

BLEVINS, S. *et al.* Effects of silymarin on gossypol toxicosis in divergent lines of chickens. **Poultry Science**, v.89, n.9, p. 1878-1886, 2010. Disponível em: < 10.3382/ps.2010-00768> Acesso e 16 Jul. 2017.

BONA, T. D. M. M.; PICKLER, L.; MIGLINO, L. B. *et al.* Óleo essencial de oregano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de Salmonella, Eimeria e Clostridium em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.5, p.411-418, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000500009>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

BORSA, *et al.* Valores hematológicos em frangos. **Colloquium Agrariae**, v.5, n.1, p.25-31, 2009. Disponível em <http://revistas.unoeste.br/revistas/ojs/index.php/ca/article/view/331/509>. Acesso em 14 Jul. 2017.

BRASIL. **Aditivos melhoradores de desempenho e anticoccidídeos registrados na CPAA/DFIP**. Atualizado em 25 de abril de 2015. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/alimentacao/aditivos/aditivos-autorizados>>. Acesso em 13 abr. 2017.

BRASIL. **Substâncias proibidas na alimentação animal com a finalidade de aditivo e legislação correspondente**. Atualizado em 06 de maio de 2013. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/animal/alimentacao/aditivos/aditivos-proibidos autorizados](http://www.agricultura.gov.br/animal/alimentacao/aditivos/aditivos-proibidos_autorizados)>. Acesso 13 abr. 2017.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Feed Science and Technology**, v. 158, n.1-2, p. 1–14, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007>>. Acesso 13 Jul. 2017.

CAMPBELL, T. W. Clinical chemistry of Birds. In: THRALL, M.A. *et al.* (Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2 nd Ed. Ames, Yowa: Willey-Blackwell, 2012a. Cap. 35.

CAMPBELL, T. W. **Hematology of. Birds**. In: THRALL, M.A. *et al.* (Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2 nd Ed. Ames, Yowa: Willey-Blackwell, 2012 b. Cap. 19.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, p.419-424, 2003. Disponível em <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V70_4/cardoso.pdf>. Acesso em 13 Jul. 2017.

CARLOS, T. C. F.; ARAÚJO, C. S. S.; ARAÚJO, L. F. Extratos vegetais e digestibilidade de nutrientes em frangos de corte. **Revista Produção Animal-Avicultura**, v. 69, p. 25-25, 2013. Disponível em <http://www.avisite.com.br/revista/pdfs/revista_edicao69.pdf>. Acesso em 13 Jul. 2017.

CASTRO L. O.; RAMOS R. L. D. **Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais**. Boletim Técnico da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO). Secretaria da Ciência e Tecnologia. Rio Grande do Sul. n.11, 28 p. 2003. Disponível em <<http://www.ppmac.org/sites/default/files/gramineas.pdf>>. Acesso em 13 Jul. 2017.

CATALÁN V., *et al.* Perfil metabólico, hematológico e comportamental de poedeiras suplementadas com *Panax ginseng*. **Archivos de Zootecnia**, v. 62, n. 237, p. 89-100, 2013. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922013000100010>>. Acesso em 13 Jul. 2017.

COLÓN, B.L.A. Parámetros hematológicos en pollos de engorde criados en una granja de producción cerrada en el trópico bajo. **Revista Medicina Veterinaria**, v. 29, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.19052/mv.3444>>. Acesso em 13 Jul. 2017.

COSTA, C. A. *et al.* Cholesterol reduction and lack of genotoxic or toxic effects in mice after repeated 21-day oral intake of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. **Food and Chemical Toxicology**, v.49, n.9, p. 2268-2272, 2011. Disponível em: <[10.1016/j.fct.2011.06.025](http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.025)>. Acesso em 13 Jul. 2017.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. **Council Regulation (EC) No.355/2003 on the authorization of the additive avilamycin in feedingstuffs**. Disponível em <<http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/eur35905.pdf>> Acesso em 16 Jul. 2017.

CRESPO, R.; SHIVAPRASAD, H.L. Developmental, Metabolic, and Other Noninfectious Disorders, In: SWAYNE, D. E. (Ed). **Diseases of Poultry**. Chichester, UK. John Wiley & Sons, Ltd, 2013. Ch. 30. Disponível em <[10.1002/9781119421481.ch30](http://dx.doi.org/10.1002/9781119421481.ch30)>. Acesso em 16 Jul. 2017.

DHAMA, K, *et al.* Multiplique beneficial applications and modes of action of herbs in poultry health and production-A review. **International Journal of Pharmacology**, v.11, n.3, p. 152-176, 2015. Disponível em <[10.3923/ijp.2015.152.176](http://dx.doi.org/10.3923/ijp.2015.152.176)>. Acesso em 16 Jul. 2017.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action. **Poultry Science**, v.84, n.4, p. 634-643, 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 21CFR182.20. **Food for human consumption**. Title 21, Vol 3. PART 182 -- SUBSTANCES GENERALLY RECOGNIZED AS SAFE. 2016. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=182.20>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

FUDGE, A. M. **Avian Liver and Gastrointestinal Testing**. In: FUDGE, A.M. Laboratory Medicine – Avian and Exotic Pets; W.B. Saunders, p.47-55, 2000.

GANJEWALA, D. *Cymbopogon* essential oils: Chemical compositions and bioactivities. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, v. 3, p. 56-65, 2009. Disponível em: <<http://www.theoil Dropper.com/wp-content/uploads/2014/07/lemongrass-study.pdf> >. Acesso em 16 Jul. 2017.

GIANNENAS, I., *et al.* Dietary supplementation of benzoic acid and essential oil compounds affects buffering capacity of the feeds, performance of turkey poults and their antioxidant status, pH in the digestive tract, intestinal microbiota and morphology. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.27, n.2, p. 225–236, 2014. Disponível em: <10.5713/ajas.2013.13376>. Acesso em 16 Jul. 2017.

GOMIDE, M. S. The effect of the essential oils from five diferente Lippia spicies on the viability of tumor cell lines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n.6, p.895-902, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2013000600006>. Acesso em 16 Jul. 2017.

GRUNKEMEYER, V. L. Advanced diagnostic approaches and current management of avian hepatic disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 13, n. 3, p. 413–427, 2010. Disponível em: <10.1016/j.cvex.2010.05.005>. Acesso em 16 Jul. 2017.

HABIBI R; SADEGHI G; KARIMI A. Effect of different concentrations of ginger root powder and its essential oil on growth performance, serum metabolites and antioxidant status in broiler chicks under heat stress. **British Poultry Science**, v. 55, n.2, p. 228–237, 2014. Disponível em: <10.1080/00071668.2014.887830>. Acesso em 16 Jul. 2017.

HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 31, n. 3, p. 140–151, 2002. Disponível em: <10.1111/j.1939-165X.2002.tb00295.x> Acesso em 16 Jul. 2017.

HASHEMIPOUR, H., *et al.* Effect of feed supplementation with a thymol plus carvacrol mixture, in combination or not with an NSP-degrading enzyme, on productive and physiological parameters of broilers fed on wheat-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.211, p. 117-131, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.023>. Acesso em 16 Jul. 2017.

HOCHLEITHNER , M., *et al.* **Evaluating and treating the liver**. In: Clinical Avian Medicine. 2013. Chapter 15. Disponível em: <http://avianmedicine.net/content/uploads/2013/08/15_evaluating_liver.pdf>. Acesso em 16 Jul. 2017.

JAENSCH, S. Diagnosis of avian hepatic disease. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 9, n. 3, p. 126-135, 2000.

JAMROZ, D., *et al.* Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. **British poultry Science**, v 46, n. 4, p. 485–493, 2005. Disponível em: <10.1080/00071660500191056>. Acesso em 16 Jul. 2017.

JANG, I. S.; *et al.* Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 134, p. 304-315, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.009>. Acesso em 16 Jul. 2017.

KARANGIYA, *et al.* Effect of dietary supplementation of garlic, ginger and their combination on feed intake, growth performance and economics in commercial broilers. **Veterinary World**, v.9, n.3, p. 245–250, 2016. Disponível em: < 10.14202/vetworld.2016.245-250>. Acesso em 16 Jul. 2017.

KIRKPINAR, F.; UNLU, H. B.; OZDEMIR, G. Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. **Livestock Science**, v. 137, p. 219–225, 2014. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.11.010>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

KOHLERT, C. *et al.* Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. **Planta Médica**, v.66, n.1, p.495-505, 2000. Disponível em: < 10.1055/s-2000-8616>. Acesso em 16 Jul. 2017.

KRISHAN, G.; NARANG, A. Use of essential oils in poultry nutrition: **A new approach Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v.1, n.4, p. 156-162, 2014. Disponível em: 10.5455/javar.2014.a36>. Acesso em 16 Jul. 2017.

LEE K. W.; EVERTS H.; KAPPERT H. J.; FREHNER M.; LOSA R.; BEYNEN A. C. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 44, n. 3, p. 450–457, 2003. Disponível em: < 10.1080/0007166031000085508>. Acesso em 16 Jul. 2017.

LEITAO, S. G. *et al.* Analysis of the chemical composition of the essential oils extracted from *Lippia lacunosa* Mart. & Schauer and *Lippia rotundifolia* Cham. (Verbenaceae) by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1388-1393, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532008000700023>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

LORENZI H.; MATOS F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: Nativas e exóticas**. Nova odessa, instituição Plantarium, p.252, 2002.

LUMEIJ, J.T. Avian Clinical Biochemistry. In: KANEKO, J; HARVEY, J; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed., p. 83-872, 2008. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00030-1>. Acesso em 16 Jul. 2017.

MANUAL VETERINÁRIO DE COLHEITA E ENVIO DE AMOSTRAS. **Aves**. OPAS/OMS, 2010. Cap. 3. Disponível em <<http://ww3.panaftosa.org.br/Comp/MAPA/ManuaisTecnicos/Colheita/SerManTec13-cap3-aves.pdf>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

MARCINČAK, S.; POPELKA, P.; ZDOLEC, N. Effect of supplementation of phytogetic feed additives on performance parameters and meat quality of broiler chickens. **Slovenian Veterinary Research**, v. 48, n. 1. p. 27-34, 2011. Disponível em <https://www.researchgate.net/publication/234541557_Effect_of_suplementation_of_phytogetic_feed_additives_on_performance_parameters_and_meat_quality_of_broiler_chickens> Acesso em 16 Jul. 2017.

MATHLOUTHI, N.; BOUZAIENNE, T.; OUESLATI, I.; RECOQUILLAY, F. HAMDY, M. URDACI, M.; BERGAOUI, R. Use of rosemary, oregano, and a commercial blend of essential oils in broiler chickens: In vitro antimicrobial activities and effects on growth performance. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 3, p. 813-823, 2012. Disponível em < 10.2527/jas.2010-3646>. Acesso em 16 Jul. 2017.

MAY A; *et al.* Influência do intervalo entre cortes sobre a produção de biomassa de duas espécies de capim limão. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n.3, p.379-382, 2008.. Disponível em < <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362008000300017>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

MEHR, M.A.; *et al.* Supplementation of clove essential oils and probiotic to the broiler's diet on performance, 320 carcass traits and blood components. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.4, n.1, p. 117-122, 2014. Disponível em <http://www.sid.ir/en/VEWSSID/J_pdf/1034220140103.pdf>. Acesso em 16 Jul. 2017.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. **Resolução Normativa nº 13, de 20.09.2013**, publicada no D.O.U. de 26/09/2013, Seção I, pág. 5. Anexo Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – Concea. Disponível em < http://www.mct.gov.br/upd_blob/0228/228432.pdf> Acesso em 16 Jul. 2017.

NORIEGA, M.L.V.C. **Apuntes de hematología aviar: material didático para curso de hematología aviária**. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de producción animal: aves, 2000. 70p.

PLACHA I, *et al.* Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. **British Poultry Science**, v.55, p. 105-114–14.2014. Disponível em <10.1080/00071668.2013.873772>. Acesso em 16 Jul. 2017.

PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Stimulatory influence of select spices on bile secretion in rats. **Nutrition Research**, v. 20, n.10, p. 1493-1503, 2000. Disponível em < [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)80030-5](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(00)80030-5)>. Acesso em 16 Jul. 2017.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

RAHIMI, *et al.* Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.13, p.527–39, 2011. Disponível em http://jast.modares.ac.ir/article_4723_0846ff9cc5a467c764011655c37949ff.pdf>. Acesso em 16 Jul. 2017.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v.1, n.62, p. 250–264, 2014. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

RESENDE, *et al.* In vitro propagation and acclimatization of *Lippia rotundifolia*, an endemic species of Brazilian Campos Rupestres. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 582-589, 2015. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20150041>>. Acesso em 16 Jul. 2017.

RIZZO, P. V. MENTEN, J.F.M; RACANICCI, A.M.C. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 4, p. 801-807, 2010.

ROSTAGNO, H. S.; *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 3º Ed., p. 252, 2011.

SALEH, N., *et al.* The Effects of Dietary Supplementation of Different Levels of Thyme (*Thymus vulgaris*) and Ginger (*Zingiber officinale*) Essential Oils on Performance, Hematological, Biochemical and Immunological Parameters of Broiler Chickens. **Global Veterinária**, v.12, n.6, p. 736-744, 2014. Disponível em <10.5829/idosi.gv.2014.12.06.83189>. Acesso em 16 Jul. 2017.

SALIMENA, F. R. G. Novos sinônimos e tipificação em *Lippia* sect. *Rhodolippia* (Verbenaceae). **Hickenia**, v. 3, p.145-149. 2002.

SAMOUR, J. **Diagnostic Value of Hematology** . Clinical avian medicine. Disponível em <http://avianmedicine.net/content/uploads/2013/08/22_hematology.pdf>. Acesso em 16 Jul. 2017.

SANTOS, E.C.; *et al.* Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho, características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. **Ciência Agrotécnica de Lavras**, v. 29, n. 1, p. 223-231, 2005.

SCHMIDT, E. M. S.; *et al.* Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola. **Archives of Veterinary Science**.v.12, n.3, p.9-20, 2007.

SCHMIDT, R. E.; REAVIL, D. R. I., PHALEN, N. D. Liver. In: SCHMIDT, R. E.; REAVIL, D. R. I., PHALEN, N. D. (ED.) **Pathology of Pet and Aviary Birds**. Ames, Iowa: Iowa State Press 2003. Ch. 4 Disponível em: <10.1002/9780470376836.ch4>. Acesso em 16 Jul. 2017.

SILVA, M. A.; *et al.* Óleo de aroeira-vermelha sobre o desempenho e a morfometria intestinal de frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 2151-2156, 2010.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMOES, C.M.O. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, Cap.18, p.387-416, 2000.

SINGH, S. Atividade antifúngica invitro de alguns óleos essenciais sobre fungos que degradam alimentos. **Journal of Herbal Medicine and Toxicology**, v.4, n.2, p.107-111, 2010.

SOUZA, D. S. *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* e *Lippia roduntifolia* frente à enterobactérias isoladas de aves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p. 940-944, 2015. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-7580>. Acesso em 16 Jul. 2017.

TALEBI, *et al.* Comparative Studies on Haematological Values of Broiler Strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). **International Journal of Poultry Science**, v.4, n. 8, p. 573-579, 2005.

TENNANT, B.C; CENTER, A. A. Hepatic Function. In: KANEKO, J; HARVEY, J; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. 2008. p. 379-412.

THAPA D, *et al.* Sensitivity of pathogenic and commensal bacteria from the human colon to essential oils. **Microbiology**, v. 158, p. 2870–2877, 2012. Disponível em <10.1099/mic.0.061127-0>. Acesso em 16 Jul. 2017.

TOGHYANI, M. *et al.*, Growth performance, serum biochemistry and blood hematology of broiler chicks fed different levels of black seed (*Nigella sativa*) and peppermint (*Mentha piperita*) **Livestock Science**, v. 129, n.1, p. 173 – 178, 2010.

TOGHYANI, M. *et al.*, Evaluation of cinnamon and garlic as antibiotic growth promoter substitutions on performance, immune responses, serum biochemical and haematological parameters in broiler chicks. **Livestock Science**, v. 138, p. 167-173, 2011. Disponível em <10.1016/j.livsci.2010.12.018>. Acesso em 16 Jul. 2017.

TOLLBA, A.A.H.; SHABAAN, S.A.M.; ABDEL-MAGEED, M.A.A. Effects of using aromatic herbal extract and blended with organic acids on productive and physiological performance of poultry. **Egyptian Poultry Science**, v.30, p. 229-248, 2010.

TRAESEL, C. K. C.B; *et al.* Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**. v.41, n.2, p.278-284, 2011.

TRÎNCĂ, S., *et al.* The Relevance of Mean Blood Samples in Hematological Investigations of Broiler Chickens. **Veterinary Medicine**, v.69, n.1-2, p. 209-214, 2012.

TUFARELLI V. *et al.* Effects of feeding different lipid sources on hepatic histopathology features and growth traits of broiler chickens. **Acta Histochemica**, v.117, n. 8, p. 780-3. Disponível em <10.1016/j.acthis.2015.08.001> >. Acesso em 16 Jul. 2017.

WINDISCH, W.; SCHEDLE, K.; PLITZNER, C. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, v.86 (Suppl.), p.140-148, 2008.

ZENG, Z. *et al.* Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, p. 7. 2015. Disponível em <10.1186/s40104-015-0004-5>. Acesso em 16 Jul. 2017.

APÊNDICE I

Composição e perfil nutricional da dieta basal de frangos de corte conforme as fases de crescimento

	1/7	8/21	22/35	36/43
Ingrediente	Dias	Dias	Dias	Dias
Milho (%)	51,78	54,1	57,722	60,26
Farelo de soja 46% (%)	40,6	37,49	33,75	30,2
Óleo de soja (%)	3,484	4,494	5,153	5,652
Fosfato bicálcico (%)	1,923	1,571	1,338	1,118
Calcário calcítico (%)	0,875	0,91	0,332	0,778
Sal comum (%)	0,508	0,483	0,458	0,446
DL-Metionina (%)	0,172	0,147	0,142	0,132
L-Lisina (%)	0,097	0,064	0,075	0,102
Cloreto de colina (%)	0,0625	0,055	0,05	0,0375
Premix min. (%) (1)	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix vit. (%) (2)	0,05	0,04	0,03	0,02
Inerte (%)	0,4	0,6	0,9	1,2
Total (%)	100	100	100	100
Aditivos				
Coccidiostático (%) (3)	0,05	0,05	0,05	0,05
Antimicrobiano (%) (4)	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125
OE Capim limão (%) (5)	0,022	0,21	0,5	0,633
OE Rosmaninho (%) (5)	0,022	0,21	0,5	0,633
OE Capim limão/Rosmaninho (%) (6)	0,011	0,105	0,251	0,317
Nutrientes				
PB (%)	22,47	21,25	19,84	18,43
EM (Kcal/Kg)	2972,86	3069,92	3165,93	3215,51
Fósforo disponível (%)	0,47	0,401	0,351	0,309
Cálcio (%)	0,92	0,841	0,754	0,663
Sódio (%)	0,22	0,21	0,2	0,2
Lisina (%)	1,32	1,22	1,13	1,06
Metionina (%)	0,52	0,48	0,45	0,43

(1) Premix Mineral contendo por kg do produto: Zn (50.000mg); Fe (20.000mg); Mn (75.000mg); Cu (4.000mg); I (1.500mg); Co (200mg); Veículo QSP (1.000g). (2) Premix Vitamínico contendo por kg do produto: vit. A (12.000.000UI); Vit B1 (2.200mg); vit B2 (6.000mg); vit B6 (3.300mg); vit B12 (16.000mcg); vit. D3 (2.200.000UI); vit. E (30.000 mg); vit. K3 (2.500mg); biotina (110mg); nicotinamida (53.000mg); niacina (25000mg); ácido pantotênico (13.000mg); ácido fólico (1.000mg); veículo Q.S.P. (1.000g). (3) Coccidiostático Salinimicina para todas as fases, na quantidade 500 g/t de ração. (4) Antimicrobiano Enramicina para todas as fases, na quantidade 125 g/t de ração. (5) Óleo essencial de Capim limão/Rosmaninho nos tratamentos correspondentes. (6) Quantidade de cada um dos óleos essenciais no tratamento "Mistura"

ANEXO 1
Certificado comitê ética-UFMG



UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº. 277 / 2015, relativo ao projeto intitulado “QUALIDADE DE CARCAÇA, PERFIL METABÓLICO E HEMATOLÓGICO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÃO CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS”, que tem como responsável ANNA CHRISTINA DE ALMEIDA, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), tendo sido aprovado na reunião de 05/10/2015. Este certificado espira-se em 05/10/2020.

CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº. 277 / 2015, related to the Project entitled “Carcass quality, Metabolic and hematological profile of broilers fed with diets containing essential oils”, under the supervision of ANNA CHRISTINA DE ALMEIDA, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA/UFMG), and was approved in 05/10/2015. This certificate expires in 05/10/2020.

Cleuza Maria de Faria Rezende
Coordenador(a) da CEUA/UFMG

Belo Horizonte, 05/10/2015.

Atenciosamente.

Sistema CEUA-UFMG

<https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br