

**Edna Helenice de Almeida**

**Influência de óleos essenciais na microbiota intestinal de frangos  
de corte**

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

**Área de Concentração:** Produção Animal

**Orientador:** Ernane Ronie Martins

**Coorientadores:** Anna Christina de Almeida; Wedson Carlos Lima Nogueira.

MONTES CLAROS

2017

FICHA CATALOGRÁFICA DE RESPONSABILIDADE DA BIBLIOTECA

Nº Cutter Ano	Sobrenome, Nomel.  Nome do trabalho / Nome do Autor (ordem direta). Cidade: Instituição, Ano. (Nº de folhas) XX f.: il.  Dissertação (mestrado) - Área de concentração em XXXXXXXX, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias.  Orientadora: XXXX XX XXXXX. Banca examinadora: XXXXX XXXX, XXXXX, XXXXXXXX XXXXX.  Inclui bibliografia: f. XX-XX.  1. Palavra chave. 2. Palavra chave. 3. Palavra chave. I. Sobrenome, Nome (Orientador). II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título. CDU: XXX
---------------------	--

**ELABORADA PELA BIBLIOTECA COMUNITÁRIA UNIVERSITÁRIA DO ICA/UFMG**

**Edna Helenice de Almeida**

**Influência de óleos essenciais na microbiota intestinal de frangos de corte**

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

Área de Concentração: Produção Animal

Linha de Pesquisa: Manejo e criação de animais.

Orientador: Ernane Ronie Martins

Instituto de Ciências Agrárias da UFMG

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

---

Prof<sup>a</sup>. Alessandra Rejane Ericsson de Oliveira Xavier  
(UNIMONTES)

---

Prof. Wedson Nogueira Lima  
(ICA/UFMG)

---

Prof. DSc. Ernane Ronie Martins (orientador)  
(ICA/UFMG)

Montes Claros, 27 de março de 2017.

## DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, a meu filho, minha família e amigos por apoio incondicional.

“Deus não faz nada antes, nem depois, ele age na hora certa”.

Autor desconhecido

## RESUMO

A busca por produtos naturais que apresentam atividade antimicrobiana tem se intensificado devido ao surgimento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos. Entre os produtos que podem ser usados em substituição aos melhoradores de desempenho, encontram-se os produtos de origem vegetal, como os óleos essenciais os quais têm se destacado pela ação antimicrobiana. Assim o presente estudo foi desenvolvido para avaliar a influência dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) e chá-de-pedestre (*Lippia* aff. *rotundifolia*) sobre a microbiota intestinal de frangos de corte, alimentados com dietas contendo óleos essenciais. As dietas consistiram de: ração controle (sem antimicrobiano ou melhorador de desempenho), ração controle com antibióticos (Enramicina e Salinomicina), ração controle com 120mg de óleo essencial de capim-limão e ração controle com 120mg de óleo essencial de chá-de-pedestre. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e três repetições. Foram avaliadas a contagem de aeróbios mesófilos, coliformes totais e coliformes termo tolerantes e a presença de *E.coli* e *Salmonella* sp, nos seguimentos duodeno, jejuno e íleo. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), portanto o uso dos óleos essenciais como aditivos em rações para frangos de corte, não afetou a microbiota intestinal.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais. Capim-limão. Chá-de-pestre. Avicultura. Óleos essenciais.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Contagem de microrganismos no trato gastrointestinal de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais de <i>Cymbopogon flexuosus</i> e <i>Lippia aff rotundifolia</i> .....	33
Tabela 2- Composição das dietas experimentais.....	37

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	09
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	10
2.1.1 Objetivo geral .....	10
2.1.2 Objetivos específicos .....	10
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
3.1 Microbiologia intestinal de aves .....	11
3.2 Microbiota do intestino delgado das aves .....	12
3.3 Microrganismos indicadores de contaminação.....	13
3.3.1 Coliformes totais .....	13
3.3.2 Escherichia coli .....	14
3.4 Salmonella .....	14
3.5 Importancia zootécnica dos melhoradores de desempenho na saúde das aves .....	15
3.6 Oleos essenciais como antimicrobiano .....	16
3.6.1 Óleo capim limão ( <i>cymbopogon flexuosus</i> ) .....	17
3.6.2 Óleo chá de pedestre ( <i>lippia</i> aff. <i>rotundifolia</i> ) .....	18
3.7 Fatores que influenciaram a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais .....	19
3.7.1 A ação dos óleos essenciais no trato intestinal de aves.. .....	19
3.8 Referências .....	21
<b>4 ARTIGO</b> .....	30
4.1 Artigo - influência de óleos essenciais na microbiota intestinal de frangos de corte .....	30
Resumo .....	30
Abstract .....	30
Introdução .....	31
Materiais e metodologia .....	32
Resultado e discussão .....	35
Conclusão .....	39
Agradecimento .....	39
Referências .....	40



## 1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira ocupa liderança na exportação de carnes de frangos e ocupa a terceira posição na escala de produção desse produto (UBABEF, 2013). A eficiência alcançada pelo setor está relacionada a fatores de melhoramento dos processos de gestão, genético, manejo e nutrição, bem como o controle sanitário (MAPA, 2012; NAAS, 2012).

Sabe-se que manutenção da saúde do trato intestinal de frangos é responsável pelos bons índices de desempenho e qualidade final do produto apresentado ao consumidor. Porém, o sistema de produção integrado aumenta os riscos de problemas sanitários, uma vez que o confinamento contribui para que as aves apresentem saúde frágil, dependente de quimioterápicos (DEMATTÊ FILHO, 2014).

A microbiota do trato intestinal age em simbiose em prol dos processos metabólicos eficientes, regulando a absorção dos nutrientes da dieta, modulação da imunidade, antagonismos contra patógenos (AMIT ROMACH *et al.*, 2004; OVIEDO-RONDÓN, 2009). Porém, o uso de aditivos químicos pode alterar o equilíbrio natural da microbiota e deixar resíduos na carne de frango, assim, criando resistência cruzada a bactérias patogênicas nos humanos (RUTZ; LIMA, 2001).

Diante da possibilidade de contaminação, a Comissão Europeia decidiu proibir a inclusão dos melhoradores de desempenho na ração dos animais. (Regulamento CE Nº 1831/2003) (HUYGHEBAERT, 2011). Com essa proibição, as empresas de produção de carne de frango tiveram que se adaptar, melhorando práticas de gestão e biossegurança, seleção genética, controle ambiental das instalações e mudanças na composição da dieta e programa alimentar das aves (COSTA *et al.*, 2011).

Diante dessa perspectiva e objetivando reduzir problemas econômicos, sanitários e fornecer produtos seguros e de qualidade aos consumidores, torna-se obrigatório estudos consistentes da introdução de alternativas para substituir o uso dos antimicrobianos nas dietas dos animais. Dentre os produtos alternativos de atividade antimicrobiana, os óleos essenciais têm apresentado eficiência sobre os tratamentos convencionais (SILVA *et al.*, 2010).

Portanto é importante que as pesquisas tenham novos enfoques, buscando produtos alternativos que apresentem ação antimicrobiana no trato intestinal, utilizem mecanismos que favoreçam a multiplicação de microrganismos capazes de aderir à mucosa intestinal e impedir a proliferação de bactérias patogênicas (AHMAD, 2006). Dentre as alternativas procuradas atualmente para substituição ao uso de antimicrobianos nas rações animais, especialmente avícolas, os óleos essenciais além da importância para as indústrias alimentícias, pesquisas têm apresentado como boa alternativa em substituição aos antibióticos convencional (SILVA *et al.*, 2010).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Objetivou-se avaliar a microbiota do intestino de frangos de corte alimentados com dieta contendo óleos essenciais de chá-de-pedestre (*Lippia aff. rotundifolia* Cham.) e capim-limão [*Cymbopogon flexuosus* (Neesex Steud.) Stapf], em alternativa ao uso dos melhoradores de desempenho.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito dos óleos essenciais de *Cymbopogon flexuosus* e *Lippia aff. rotundifolia* sobre a microbiota do trato intestinal de frangos de corte;
- Comparar o efeito dos óleos essenciais de *Cymbopogon flexuosus* e *Lippia aff. rotundifolia* com a enramicina e salinomicina sobre a microbiota do trato intestinal de frangos de corte nos segmentos do duodeno, jejuno e íleo;
- Determinar o Número Mais Provável de coliformes totais, sobre o trato intestinal de frangos de corte nos segmentos do duodeno, jejuno e íleo;
- Realizar a contagem em placas de aeróbios mesófilos no trato intestinal de frangos de corte nos segmentos do duodeno, jejuno e íleo;
- Realizar a pesquisa e a contagem do Número Mais Provável de *Escherichia coli* no trato intestinal de frangos de corte nos segmentos do duodeno, jejuno e íleo;
- Realizar a pesquisa de *Salmonella* sp. no trato intestinal de frangos de corte nos segmentos do duodeno, jejuno e íleo.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Microbiota intestinal de aves

A exposição bacteriana dos animais aos microrganismos acontece por meio de diversas vias: ração, cama, água, insetos e pessoal no momento do manejo, propiciando o amadurecimento e o desenvolvimento das comunidades microbianas. Inicialmente, a microbiota presente no trato intestinal das aves é imatura, e apresenta baixa diversidade, há uma grande diferença entre a composição bacteriana das aves dos 03 para os 49 dias de idade, e poucas alterações entre os 14, 21 e 28 dias (LU *et al.*, 2003). Após a eclosão, a microbiota intestinal das aves não está totalmente estabelecida, tornando-as mais susceptível à invasão de patógenos (LAN *et al.*, 2005). Microrganismos variados são encontrados no trato digestório, como fungos, protozoários e bactérias, sendo este último parasito predominante (GABRIEL *et al.*, 2006).

O número e a composição da microbiota variam ao longo do trato intestinal. O ceco é o segmento que apresenta maior colonização de microrganismos, sendo que nele estão presentes bactérias gram positivas e negativas (MAIORKA, 2004). O duodeno possui condições desfavoráveis ao desenvolvimento da microbiota devido à presença de inúmeras enzimas, pressão elevada de oxigênio, presença de compostos antimicrobianos como, por exemplo, sais biliares, e movimentos de refluxos para a moela (GABRIEL *et al.*, 2006). O íleo, por apresentar ambiente com menor pressão de oxigênio e menor concentração de enzimas e sais biliares, é colonizado principalmente por anaeróbios facultativos como os *Lactobacillus*, *Enterococcus* e coliformes (ZANINI *et al.*, 2012).

Os fatores que influenciam na variação da composição da microbiota do trato intestinal são determinados pelo tipo de substratos adquiridos na dieta, concentrações de sais biliares, alterações no pH e a disponibilidade de oxigênio. Esses fatores irão favorecer o desenvolvimento de determinada comunidade microbiana (APAJALAHITI *et al.*, 2004).

O equilíbrio da microbiota intestinal pode ser afetado pelas condições higiênicas e sanitárias da criação, estresse, alimentação inadequada e enfermidades, que podem desencadear o aumento da proliferação bacteriana competindo por nutrientes da própria ave. Alguns processos inflamatórios favorecem o espessamento da parede intestinal e podem interferir nos processos de absorção e excreção de metabólitos e toxinas (ITO *et al.*, 2007).

Os indivíduos de uma comunidade de bactérias não vivem independentes entre si, mas necessitam da interação que estabelecem com as demais bactérias e com o próprio ambiente do trato gastrointestinal. Se uma espécie de bactéria não desempenha um único papel para a sobrevivência da comunidade, essa é eliminada por pressão de seleção. Assim como qualquer espécie menos adaptada é eliminada ao aparecer outra mais eficiente (APAJALAHITI, 2005).

Várias atividades da microbiota intestinal podem provocar prejuízos às aves. Segundo Visek (1978), os micro-organismos produtores de amônia, que colonizam a parede intestinal, são responsáveis pela redução da absorção de nutrientes e pelo aumento da velocidade de

passagem do material em digestão ao aumentarem a espessura da mucosa intestinal (leve inflamação da parede intestinal com presença de células inflamatórias, na lâmina própria).

A maturação do epitélio intestinal ocorre de forma sincronizada e pode ser estimulada pela presença e composição da microbiota intestinal (CHERBUY *et al.*, 2010; EL AIDY *et al.*, 2012). Sendo esta a primeira linha de defesa do hospedeiro. Além de participar da regulação da permeabilidade celular, da expressão de genes de células caliciformes e promoção da secreção de peptídeos antimicrobianos (LAPARRA; SANZ, 2010).

As comunidades bacterianas são dependentes uma das outras e do ambiente no qual estão inseridas, para crescer as bactérias necessitam de recursos fornecidos pelo habitat natural ou por outras espécies bacterianas sinérgicas que vivem na mesma comunidade (APAJALAHTI *et al.*, 2004).

Uma microbiota equilibrada estimula à produção de vitaminas, inibe o crescimento de patógenos e modulação do sistema imunológico. E quando está em desequilíbrio, pode induzir o surgimento de doenças imunológicas e metabólicas (JEURISSEN *et al.*, 2002).

No ingúvio existe a predominância de *Lactobacillus* spp. e *Streptococcus* spp.. Estas bactérias formam uma camada com duas ou três fileiras de células aderidas à superfície epitelial para a produção de ácido láctico e ácido acético. Também reduz o pH para  $\leq 5.0$ , controlando a população de *Escherichia coli* no papo, podendo ainda afetar a sua população no intestino delgado. No intestino delgado, onde o pH ácido é neutralizado, também encontra *Escherichia coli* espécies de *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, dentre outras. Enquanto que nos cecos o predomínio é de *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Clostridium* (ALBUQUERQUE, 2005; MAIORKA, 2004; SANTANA *et al.*, 2011).

As espécies que compõem a microbiota do trato gastrointestinal podem ser de origem patogênica ou benéfica e desempenham funções específicas. A população patogênica é responsável por infecção, putrefação intestinal, produção de toxinas, redução da digestão e absorção de nutrientes. A população benéfica atua na produção de vitaminas, estimulação do sistema imune, inibição de bactérias patogênicas, redução da produção de gases e melhora da digestão e absorção de nutrientes (JEURISSEN *et al.*, 2002).

As bactérias que habitam o trato gastrointestinal podem estabelecer de duas formas: em profunda associação com epitélios ou livres na luz intestinal (fixadas ou não ao substrato da dieta), sendo sua multiplicação, mais rápida do que a eliminação pelo peristaltismo intestinal (JEURISSEN *et al.*, 2002).

De acordo com Santos *et al.* (2012), entender e controlar as possíveis mudanças na microbiota intestinal possibilita adequar práticas de manejo que incluam de maneira racional os aditivos usados para controlar a ecologia microbiana, com o objetivo de melhorar o desempenho e diminuir situações de estresse ou de doenças.

### 3.2 Intestino delgado das aves

O duodeno é um local de alta concentração salina (secreção de sais biliares). No lúmen, apresenta variação do pH entre 5,7 a 6,4 e camada espessa de muco. Embora o meio seja inóspito para o crescimento bacteriano, no muco ocorre colonização de bactérias em baixa concentração. Esse fato é devido ao curto período de permanência da dieta nesta porção, cujo tempo não é suficiente para a formação de colônias. Dessa forma sua detecção é feita por meio de técnica de metagenômica (DENBOW, 2000), sendo esta muito eficiente para medir distâncias filogenéticas entre organismos (PEREIRA, 2003).

O jejuno é o local do intestino delgado onde ocorre a maior parte da digestão com ação de enzimas pancreáticas (lúmen) e de membrana (enterócitos). Além dessas atividades, ocorre a maioria dos transportes transepiteliais de nutrientes.

O pH é mais alcalino do que o duodeno, variando ao longo de sua extensão de 5,8 a 6,6, podendo ocorrer variações na composição microbiológica do segmento. As comunidades colonizadoras são semelhantes ao duodeno, dominadas por fermentadores de ácido láctico (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*) e também *Clostridiales* e *Bacteroidetes* (GONG *et al.*, 2007).

O íleo é a porção final do intestino delgado, onde ocorre a absorção de sais biliares e a atuação de transportadores de mucosa. O pH é próximo à neutralidade, a renovação da camada de muco é mais constante, devido à maior quantidade de células caliciformes em relação ao duodeno e jejuno (CAMPOS, 2006). Devido a esses fatores, ocorre número maior de cepas bacterianas nesta porção, que são encontradas aderidas à mucosa ou colonizando o local. As bactérias ácido-lácticas dominam o ambiente, principalmente *Lactobacillus*, também podem ocorrer enterobactérias e *Clostridium* com maior ou menor número dependendo das condições dietéticas do animal (GONG *et al.*, 2007; WISE; SIRAGUSA, 2007; VIVEROS *et al.*, 2011).

### 3.3 Microrganismos indicadores de contaminação

#### 3.3.1 Coliformes totais

O grupo coliforme inclui espécies de bactérias que podem ser encontradas no trato intestinal de humanos e animais de sangue quente, assim como no solo, podendo ser diferenciadas em coliformes totais e fecais, também chamados de termotolerantes (SILVA *et al.*, 2006). O índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas, considerando que altas contagens indicam contaminação pós-sanitização ou pós-processo, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento e estocagem.

De acordo com Franco e Landgraf (2005), microrganismos indicadores, quando presentes em alimentos, revelam contaminação de origem fecal, presença de patógenos ou um potencial de deterioração do produto, além de indicar que as condições sanitárias durante o processamento, armazenamento e produção foram inadequadas.

Bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter* pertencem à família das Enterobacteriaceae, fermentadoras de lactose, produzem gás quando incubados a

35-37°C, por 48 h. Apenas a *E.coli* tem como habitat primário o trato intestinal de animais e do homem. Os demais são encontrados em fezes, mas podem ser encontrados no solo, nos vegetais, onde persistem por tempo superior ao de bactérias como *Salmonella* e *Shigella* de origem intestinal. A presença de coliformes totais nos alimentos não indica contaminação fecal ou ocorrência de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRA, 2005).

### 3.3.2 *Escherichia coli*

As contaminações por *E.coli*, estão entre as zoonoses de grande interesse tanto para a saúde humana quanto para a sanidade animal devido à incidência de morbidade em seres humanos e animais (SAVIOLLI, 2010). As lesões ocasionadas nas aves assemelham geneticamente aquelas que aparecem nos seres humanos, essa relação é motivo de investigação sobre a doença, pois pode colocar em risco a saúde dos consumidores (ANDRADE, 2005).

Alguns patótipos da *E.coli* podem ser agrupadas de acordo com sua patogenicidade e estão associados em doenças que provocam lesões em animais (BARNES *et al.*, 2003; KNÖBL *et al.*, 2006; BERCHIERI JUNIOR *et al.*, 2009). Entre os alimentos associados a surtos por *E. coli* estão a carne cruas e frangos, embora outros alimentos expostos a contaminação fecal possam ser suspeitos (SILVA; SILVA, 2005).

Os prejuízos provocados pela *E. coli*, envolve gastos na saúde pública para combater a proliferação da doença e nos frigoríficos ocorrem a condenação total das carcaças. Dentre as principais doenças que atingem os frigoríficos estão a colibacilose, hepatite, síndrome ascítica, desidratação e contaminação pelas fezes. A colibacilose alcança o índice de 19%, podendo variar de acordo com as práticas de manejo, sistema de criação e sanidade da granja avícola (BORGES, 2006; SESTERHENN *et al.*, 2011).

A produção intensiva contribui para elevada disseminação da doença proporcionando condições para multiplicação e instalação dos agentes infecciosos (GAMA, 2004). Portanto é fundamental considerar que alguns fatores ambientais são considerados como fatores de risco, pois podem possibilitar a disseminação deste patógeno e devem ser analisados para promoção de medidas de controle (ANDREATTI FILHO, 2006).

### 3.4 *Salmonella*

Dentre os patógenos veiculados na avicultura, destacam-se a *Salmonella* pela importância da disseminação e pelas enfermidades provocadas por bactérias do gênero. Já foram identificados mais de 2.610 sorovares potencialmente patogênicos para as espécies animais diferentes (GUIBOURDENCHE *et al.*, 2010).

As salmonelas se multiplicam em pH próximo de 7,0, sendo que valores inferiores a 4,0 e superiores a 9,0 são bactericidas. Estas bactérias não toleram concentração de sal superior a 9%, o nitrito é inibitório e o efeito é acentuado pelo pH ácido. A temperatura de

multiplicação considerada ideal para *Salmonella* é entre 35 e 37°C, sendo a mínima de 5°C e, máxima, de 47°C (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

O trato intestinal é o reservatório natural das bactérias de aves domésticas como ganso, pato, galinha e peru (CARDOSO; CARVALHO, 2006). Animais de vida livre expostos à contaminação tornam-se portadores e dispersantes da bactéria, sendo estas liberadas por partículas aerolizadas (DOUST; PRESCOTT, 2007). Dessa forma, a contaminação por salmonela pode ocorrer pela inalação e deglutição dessas partículas em ambientes de grandes aglomerações e sedimentadas em alimentos. O contato com animais infectados, a ausência de saneamento, tratamento inadequado do esgoto ou esterco, também são fontes de contaminação (FRIEND, 1999; BROWN, 2000).

Regulamentos nacionais e internacionais determinam normas para controlar a presença de microrganismos causadores de zoonoses em produtos de origem animal (SILVA, 1998). O Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento (MAPA), estabeleceu um plano no país, por meio da Instrução Normativa nº 70, chamado Programa de redução de Patógenos – Monitoramento microbiológico de controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos e perus, objetivando realização do monitoramento do nível de contaminação por este patógeno em locais de abate de aves (BRASIL, 2003).

### 3.5 Importância zootécnica dos melhoradores de desempenho na saúde das aves

Os antimicrobianos começam a ser utilizados na produção animal a partir da década de 50, com o objetivo de melhorar de forma mais efetiva a indústria animal. Seu uso tem sido questionado por estar associado à seleção de algumas cepas bacterianas que demonstraram ser resistente aos antibióticos que tratam infecções específicas provocadas por alguns gêneros como a *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter* e *Enterococcus spp.* (HASHEMI; DAVOODI, 2011).

O desenvolvimento dos antibióticos constitui um dos avanços mais significativos depois da descoberta das vacinas. A descoberta dos antibióticos possibilitou o combate às infecções bacterianas e a vacina, o combate às infecções virais. Essas descobertas permitiram grande avanço na produção animal e mudaram a indústria, proporcionando maior eficiência.

No começo da década de 1960, ocorreu a importação das primeiras linhagens híbridas para corte e postura. Juntamente, foram introduzidas técnicas relativas ao manejo, alimentação, nutrição, vacinas e equipamentos, compatíveis com estes animais e as elevadas densidades adotadas (ROSSI, 2005). Isso acarretou no uso, em larga escala, dos antimicrobianos, com fins terapêuticos e como melhoradores de desempenho, permitindo prevenir e reduzir a mortalidade por infecções clínicas e subclínicas. Além de melhorar o desempenho produtivo das aves (FUKAYAMA *et al.*, 2005).

O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), por meio da Lei nº 6.198, de 26 de dezembro de 1974, estabelece o uso dos aditivos utilizados nas dietas dos animais por meio da Instrução Normativa nº13, de 30 de novembro de 2004. Essa Instrução Normativa classifica os

aditivos utilizados na produção animal em cinco categorias: tecnológicos, nutricionais, zootécnicos, sensoriais e anticoccidianos. Aditivos zootécnicos são utilizados para afetar de forma positiva o desempenho dos animais. São distribuídos em três grupos funcionais: equilibradores da microbiota, digestivos e melhoradores de desempenho (BRASIL, 2004).

A ação dos melhoradores provoca modificações na microbiota intestinal, equilibrando as populações, pela redução de microrganismos produtores de toxinas no lúmen intestinal (ALMEIDA, 2012). Esta ação está relacionada diretamente à dieta dos animais. Sendo a melhor eficácia obtida quando os animais estão expostos a condições sanitárias inadequadas, biossegurança, manejo sanitário, ambiente e fatores de estresse (SHIVA *et al.*, 2012).

A resistência contra os antimicrobianos ocorreu devido ao seu uso indiscriminado na produção animal, o que possibilitou o aparecimento de bactérias resistentes a alguns antimicrobianos. A teoria de evolução adaptativa acredita que esse fenômeno resulta de processo de adaptação ao meio e essa resistência é transmitida aos descendentes. Além desses fenômenos, a mutação e a seleção de genes comprovada pela biologia molecular, também apresenta grande contribuição para a resistência dos antimicrobianos. Estes agentes mutagênicos podem se manifestar em qualquer célula do organismo, ficando os genes suscetíveis à mutação à medida que intensifica o período de administração (APTA *et al.*, 2012). Por esse motivo, a comunidade científica e os consumidores estão preocupados com a bioacumulação dos antibióticos nas carnes, os quais são prejudiciais à saúde humana (GODOI *et al.*, 2008).

Alguns antibióticos já tiveram seu uso suspenso. Os melhoradores de desempenho que são permitidos pela legislação brasileira para uso em aves são: Avilamicina, Bacitracina Metileno Disalicilato, Bacitracina de Zinco, Colistina, Clorexidina, Enramicina, Flavomicina, Halquinol, Lincomicina, Tilosina e Virginamicina. Os aditivos anticoccidianos permitidos são: Amprólio, Amprólio+Etopabato, Clopidol+Metilbonzoquato, Diclazuril, Lasalocida, Maduramicina Amônio, Maduramicina+Nicarbazina, Monensina, Narasina, Narasina+Nicarbazina, Nicarbazine, Robendina, Salinomicina, Semduramicina+Nicarbazina (MAPA, 2014).

Devido à suspensão de uso de alguns antibióticos sem a devida substituição por outro menos agressivo, Ferket (2003) observou perdas econômicas na produção avícola. Tal perda se deve à incidência de colibacilose e de enterite necrótica causada por *Clostridium perfringens* em aves.

Neste contexto, a busca por produtos alternativos deve ser incentivada como solução para o problema, todas as possibilidades disponíveis (enzimas, pró-bióticos, pré-bióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais), que são de conhecimento ainda restrito, mas podem ser usados como alternativa ao uso dos antibióticos (JONES; RICKIE, 2003; GODOI *et al.*, 2008).

### **3.6 Óleos essenciais como antimicrobianos**

Os óleos essenciais são substâncias voláteis, insolúveis em água, complexos e viscosos e, em meio aquoso, podem apresentar turbidez. Em aplicações veterinárias, os



produtos extraídos de plantas são considerados aditivos, demonstrando efeitos benéficos sobre a saúde e desempenho dos animais (HOOD *et al.*, 2003; HASHEMI; DAVOODI, 2011).

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais ocorre devido ao efeito que o óleo exerce na estrutura da parede da célula bacteriana, promovendo a desnaturação e coagulação das proteínas (DORMAN; DEANS, 2000). De acordo com os autores, o caráter lipofílico dos óleos e seu acúmulo nas membranas celulares levam ao rompimento da parede celular.

A eficiência antimicrobiana depende da constituição química do óleo essencial utilizado. Dentro de uma escala decrescente de ação antimicrobiana têm-se os compostos: timol, carvacrol, terpineol, eugenol, linalol, tujona, delta-3-careno, geranyl acetato, citral, nerol, geraniol, mentona, beta-pineno, limoneno, alfa-pineno, borneol, sabineno, gama-terpineno, citronela, terpinoleno, 1,8-cineol, bornil acetato, éter metil carvacrol, mirceno, cariofileno, alfa-bisabolol, alfa-felandreno, alfa-humuleno, bocimeno, aromadendreno e para-cimeno (BUDKA; KHAN, 2010).

Knowles (2002) menciona que no grupo dos óleos, carvacrol e timol podem substituir os antibióticos. O carvacrol atua sobre leveduras, fungos e microrganismos gram positivos e gram negativos, e o timol, apesar de apresentar estrutura bastante semelhante ao carvacrol, difere apenas no grupo hidroxila, com localização diferente no anel fenólico (ULTEE *et al.*, 1999). A ação do carvacrol e do timol se deve à sua ação lipofílica na membrana celular e sua capacidade de dispersar as cadeias de polipeptídeos formadoras da matriz e da membrana celular (NOSTRO *et al.*, 2004). Atuam provocando mudanças na permeabilidade e atividade da membrana.

Pesquisas *in vivo* devem ser realizadas objetivando identificar os mecanismos de ação dos diversos princípios ativos. Existem grandes variações nos efeitos biológicos resultantes da utilização dos produtos naturais. Dessa forma, diferentes abordagens experimentais devem ser utilizadas (WINDISCH *et al.*, 2007).

### 3.6.1 Óleo de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*)

Pertence ao gênero *Cymbopogon*, da família Poaceae, (CRONQUIST, 1988). O gênero possui inúmeras espécies, entre elas a palma-rosa (*C. martinii*), a citronela (*C. winterianus*) e o capim-limão, que designa duas espécies semelhantes: *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon flexuosus* (CASTRO; RAMOS, 2002).

As duas espécies são originárias da Índia, introduzidas no Brasil no Período Colonial, adaptadas ao clima e ao solo devido à sua resistência as variações ambientais. Seu desenvolvimento ocorre melhor em regiões de clima quente e úmido, com boa disponibilidade luminosa (ORTIZ *et al.*, 2002).

É uma planta perene, ereta, cespitosa, de 0,6 até 3 m de altura, com caule rizomatoso muito ramificado, escuro, curto, semi-subterrâneo e palhoso. Dos rizomas partem colmos em tufos eretos e folhosos. Suas folhas verde-grisáceas com veios bem visíveis na face inferior e de

cor verde-brilhante e lisa na face superior são estreitas e longas (0,5 a 1m), ásperas e margens cortantes (CASTRO; RAMOS, 2002; LORENZI; MATOS, 2003).

As duas espécies são conhecidas por nomes populares como capim-cidreira, capim-santo, capim-cidrô, erva-cidreira, chá-de-estrada, capim-de-cheiro e *lemongrass* (CASTRO; RAMOS, 2002).

O capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) apresenta maior produção de massa e, conseqüentemente, maior produção de óleo essencial, além de ser mais resistente a doenças que o *C. citratus* (MAY *et al.*, 2008). Da planta são obtidos os óleos essenciais mirceno, geraniol e citral, este último usado industrialmente como flavorizante, além de ser matéria-prima na síntese de iononas e vitamina A (SIMÕES *et al.*, 1998). Os mesmos autores citam que o citral isolado mostra atividade antiespasmódica e relaxante da musculatura lisa de cobaias de camundongos, além de apresentar atividade antibacteriana e fungicida.

O citral (3,7-dimetil -2,6-octadienal) é o principal componente do capim-limão (ADUKWU *et al.*, 2012). Trata-se de aldeído alifático, composto pela mistura dos isômeros neral (citral b ou cis-citral) e geranial (citralla ou trans-citral) (CASTRO; RAMOS, 2002). Outros componentes podem estar presentes em menores porções no óleo essencial de capim-limão: mirceno, linalol e geraniol (MILLEZI *et al.*, 2012), limoneno e  $\alpha$ -pineno (ADUKWU *et al.*, 2012).

O capim-limão possuiu aroma semelhante ao do limão, daí surgiu a origem do nome popular. Esta planta é utilizada há muitos anos na culinária asiática e utilizado como cosmético na Índia, além de ser uma planta medicinal conhecida mundialmente (GANJEWALA, 2010).

Seu óleo essencial apresenta cor e odor característico, com diversas funções biológicas comprovadas como antimicrobiana (ADUKWU *et al.*, 2012; MILLEZI *et al.*, 2012), anticancerígena (SHARMA *et al.*, 2009), antifúngica, antioxidante (GUIMARÃES *et al.*, 2011), antisséptica, sedativa e antidepressiva (COSTA *et al.*, 2005). Possui ainda aplicação no ramo dos flavorizantes de alimentos, perfumes e fragrâncias de cosméticos (COSTA *et al.*, 2005), sendo que o princípio ativo é utilizado na fabricação de medicamentos para síntese de precursores da vitamina A (PRINS *et al.*, 2008).

De acordo com Azevedo *et al.* (2015), o óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) apresenta atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *E. coli* isoladas de aves, inibindo o crescimento microbiano na concentração de 160  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

### 3.6.2 Óleo de chá-de-pedestre (*Lippia aff. rotundifolia*)

O chá-de-pedestre (*Lippia aff. rotundifolia*) é planta endêmica do Cerrado brasileiro, pouco estudada, embora promissora. Segundo Gomide *et al.* (2013), o componente majoritário do óleo essencial é o  $\beta$ -mirceno e o farnesol. Recebe diversas denominações conforme a localidade: cambará, alecrim-do-campo, erva-cidreira-do-campo, falsa melissa, capitão-do-mato, chá-de-frade. Apresenta características semelhantes às da espécie *L. lacunosa*, o que dificulta a separação das duas espécies (LEITÃO *et al.*, 2008).

Souza *et al.* (2015) avaliaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de chá-de-pedestre na concentração de 160µL/mL sobre o micro-organismo *S. aureus* e *E. coli* frente à enterobactéria isolada de aves, e concluiu que essa espécie vegetal possui efeito antimicrobiano. Azevedo *et al.* (2015), encontraram efeitos satisfatório sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte utilizando óleo essencial de chá-de-pedestre como aditivo na ração. Portanto, o óleo pode ser utilizado como aditivos em rações de frangos em substituição aos antimicrobianos, sem prejuízo para rendimento de carcaça e desempenho.

### 3.7 Fatores que influenciam a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

A composição química e teor dos óleos essenciais variam de acordo a espécie, as condições ambientais, tratos culturais quanto ao cultivo e procedimentos pré e pós-colheita bem como a temperatura de secagem também influenciam a atividade desse metabólito (DI STASI, 2002; KAMEL, 2001). A espécie *Rosmarinus officinalis* pode ser citada como exemplo de alteração do efeito antimicrobiano em relação à época de colheita, em que a maior atividade desta espécie é obtida em amostras colhidas na primavera (CELIK TAS *et al.*, 2007).

#### 3.7.1 A ação dos óleos essenciais no trato intestinal de aves

Quanto ao uso dos óleos essenciais nas rações animais, a Europa autoriza o seu uso pela Diretiva do Conselho 70/524/EEC, Cap. III, que se refere ao uso de substâncias aromáticas e apetentes, enquanto os EUA reconheceram como substância segura para ser usada na alimentação dos animais e dos seres humanos (Code of Federal Regulations, Title 21, v.6; Part 582). Diversos tipos de óleos são utilizados nas dietas de frango de corte. Dentre as plantas mais utilizadas destacam-se: canela, tomilho, pimenta e orégano. Os princípios ativos presentes nos óleos essenciais de plantas são responsáveis por estimular o desenvolvimento de enzimas digestivas e apresentarem ação bacteriana (SANTURIO *et al.*, 2007; ZHOU *et al.*, 2000).

Bona *et al.* (2012) avaliaram a inclusão de composto vegetal à base de óleo essencial de alecrim (cineol), canela (cinamaldeído) e extrato de pimenta vermelha (capsaicina) e orégano (carvacrol) para controle de *Eimeria*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella* em frangos de corte, verificaram a redução de enterites específicas por *Eimeria maxima* e *Eimeria tenella* aos 29 dias de idade, redução na colonização de *Clostridium perfringens* no conteúdo de ceco das aves. O composto utilizado proporcionou ainda a redução na excreção de *Samonella* nas aves, 72 horas após inoculação.

Pesquisa realizada por Akabarian *et al.* (2013) incluíram óleo essencial de *Curcuma xanthorrhiza* (ar-curcumeno, -curcumeno, xanthorhizol) extrato da casca de laranja e extrato da casca de limão na dose de 400mg/kg de ração, foi avaliada na dieta para frangos criados em condições de estresse térmico. Os extratos da casca de limão e laranja proporcionaram a diminuição na contagem de coliformes no íleo. O óleo de cúrcuma reduziu a contagem de coliformes no ceco em relação ao grupo controle.

Schelz *et al.* (2006), pesquisando a atividade do óleo de hortelã-pimenta e os seus constituintes principais, como o mentol, demonstraram que possuem ação e são capazes de eliminar os plasmídeos resistentes de bactérias.

Aves da linhagem Coobb, suplementadas com 300 mg kg<sup>-1</sup> de óleo essencial de orégano, em dieta basal de trigo e farelo de soja, desafiadas com *Eimeria tenella*, obtiveram resultados positivos para ganho de peso e melhor conversão alimentar, em comparação ao grupo controle que não recebeu suplementação. No entanto, os resultados foram inferiores quando comparados aos coccidiostáticos (lasalocida) do grupo infectado e tratado (GIANNENAS *et al.*, 2003).

Pesquisa realizada por Mitsch *et al.* (2004), usando mistura de óleos essenciais (timol, carvacrol e eugenol), curcumina e piperina, observaram redução da concentração de *Clostridium perfringens* no jejuno aos 14 e 30 dias de idade e na cloaca em 14 dias. Os resultados indicam que a mistura dos componentes dos óleos essenciais pode controlar a colonização de *Clostridium perfringens* e sua disseminação no intestino de aves, podendo evitar problemas com a enterite necrótica.

Contudo, bactérias gram negativas tendem a ser menos sensíveis aos óleos essenciais e extratos de plantas que as gram positivas, isso porque elas possuem superfície hidrofílica, que cria barreira à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais (CHAO; YOUNG, 2000). Entretanto, como a maioria das bactérias presentes no intestino das aves são gram positivas, os óleos essenciais agem sobre estas e podem ocasionar a morte de bactérias gram negativas patogênicas (BONA *et al.*, 2012).

O número significativo de estudos sobre a utilização de óleos essenciais e seus componentes contra bactérias multi resistentes, indicam o potencial excepcional destes produtos naturais para limitar o desenvolvimento de resistência antibacteriana. Além disso, o uso de óleos essenciais e seus componentes, em combinação com os antibióticos podem aumentar a susceptibilidade bacteriana, limitando assim a resistência (FALEIRO; MIGUEL, 2013).

Quanto ao método adotado para administração dos óleos essenciais, não há padrão específico quando comparados com antibióticos padrão. Como cada planta tem sua especificidade, a dosagem adequada depende do princípio ativo da planta.

A microdiluição em placa é um método bem utilizado em análise microbiológica de extratos vegetais (MENDES *et al.*, 2011). Com este método é possível obter a Concentração Mínima Inibitória (CMI) ou a Concentração Mínima Bactericida (CMB), devido à sua sensibilidade e uso de pequenas quantidades de reagentes, o que possibilita maiores números de réplicas, aumentando a confiabilidade dos resultados.

Aligiannis *et al.* (2001), propuseram que, com base nos resultados de concentração inibitória mínima, os vegetais recebessem determinada classificação, considerando os valores: até 500 µg/ml<sup>1</sup> - forte inibição; 600 a 1500 µg/ml<sup>1</sup>- inibição moderada e, acima de 1600 µg/ml<sup>1</sup> - fraca.

Santurio *et al.* (2007), avaliando a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela, sobre 20 sorovares de *Salmonella*, observaram a atividade de alguns

óleos sobre determinadas sorovares. No método da Concentração Mínima Bactericida (morte bacteriana) o óleo de orégano em concentrações abaixo de 500µg- ml<sup>1</sup> foi efetivo em 10 (50%) dos sorovares estudados, mas o mesmo resultado não foi observado utilizando os óleos de tomilho e canela, que não apresentaram a mesma eficiência.

Nazer *et al.* (2005) avaliaram o potencial antimicrobiano dos princípios ativos dos compostos timol, eugenol, geraniol e citral, carvacrol, ácidos pirofosfórico, cítrico, acético e láctico, frente a *S. typhimurium*. Assim, os mais efetivos foram o timol e o carvacrol, sendo que os compostos apresentaram menores concentrações inibitórias que os ácidos orgânicos. As combinações dos compostos aromáticos e dos ácidos orgânicos se mostraram eficientes contra a *S. typhimurium*.

### 3.8 Referências

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.

AHMAD, Irshad. Effect of Probiotics on Broilers Performance. **International Journal of Poultry Science**. v. 5, n. 6, p. 593-597, 2006.

AKABARIAN, A.; GOLIAN, A.; KERMANSHAHI, H.; RAJI, A. R.; FARHOOSH, R.; DE SMET, S.; Michiels, J. Growth performance and gut health parameters of finishing broilers supplemented with plant extracts and exposed to daily increased temperature. **Span. J. Agric. Res.**, v. 11, p. 109–119, 2013.

ALBUQUERQUE, R. Antimicrobianos como promotores do crescimento. In: ALBUQUERQUE, R. **Farmacologia aplicada à avicultura: boas práticas no manejo de medicamentos**. São Paulo: Roca, 2005. cap. 9, p. 149- 159.

ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; IOANNA, B. C. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two origanum species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168- 4170, 2001.

ALMEIDA, E. **Aditivos digestivos e equilibradores da microbiota Intestinal para frangos de corte**. 2012. 48 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2012.

AMIT ROMACH, Einat; DD, Sklan; UNI, Zehava. Microflora Ecology of the Chicken Intestine Using 16S Ribosomal DNA Primers. **Poultry Science**. v. 83, p. 1093-1098, 2004.

ANDRADE, C. L. **Histopatologia e identificação da *escherichia coli* como agente causal da celulite aviária em frangos de corte**. 2005. 62 f. Dissertação (Mestrado em Med. Veterinária)- Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2005.

ANDREATTI FILHO, R. L. Colibacilose aviária. IN: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: Roca, 2006. p.112-117.

APAJALAHTI, J. Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.444-453, 2005.

APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v.60, p. 223–232, 2004.

APTA, D.F; *et al.* The Emergence of Antibiotics Resistance and Utilization of Probiotics for Poultry Production. **Science Journal of Microbiology**, v. 2012, 2012.

AZEVEDO, I. L. *et al.* **Uso dos óleos essenciais de capim-limão e chá-de-pedestre na alimentação de frangos de corte**. 2015. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2015.

BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J. P.; GROSS, W. B. Colibacillosis. In: **SAIF W. M. Diseases of poultry**. 11. ed. Ames: Iowa State University Press, 2003. p. 138-144.

BARNES, H.J. **Colibacillosis in poultry**. Missouri: Pfizer, 1994, 45 p. (Veterinary practicum of Pfizer Animal Health).

BARRETO, M.S.R., MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M.C.; PEREIRA, P.W.Z.; RIZZO, P.V. Plant extracts used as growth promoters in broilers. **Braz. J. Poult. Sci**, v. 10, p. 109-115, 2008.

BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2009.

BONA, E. A. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais a sorovares de *Salmonella* spp de origem avícola. **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v.15, n.1, p. 41-46, 2012.

BONA, T. D.M.M.; PICKLER, L.; B. MIGLINO, L.B.; N. KURITZA, L.N.; P. VASCONCELOS, S.P.; SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, 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.

BORGES, V. P. **Principais lesões macro e microscópicas em frangos de corte condenados por caquexia em abatedouro**: contribuição ao diagnóstico. 2006. 125 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003. **Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de Salmonella sp. em Carcaças de Frangos e Perus**, 2003. Diário Oficial da União de 10/10/2003, seção 1, p. 9. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/aves-e-suinos/anos-anteriores/minuta-in-salmonella-aves.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. **Regulamento Técnico sobre Aditivos para Produtos Destinados à Alimentação Animal**. Diário Oficial da União, n. 41, 01 de dezembro de 2004, Seção 1, p. 3-5. Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=133040692>>. Acesso em: 12 dez. 2016.

BROWN, N. H. H. Psittacine birds. In: TULLY, JR, T. N.; LAWTON, M. P. C.; DORRESTEIN, G. M. **Avian Medicine**. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltda, 2000.

BUDKA, D.; KHAN, N.A. The effect of *Ocimumbrasilicum*, *Bacillus cereus* in Rice – Based Foods. **European Journal of Biological Sciences**, v.2, n.1, p. 17-2, 2010.

CAMPOS, D.M.B. **Efeito do sorgo sobre o desempenho zootécnico, características de carcaça e o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos**. 2006. 49 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – UNESP (Universidade Estadual Paulista), Jaboticabal, 2006.

CARDOSO, T. G.; CARVALHO, V. M. Toxifecção alimentar por *Salmonella spp*. **Rev. Inst. Ciênc.Saúde**, v. 24, n. 2, 2006, p. 95 –101.

CASTRO, L. O. de ; RAMOS, R. L. D. **Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2002. 31 p. (Boletim FEPAGRO, 11).

CELIKITAS, O.Y.; KOCABAS, E. E. H.; BEDIR, E. ; SUKAN, F. V.; OZEK, T. BASER, K. H. C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinusofficinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chem**, v.100, n.2, p. 553-559, 2007.

CHAO, S.C.; YOUNG, D.G.; OBERG C.J. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, p. 639-649, 2000.

CHERBUY, C. et al. Microbiota matures colonic epithelium through a coordinated induction of cell cycle-related proteins in gnotobiotic rat. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 299, p. 348-357, 2010.

COSTA, L.C.B.; CORRÊA, R.M.; CARDOSO, J.C.W.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FERRI, P.H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 956-959, 2005.

COSTA, P.M.; OLIVERIA, M.; RAMOS, B.; BERNARDO, F. The impact of antimicrobial use in broiler chicken on growth performance and the occurrence of antimicrobial resistant *Escherichia coli*. **Livestock Science**, Foulum, v. 136, p. 262-269, 2011.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of Flowering Plants. **The New York Botanical Garden Bronx**, New York, 2. ed, p. 279, 1998.

DEMATTÊ FILHO, L.C. **Sistema agroalimentar da avicultura fundada em princípios da Agricultura Natural**: multifuncionalidade, desenvolvimento territorial e sustentabilidade. 2014. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz e Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, 2014.

DENBOW, D.M. Gastrointestinal anatomy and physiology. In: Whittow, G. C. (org.). **Sturkie's Avian Physiology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 2000.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. Lamiales medicinais. In: DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na mata atlântica**. 2. ed. São Paulo, SP: UNESP, 2002.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. **J. Appl. Microbiol.** v. 83, p 308-316, 2000.

DOUST, P.; PRESCOTT, J.F. Salmonellosis. In: **Infections Diseases of Wild Birds**. Iowa: Blackwell publishing, 2007.

EL AIDY, S. et al. Temporal and spatial interplay of microbiota and intestinal mucosa drive establishment of immune homeostasis in conventionalized mice. **Mucosal Immunology**, v. 5, p. 567-579, 2012.

FALEIRO, M. L.; MIGUEL, M. G. Use of Essential Oils and Their Components against Multidrug-Resistant Bacteria. In: Fighting Multidrug Resistance With Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components. **Academic Press**, p. 65-94, 2013. Disponível em: <<http://www.Sciencedirect.com/Science/book/9780123985392>>. Acesso em: 18 jan. 2015.

FERKET, P. R. Managing gut health in a world without antibiotics. In: **Alltech's european middle eastern and african lecture tour**. England. Proceedings England: Alltech UK, 2003.

FERREIRA, A. J. P.; KNOBL, T. Colibacilose. In: BERCHIERI JR, A.; SILVA, E. N.; FÁBIO, J. di; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. Z. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA, 2009. cap. 4, p.457-482.

FRANCO, BDGM, LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 183 p.

FRIEND, M. Bacterial diseases. In: **Field manual of wildlife diseases**: General field procedures and diseases of birds. USGS – National Wildlife Health Center, University of Nebraska – Lincoln, 1999. Disponível em: <[https://www.nwhc.usgs.gov/publications/field\\_manual/field\\_manual\\_of\\_wildlife\\_diseases.pdf](https://www.nwhc.usgs.gov/publications/field_manual/field_manual_of_wildlife_diseases.pdf)>. Acesso em: 4 nov. 2016.

FUKAYAMA, H.E. et al. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Bras. Zootec.**, v. 34, n. 6, p. 2316-2326, 2005 (supl.).

GABRIEL, I.; LESSIRE, M.; MALLET, S.; GUILLOT, J. F. Microflora of the digestive tract: Critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.62, p.499–511, 2006.

GAMA, N. M. S. Laringotraqueíte: o caso brasileiro. In: **Conferência APINCO 2004 de Ciência e Tecnologia Avícolas**, Santos, Anais...Santos FACTA, 2004, p. 85-92.

GANJEWALA, D.; LUTHRA, R. Essential oil biosynthesis and regulation in the genus



Cymbopogon. **Natural Products Communications**, Westerville, v. 5, n. 1, p. 163-172, 2010.

GIANNENAS, I.; FLOROU-PANERI, P.; PAPAZHARIADOU, M.; CHRISTAKI, E.; BOTSOGLOU, N.; SPAIS, A. B. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeriatenella*. **Arch. Anim. Nutr.**, v. 57, 99-106, 2003.

GODOI, M. J. S.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; BARRETO, S. L. de T.; VARGAS JUNIOR, J. G. de. Utilização de aditivos em rações formuladas com milho normal e de baixa qualidade para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 6, p. 1005, 2008.

GOMIDE, M. S.; LEMOS, F. O.; LOPES, M. T. P.; ALVES, T. M. A.; VICCINI, L. F.; COELHO, C. M. The effect of the essential oils from five different *Lippia* species on the viability of tumor cell lines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 895-902, 2013.

GONG, J. et al. 16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca. **FEMS Microbiol. Ecol.**, v. 59, p.147–157, 2007.

GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; FIELDS, P. I.; BOCKEMUHL, J.; GRIMONT P. A.; WEILL, F. X. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-KauffmannLe Minor scheme. **Res. Microbiol.**, v. 161, n. 1, p. 26-29, 2010.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUSA, P. E.; ANDRADE, J. E.; VIEIRA, S. S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

HASHEMI, S. R.; DAVOODI, H. *Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition*. **Veterinary Research Communications**, Oxford, v. 35, n. 2, p. 169–180, 2011.

HOOD JR, WILKINSON. J. M.; CAVANAGH. H.M.A. Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research. **J Essent Oil**, v. 15, p. 428-433, 2003.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. Anupdate on alternatives to antimicrobial growth promoter for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n.2, p. 182-188, 2011.

ITO, N. M. K. ; MIYAJI, C. E.; OKABAYASHI, S. M. Saúde intestinal em frangos. **Aviagem Brasil**. 2007. Disponível em: <[http://www.aviagem.com/assets/Tech\\_Center/BB\\_Foreign\\_Language\\_Docs/Portuguese?nove mbro2007- saudeintestinalemfrangosdecorte.pdf](http://www.aviagem.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Portuguese?nove mbro2007- saudeintestinalemfrangosdecorte.pdf)>. Acesso em: 22 fev. 2017.

JAMROZ D.; KAMEL. C. Plant extracts enhance broiler performance. **J. Anim. Sci.**, v. 80, p. 1-41, 2002.

JEURISSEN, S. H. M. et al. Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. **Horizon Scientific Press**, v. 3, p.1-14, 2002.

JONES, F.T.; RICKE, S.C. Observations on the history of the development of antimicrobials and their use en poultry science. **Poultry Science**, v.82, n.4, p.613-612, 2003.

KAMEL, C. **Natural plant extracts: classical remedies bring modern animal production solutions**. Cahiers Options Méditerranéennes, v. 54, p. 31–38, 2001.

KNÖBL, T.; GOMES, T.A.T.; VIEIRA, M.A.A.; BOTTINO, J.A.; FERREIRA, A.J.P. Occurrence of Adhesin-encoding Operons. In: Escherichia Coli Isolated from breeders with salpingitis and chicks with omphalitis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p.140-143, 2006.

KNOWLES, J. R. **Microbial adhesion and its control using natural and synthetic biocides**. United Kingdom: South Bank University London, 2002.

KUHNERT, P.; BOERLIN, P.; FREY, J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment. **Fems Microbiology reviews**, v. 24, n. 1, p. 107-117, 2000.

LA RAGIONE, R. M.; WOODWARD, M. J. Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia. **Research in Veterinary Science**, v. 73, n. 1, p. 27-35, 2002.

LAN, Y.; VERSTEGEN, M.W.A.; TAMMINGA, S.; WILLIAMS, B.A. The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 61, n. 1, p. 95-104, 2005.

LAPARRA, J.M.; SANZ, Y. Interaction of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. **Pharmacological Research**. Philadelphia, v.61, n.3, p. 219-225, 2010.

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.

LEITÃO, G. G. Analysis of the Chemical Composition of the Essential Oils Extracted from *Lippialacunosa* Mart. & Schauer and *Lippiarotundifolia* Cham (Verbenaceae) by Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.19, n. 7, p. 1388-1393, 2008.

LODDI, M. M. Probióticos e prebióticos na nutrição de aves. **Revista CFMV**, Brasília, n. 23, p. 51-56, 2001.

LORENZI H; MATOS F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2002. 252 p.

LU, J. et al. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 6816-6824, 2003.

MACHADO, A. M. B.; Dias, E. S.; Santos, É.C.S.; Freitas, R. T. F. Composto exaurido do cogumelo *Agaricus blazei* na dieta de frangos de corte. **R. Bras. Zootec**, v. 36, p. 1113-1118, 2007.

MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. **V Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, 2004, Chapecó. **Anais...** Paraná. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/anais\\_V\\_bsa\\_Alex.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais_V_bsa_Alex.pdf)>. Acesso em: 23 mar. 2015.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Aditivos melhoradores de desempenho e anticoccidianos registrados na CPAA/DFIP**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/alimentacao/aditivos/aditivos-autorizados>>. Acesso em 13 mar. 2015.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Brasil Projeções do Agronegócio 2011/12 a 2021/22**. Brasília, 2012, 50 p. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15 maio de 2017.

MAY, A. et. al. Influência do intervalo de corte sobre a produção de biomassa de duas espécies de capim limão. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 379-382, 2008.

MENDES, L.P.M.; MACIEL, K.M.; VIEIRA, A.B.R.; MENDONÇA, L.C.V.; SILVA, R.M.F.; ROLIM NETO, P.J.; BARBOSA, W.L.R.; VIEIRA, J.M.S. 21 Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *peperomiapellucida* e *portulaca pilosa*, **Revista de Ciência Farmacêutica Básica**

e **Aplicada**, América do Norte, v. 32, n. 1, p. 1-6, 2011, 21.

MILLEZI, A.F.; CAIXETA, D.S.; ROSSONI, D.F.; CARDOSO, M.G.; PICCOLI, R.H. In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n.1, p. 167-172, 2012.

MITSCHE, P.; ZITTERL-EGLESEER, K.; KOHLER, B.; GABLER, C.; LOSA R., ZIMPERNIK, I. The Effect of Two Different Blends of Essential Oil Components on the Proliferation of *Clostridium perfringens* in the Intestines of Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 83, p. 669–675, 2004.

NAZER, A. I. et al. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv. Typhimurium: a synergistic effect? **Food Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 391-398, 2005.

NOSTRO, A. et al. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol, and thymol. **FEMS Microbiology Letters**, v. 230, n. 3, p. 191-195, 2004.

ORTIZ, R.S; MARRERO, G.V.; NAVARRO, A.L.T. Instructivo técnico del cultivo de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf (caña santa). **Revista de Plantas Medicinales**, v.7, n. 2, 2002.

OVIDO-RONDÓN, E.O. Molecular methods to evaluate effects of feed additives and nutrients in poultry gut microflora. **R. Bras. Zootec.**, v.38, p. 209-225, 2009 (supl. especial).

PEREIRA, R.M. **Diversidade bacteriana de um latossolo sob cultivo intensivo e floresta através da análise metagenômica**. 2003. Dissertação (Mestrado) – UNESP (Universidade Estadual Paulista), Jaboticabal, 2003.

PRINS, C.L. et al. Efeitos de confinamento do sistema radicular sobre capim-limão (*Cymbopogon citratus*). **Revista Ciência Agronômica**. v. 39, n.03, p. 416-421, 2008.

REICHLING, J. et al. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. **Forsch Komplementmed**, v.16, p. 79-90, 2009.

ROSSI, A. A. **Biossegurança em frangos de corte e saúde pública: limitações, alternativas e subsídios na prevenção de salmoneloses**. 2005. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

RUTZ, F.; LIMA, G. J. M. M. O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento no Brasil. **Embrapa Suínos e Aves**, 2001.

SANTANA, E. S.; MENDES, F. R.; BARNABÉ, A. C. S.; OLIVEIRA, F. H.; ANDRADE, M. A. Uso de produtos alternativos aos antimicrobianos na avicultura. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, vol.7, n.13, p.985-1009, 2011.

SANTOS, I. I.; CORÇÃO, G.; KESSLER, A. M. DE.; LARANJEIRA, V. S. DOS.; LIMA, M. S. Microbiota ileal de frangos de corte submetidos a diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, p. 643-647, 2012.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.

SAVIOLLI, J.Y. **Pesquisa e caracterização de *Escherichia coli* patogênica (*E. coli* produtora de toxina Shiga – STEC; *E. coli* aviária patogênica -APEC) de fragatas (*Fregata magnificens*) da Costa do Estado de São Paulo**. 2010. 84 f. Dissertação mestrado. Universidade de São Paulo, 2010.

SHELZ, Z.; MOLNAR, J.; HOHMANN, J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential

oils, **Fitoterapia**, v.77, p.279-285, 2006.

SESTERHENN, R.; FERREIRA, T. Z.; KINDLEIN, L.; MORAES, H. L. S. Impacto econômico de condenações post mortem de aves sob inspeção estadual no estado do Rio Grande do Sul. In: **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2011. **Anais...** Florianópolis, SC, 2011.

SHARMA N, Garg V. Antihyperglycemic and antioxidative potential of hydroalcoholic extract of *Buteamonosperma* Lam flowers in alloxan-induced diabetic mice. **Indian J Exp Biol**, v. 7, p. 571, 2009.

SHIVA, C.; BERNAL, S.; SAUVAIN, M.; CALDAS, J. KALINOWSKI, J.; FALCÓN, N.; ROJAS, R. Evaluación del aceite esencial de orégano (*Origanum Vulgare*) y extracto deshidratado de jengibre (*Zingiber officinale*) como potenciales promotores de crecimiento en pollos de engorde. **Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú**, v. 23, n. 2, p. 160-170, 2012.

SILVA, E.N. Salmonella Enteritidis em aves e saúde pública. **Revista Higiene Alimentar**, v.9, p. 9-12, 1998.

SILVA, J. A.; SILVA, D. da. Escherichia coli enteropatogênica (epec) ao contrário da Escherichia coli comensal, adere, sinaliza e lesa enterócitos. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, n. 3, p. 175-196, 2005.

SILVA, J. P. L.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a Salmonella Enteritidis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.136-141, 2010.

SILVA, Y.L.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F. et al. Redução de proteína e fósforo em rações com fitase para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Desempenho e teores de minerais na cama. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 840-848, 2006.

SIMÕES, C.M.O et al. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5. ed. Porto Alegre: Universidade / UFRGS, 1998.

SOUZA, D.S.; ALMEIDA, A.C.; ANDRADE, V.A.; MARCELO, N.A.; AZEVEDO, I.L.; MARTINS, E.R.; FIGUEIREDO, L.S. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* e *Lippia roduntifolia* frente à enterobactérias isoladas de aves. 2015. Artigo em avaliação pela revista **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** sob protocolo n. 7580/2014.

ULTEE, A.; KETS, E. P. W.; SMID, E. J. Mechanisms of action of carvacrol on the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 4606-4610, 1999.

União Brasileira de Avicultura - UBABEF. **Relatório anual**. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/732e67e684103de4a2117dda9ddd280a.pdf>>. Acesso em: 05 mai. 2017.

WISEK, W. J The mode of growth promotion by antibiotics. **J. Anim. Sci.**, v. 46, p. 1447–1469, 1978.

VIVEROS, A. et al. Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 90, p. 566-578, 2011.

WINDISCH, W.; SCHEDULE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. Use of phyto-genic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science, Champaign**, v. 86, n. 14 Suppl, p. E140-148, 2007.

WISE M. G., SIRAGUSA G. R. Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetable-based diets. **J. Appl. Microbiol**, v. 102, p. 1138–1149, 2007.

ZANINI, S. F.; MUSSI, J. M. S.; ZANINI, M. S. et al. Identificação bioquímica e molecular de *Lactobacillus* spp. isolados do íleo de frangos de corte tratados ou não com antimicrobianos. **Ciência Rural**. v. 42, p. 1648-1654, 2012.

ZHOU, F.; JI, B.; ZHANG, H.; JIANG, H.; YANG, Z.; LI, J.; LI, J.; YAN, W. The antibacterial effect of cinnamaldehyde, thymol, carvacrol and their combinations against the foodborne pathogen *Salmonella typhimurium*. **Journal of Food Safety**, v.27, p.124-133, 2000.

1 **4 ARTIGO**

2

3 **4 .1 ARTIGO - Influência dos óleos essenciais de capim-limão e chá-de-pedestre na saúde**  
4 **intestinal de frangos de corte.**

5 (Este artigo foi elaborado de acordo com as normas da revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária  
6 e Zootecnia)

7

8 \*Edna Helenice de Almeida<sup>(1)</sup>, Ernane Ronie Martins<sup>(1)</sup>, Anna Christina de Almeida<sup>(1)</sup>, Wedson Carlos  
9 Lima Nogueira<sup>(1)</sup>, Izabela Lorena Azevedo<sup>(1)</sup>, Vanessa Kelly Ferreira do Rosário Santos<sup>(1)</sup>, Yhago  
10 Patrycky Antunes Souza Assis<sup>(1)</sup>, Cintya Neves de Souza<sup>(1)</sup>

11

12 <sup>(1)</sup> Instituto de Ciências Agrárias (ICA) – UFMG – Campus Regional de Montes Claros, Avenida  
13 Universitária, 1000, CEP 39404-547 Bairro Universitário, Montes Claros MG, Brasil. e-mail:  
14 ednaelenice@bol.com.br

15

16 **RESUMO:** A busca por produtos naturais que apresentam atividade antimicrobiana tem se intensificado  
17 devido ao surgimento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos. Entre os produtos que podem ser  
18 usados em substituição ao uso dos melhoradores de desempenho, encontram-se os produtos de origem  
19 vegetal como os óleos essenciais, que têm se destacado pela ação antimicrobiana. Assim o presente estudo  
20 foi desenvolvido para avaliar a influência dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) e  
21 chá-de-pedestre (*Lippia* aff. *rotundifolia*) sobre a microbiota intestinal de frangos de corte, alimentados  
22 com dietas contendo óleos essenciais. As dietas consistiram de: ração controle (sem antimicrobiano ou  
23 melhorador de desempenho), ração controle com antibiótico (Enramicina e Salinomicina), ração controle  
24 com 120mg de óleo essencial de capim-limão e ração controle com 120mg de óleo essencial de chá-de-  
25 pedestre. Foram avaliadas a contagem de aeróbios mesófilos, coliformes totais e coliformes termo  
26 tolerantes e a presença de *E.coli* e *Salmonella* sp, nos seguimentos do duodeno, jejuno e íleo. Os óleos  
27 essenciais de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) e chá-de-pedestre (*Lippia* aff. *rotundifolia*) não  
28 promoveram alterações significativas na microbiota intestinal de frangos de corte em comparação aos  
29 grupos controle positivo e controle negativo.

30 **PALAVRAS-CHAVE:** plantas medicinais. Capim-limão. Chá-de-pestre. Avicultura. Óleos essenciais.

31

32 **ABSTRACT:** The search for natural products that presents antimicrobial activity has intensified due to  
33 the appearance of bacterial strains resistant to several antibiotics. Among the products that can be used in  
34 substitution for the use of performance improvement are products of plant origins such as essential oils,  
35 which have been highlighted by the antimicrobial action. Thus the present study was developed to  
36 evaluate the influence of essential oils of lemongrass (*Cymbopogonflexuosus*) and pedestrian tea  
37 (*Lippia*aff. *Rotundifolia*) on the intestinal microbiota in the content of the small intestine of the broilers in  
38 the cut-off period to 1 to 42 days, diets foods containing: ration control diet (Without antimicrobial or

39 performance improver), ration control diet with antibiotic (Enramycin and Salinomycin), control ration  
40 with 120 mg of lemongrass essential oil, control ration with 120 mg of oil Essential of pedestrian tea. The  
41 birds were distributed in a completely randomized design, with four treatments and three replicates. The  
42 count of mesophiles and coliforms and the presence and absence of E.colie, Salmonella, were evaluated.  
43 There were no significant differences between the treatments ( $P < 0.05$ ), so the use of essential oils in  
44 ration to broiler feeds from the 120mg concentration, it did not affect the intestinal microbiota.

45

46 **KEY WORDS:** Essential oils. Lemongrass. Pedestrian tea. Gastrointestinal tract. Poultryfarming.

## 47 **INTRODUÇÃO**

48 O equilíbrio dinâmico existente entre a mucosa intestinal e o conteúdo luminal proporciona  
49 saúde gastrointestinal das aves, permitindo que atinjam o desempenho zootécnico esperado, boa  
50 conversão alimentar e ganho de peso. Portanto é importante manter o trato gastrintestinal saudável, com  
51 características anatômicas e estruturais preservadas e funcionando dentro do limite conhecido como  
52 normal (SILVA, 2010).

53 As enteropatias que acometem as aves possuem causas infecciosas e não infecciosas e suas  
54 interações e combinações podem levar a quadros graves de diarreias ou enterites que comprometem os  
55 processos digestivos. Alguns fatores desencadeadores podem estar relacionados ao hospedeiro como,  
56 sexo, estado imune, linhagem e idade. A composição e tipo de dieta, presença de substâncias  
57 antinutritivas podem comprometer os processos digestivos. Falhas no processo de higiene, qualidade  
58 físico-química e microbiológica da água, desinfecções e o sistema de manejo, podem desencadear as  
59 doenças imunossupressoras das aves (ITO *et al.*, 2009).

60 Para prevenir as enfermidades entéricas é necessário que o sistema digestório apresente  
61 características na sua estrutura que possibilite a ingestão e passagem do alimento no trato. Além disso, as  
62 barreiras existentes no lúmen intestinal são importantes na prevenção de doenças (BOLELI *et al.*, 2002).

63 Para diminuir os prejuízos provocados pela ampla distribuição bacteriana no intestino de aves,  
64 agentes antibacterianos têm sido incorporados na ração animal. São várias as vantagens e benefícios  
65 alcançados por seu uso na manutenção da saúde do trato intestinal das aves como, favorecimento dos  
66 processos de absorção, conversão alimentar e redução da mortalidade. Com a prática do seu uso os  
67 antimicrobianos passaram a ser chamados de promotores de crescimento (BUTAYE *et al.*, 2003).

68 Devido à preocupação com o desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos, a  
69 Comissão Europeia proibiu a inclusão dos melhoradores de desempenho na ração dos animais, conforme  
70 Regulamento CE Nº 1831/2003 (HUYGHEBAERT, 2011). Com a exclusão destes antimicrobianos, as  
71 empresas de produção de carne de frango tiveram que se adaptar, melhorando práticas de gestão e  
72 biossegurança, seleção genética, controle ambiental das instalações, mudanças na composição da dieta e  
73 programa alimentar das aves (COSTA *et al.*, 2011). Para reduzir perdas na produtividade, aditivos  
74 alternativos como as enzimas exógenas, prebióticos, probióticos e compostos fitogênicos e óleos  
75 essenciais estão sendo estudados (ARAÚJO *et al.*, 2007).

76 Os óleos essenciais são substâncias voláteis, insolúveis em água, complexos e viscosos e, em  
77 meio aquoso, podem apresentar turbidez. Em aplicações veterinárias, os produtos extraídos de plantas são  
78 considerados aditivos, demonstrando efeitos benéficos sobre a saúde e desempenho dos animais (HOOD  
79 *et al.*, 2003; HASHEMI; DAVOODI, 2011).

80 O capim-limão (*Cymbopogon flexuosus* L.) é uma planta aromática, produtora de óleo  
81 essencial, tendo como constituintes majoritários o mirceno, geraniol e citral (SIMÕES *et al.*, 1998). Esta  
82 planta já possui seu espaço consolidado no mercado devido à sua ação terapêutica como antiespasmódica  
83 e relaxante da musculatura lisa de cobaias de camundongos, além de apresentar atividade antibacteriana,  
84 fungicida e antimicrobiana contra a *S. aureus* e *E. coli* isoladas de aves (CASTRO; RAMOS, 2002; MAY  
85 *et al.*, 2008; ADUKWU *et al.*, 2012).

86 O Chá-de-pedestre (*Lippia* aff. *rotundifolia*) espécie também aromática, apresenta o  $\beta$ -mirceno  
87 e o farnesol como compostos majoritários (LEITÃO *et al.*, 2008). Possui atividade antimicrobiana contra  
88 *S. aureus* e *E. coli* isoladas de aves (SOUZA *et al.*, (2015). Também atua como nutracêutico quando  
89 adicionado na ração, promovendo o desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte  
90 (AZEVEDO *et al.*, 2015).

91 De acordo Dorman e Deans (2000), o efeito antimicrobiano dos óleos essenciais ocorre devido  
92 ao efeito que o óleo exerce na estrutura da parede da célula bacteriana, promovendo a desnaturação e  
93 coagulação das proteínas. Embora essas espécies vegetais possuam ações antimicrobianas, são poucos os  
94 estudos com os óleos essenciais como aditivos naturais na nutrição animal. Por isso faz-se necessário  
95 aprofundar o conhecimento acerca de suas ações na microbiota intestinal dos frangos de corte. Para tanto,  
96 objetivou-se avaliar a influência dos óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) e chá-de-  
97 pedestre (*Lippia* aff. *rotundifolia*) na microbiota intestinal de frangos de corte.

98

## 99 MATERIAL E MÉTODOS

100

### 101 Criação das aves e Coleta das amostras

102

103 O experimento foi conduzido no setor de avicultura do ICA/UFMG, entre os meses de janeiro a  
104 fevereiro de 2015. O material experimental foi cedido do projeto nº. 277 / 2015 (Qualidade de carcaça,  
105 perfil metabólico e hematológico de frangos de corte alimentados com ração contendo óleos essenciais).  
106 Selecionou-se 150 pintos de um dia de idade da linhagem Coob500, mistos, alojados em 30 gaiolas (60 ×  
107 35 × 100 cm) com comedouros e bebedouros. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente  
108 casualizado com quatro tratamentos e três repetições de 10 animais. Os tratamentos foram: 1) Controle  
109 negativo - ração formulada conforme níveis nutricionais recomendados por Rostagno *et al.*(2011), sem  
110 antimicrobiano ou melhorador de desempenho; 2) controle positivo - ração suplementada com 10 ppm de  
111 enramicina e 42 ppm de salinomicina; 3) capim-limão - ração com 120mg de óleo essencial de capim-  
112 limão para cada kg<sup>-1</sup> de peso vivo dos animais; 4) chá-de-pedestre -ração com 120mg de óleo essencial de  
113 chá-de-pedestre para cada kg<sup>-1</sup> de peso vivo dos animais. A dose utilizada no experimento foi definida a



114 partir da atividade antimicrobiana apresentada pelos óleos essenciais de chá-de-pedestre (SOUZA *et al.*,  
115 2015) e capim-limão (AZEVEDO *et al.*, 2015) em avaliações *in vitro* preliminares.

116 O planejamento nutricional foi dividido em quatro fases: pré-inicial (01 a 07 dias), inicial (08 a  
117 21 dias), crescimento (22 a 33 dias) e final (34 a 42 dias), sendo as rações fornecidas à vontade durante  
118 todo o período experimental, na forma farelada, conforme apresentado na Tab. 1.

119 Tabela I - Composição das dietas experimentais

Ingrediente	Pré-inicial	Inicial	Crescimento	Final
Milho (%)	51,7800	54,1000	57,1890	60,2600
Farelo de soja 46% (%)	40,6000	37,4900	33,7500	30,2000
Óleo de soja (%)	3,4840	4,4940	5,1530	5,6520
Fosfato bicálcico (%)	1,9230	1,5710	1,3380	1,1180
Calcário calcítico (%)	0,8750	0,9100	0,8650	0,7780
Sal comum (%)	0,5080	0,4830	0,4580	0,4460
DL-Metionina (%)	0,1720	0,1470	0,1420	0,1320
L-Lisina (%)	0,0970	0,0640	0,0750	0,1020
Cloreto de colina (%)	0,0625	0,0550	0,0500	0,0375
Premix min. (%) <sup>(1)</sup>	0,0500	0,0500	0,0500	0,0500
Premix vit. (%) <sup>(2)</sup>	0,0500	0,0400	0,0300	0,0200
Inerte (%)	0,4000	0,6000	0,9000	1,2000
<b>Total (%)</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Aditivos</b>				
Coccidiostático (%) <sup>(3)</sup>	0,0500	0,0500	0,0500	0,0500
Antimicrobiano (%) <sup>(4)</sup>	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125
OE capim-limão (%) <sup>(5)</sup>	0,0220	0,2100	0,5000	0,6330
OE chá-de-pedestre (%) <sup>(5)</sup>	0,0220	0,2100	0,5000	0,6330
OE capim-limão/chá-de-pedestre (%) <sup>(6)</sup>	0,011	0,105	0,251	0,317
<b>Nutrientes</b>				
PB (%)	22,47	21,25	19,84	18,43
EM (Kcal/kg <sup>-1</sup> )	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

<sup>(1)</sup>Premix Mineral contendo por kg<sup>-1</sup> do produto: Cu (mín) 15 g.kg<sup>-1</sup>; Fe (mín) 100 g.kg<sup>-1</sup>; Mn (mín) 140 g.kg<sup>-1</sup>; Zn (mín) 100 g.kg<sup>-1</sup>; I (mín) 2.400 mg.kg<sup>-1</sup>; Se (mín) 400 mg.kg<sup>-1</sup>; inclusão de 500g/t de ração. <sup>(2)</sup>Premix Vitamínico Inicial contendo por kg<sup>-1</sup> do produto: Vit. A (mín) 14.000.000.00 UI.kg<sup>-1</sup>; Vit. D3 (mín) 4.400.000.00 UI.kg<sup>-1</sup>; Vit. E (mín) 22.000.00 UI.kg<sup>-1</sup>; Vit. K3 (mín) 3.200.00 mg.kg<sup>-1</sup>; Vit. B1 (mín) 4.000.00 mg.kg<sup>-1</sup>; Vit. B2 (mín) 10.000.00 mg.kg<sup>-1</sup>; Vit. B6 (mín) 6.000.00 mg.kg<sup>-1</sup>; Vit. B12 (mín) 24.000.00 mcg.kg<sup>-1</sup>; Niacina (mín) 70.00 g.kg<sup>-1</sup>; Ácido Pantotênico (mín) 26.00 g.kg<sup>-1</sup>; Ácido Fólico (mín) 1.600.00 g.kg<sup>-1</sup>; inclusão de 500g/t de ração. Premix Vitamínico de Crescimento contendo por kg<sup>-1</sup> do produto: Vit. A (mín) 12.000.000.00 UI.kg<sup>-1</sup>; Vit. D3 (mín) 4.000.000.00 UI.kg<sup>-1</sup>; Vit. E (mín) 20.000.00 UI.kg<sup>-1</sup>; Vit. K3 (mín) 3.200.00 mg.kg<sup>-1</sup>; Vit. B1 (mín) 2.800.00 mg.kg<sup>-1</sup>; Vit. B2 (mín) 8.000.00 mg.kg<sup>-1</sup>; Vit. B6 (mín) 4.000.00 mg.kg<sup>-1</sup>; Vit. B12 (mín) 20.000.00 mcg.kg<sup>-1</sup>; Niacina (mín) 60.00 g.kg<sup>-1</sup>; Ácido Pantotênico (mín) 22.00 g.kg<sup>-1</sup>; Ácido Fólico (mín) 1.200.00 g.kg<sup>-1</sup>. <sup>(3)</sup>Coccidiostático Salinimicina para todas as fases, na quantidade 500 g/t de ração. <sup>(4)</sup>Antimicrobiano Enramicina para todas as fases, na quantidade 125 g/t de ração. <sup>(5)</sup>Óleo essencial de *C. Cymbopogon flexuosus/Lippia rotundifolia* nos tratamentos correspondentes. <sup>(6)</sup>Quantidade de cada um dos óleos essenciais no tratamento "associação".

120

121 Fonte: AZEVEDO *et al.* (2017).

122

123 O óleo essencial de capim-limão foi adquirido junto à empresa Ferquima Indústria e Comércio  
124 LTDA (Vargem Grande Paulista, SP, Brasil) e o óleo de chá-de-pedestre, adquirido de produtores da  
125 Fundação Universidade do Vale do Jequitinhonha Cooperativa (Serro, distrito de São Gonçalo do Rio das  
126 Pedras, Minas Gerais, Brasil), ambos extraídos pelo método de arraste à vapor e acondicionados em  
127 frascos de 500ml. Os óleos passaram pela análise de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de  
128 massas (CG-EM). Posteriormente, os óleos foram convertidos em microcápsulas pela empresa Croma  
129 Microencapsulados (São Paulo, SP-Brasil), pelo método de coacervação com polímeros comestíveis,  
130 visando evitar perda dos óleos por volatilização, bem como minimizar odor e sabor desagradáveis na  
131 ração (AZEVEDO *et al.*, 2017). Após a microencapsulação e inclusão na ração, foi realizada nova análise  
132 na qual os compostos voláteis dos óleos foram extraídos por headspace estático e analisados por CG-EM.  
133 Aos 43 dias foram selecionadas duas aves de cada parcela experimental macho e fêmeas, com peso até  
134 10% acima ou abaixo da média que foram abatidas, após jejum de 8 horas, por sangria na veia jugular,  
135 deparadas, escaldadas e evisceradas.

135

136 Após o abate, foram coletados assepticamente material presente no conteúdo intestinal de partes  
137 do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte. De cada ave foram coletadas três amostras, totalizando  
138 vinte e quatro amostras por tratamento e setenta e duas no total. As amostras foram transferidas para  
139 frascos de coleta devidamente identificados, acondicionados e mantidos sob refrigeração para análise.

139

#### 140 **Procedimentos microbiológicos**

141

142 As metodologias utilizadas nas análises microbiológicas foram realizadas de acordo com  
143 métodos descritos por Silva e Junqueira (2010).

144

145 Para análise de coliformes, foram pesadas 5 gramas (g) da amostra e adicionados 4,5 ml de água  
146 peptonada, obtendo a diluição  $10^{-1}$ . A seguir foram realizadas as diluições decimais seriadas até obter a  
147 diluição  $10^{-6}$ .

147

148 Para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas foram retiradas assepticamente 1 mL das  
149 amostras das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e pipetadas em placas de Petri, em duplicata e  
150 esterilizadas, contendo o meio PCA (Ágar Padrão para Contagem), utilizando *swabs* para fazer  
151 estriamentos na superfície das placas. As placas foram incubadas em posição invertida a 37°C por 24 h.  
152 Transcorrido o tempo de incubação, foram consideradas para contagem somente as placas da mesma  
153 diluição que apresentaram de 25-250 colônias. A contagem foi feita multiplicando a média aritmética das  
154 mesmas pelo respectivo fator de diluição e expresso o resultado em Unidades Formadoras de colônia de  
155 amostra (UFC/g).

155

156 Para análise de coliformes totais e coliformes a 45 °C, dos tubos com diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$   
157 foram transferidos para três séries de tubos contendo o caldo Verde Brilhante com tubos de fermentação  
(tubos de Durham) para pesquisa de coliformes e incubados à 35°C por 24 h. A positividade do teste é

158 observada quando ocorre a produção de gás no interior dos tubos. Foi anotado o número de tubos Verde  
159 Brilhante com gás confirmativo de coliformes totais e determinado o NMP/g em tabela de NMP  
160 apropriada às diluições inoculadas, sendo o resultado expresso em NMP de coliformes totais g<sup>-1</sup>. Dos  
161 tubos com gás confirmativo, foi passada uma alçada para o Caldo E.C., contendo tubos de Durham e  
162 incubado a 45°C por 24 h. A positividade do teste foi observada pela formação de gás no interior dos  
163 tubos de fermentação (tubos de Durham).

164 Toda subcultura positiva em caldo EC foi repicada para ágar Eosina Azul de Metileno - EMB  
165 com a alça de platina, fazendo estrias (por esgotamento). Para cada tubo positivo de EC corresponde uma  
166 placa de ágar EMB identificada. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas. Transcorrido este tempo,  
167 verificou-se o crescimento de colônias características de *E.coli*, ou seja, colônias com 2 a 3 mm de  
168 diâmetro, com brilho metálico esverdeado correspondente a cada tubo. Das placas positivas foram  
169 retiradas de 2 a 3 colônias e repicadas para tubos Rugai que foram incubadas à 37°C por 24 horas. A  
170 identificação positiva foi feita utilizando provas bioquímicas do IMViC (Indol, Vermelho de Metila,  
171 Voges- Proskauer e Citrato).

172 Na pesquisa de *Salmonella* sp. foi utilizado o enriquecimento seletivo, onde alíquotas de 0,1 e  
173 1ml dessa cultura pré-enriquecida foram transferidas, respectivamente, para tubos contendo 10ml do  
174 meio líquido Rappaport-Vassiliadis e tubos contendo 10 ml de meio líquido selenitocistina. Esses tubos  
175 foram incubados a 37°C por período de 24 h. Após esse período, constatado o turvamento, foram retiradas  
176 assepticamente uma alçada da amostra, utilizando alça de níquel-cromo e semeadas em placas contendo  
177 os meios seletivos indicadores: Salmonella Shigella, Bismuth Sulphite Xilose Lisina Desoxicolato e  
178 incubadas por 24 h sob a temperatura de 37°C. A leitura foi considerada positiva quando ocorreu  
179 crescimento nas três placas de Petri inoculadas.

180

### 181 **Análise estatística**

182

183 Os resultados das análises microbiológicas de contagem de Mesófilos e Coliformes, presença e  
184 ausência de *E.coli* e *Salmonella* sp. foram submetidos à análise de variância e as médias foram  
185 comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

186

### 187 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

188

189 Os óleos essenciais apresentaram semelhanças quanto ao seu potencial frente às espécies  
190 bacterianas estudadas. Quando comparados entre si, verificou-se que os óleos de capim-limão e chá-de-  
191 pedestre, não demonstraram diferenças estatísticas quanto ao seu poder inibidor sobre a *E. coli*,  
192 *Salmonella* sp, mesófilos e coliformes totais. Não houve aumento expressivo na taxa de crescimento dos  
193 microrganismos em comparação com os grupos controle, possivelmente devido à presença de compostos  
194 ativos nos óleos estudados, que podem ter interferido na síntese de algumas enzimas nas bactérias e  
195 provocado danos à estrutura das paredes bacterianas provocando sua morte ou inativação.

196 Pela análise da Tab. 1, observou-se que os resultados obtidos das amostras dos conteúdos  
197 intestinais do duodeno, jejuno e íleos de frangos de corte, alimentados com ração contendo óleos  
198 essenciais de capim-limão e chá-de-pedestre, foi ausente para todos os tratamentos e em todos os  
199 segmentos na pesquisa de *E. coli* e *Salmonella* sp., não apresentando contagem significativa de coliformes  
200 totais e mesófilos.

201 A ausência da *E. coli*, que é um parasito intestinal encontrado na microbiota de aves, pode ser  
202 justificada pela ação dos óleos essenciais, que em associação com o grupo controle positivo, pode ter  
203 interferido na composição da microbiota intestinal, o que justifica a ausência nas amostras do conteúdo do  
204 duodeno, jejuno e íleo dos frangos.

205 A presença dos compostos ativos e o potencial antimicrobiano dos óleos já foram demonstrados  
206 pelos autores Azevedo *et al.* (2015) que, avaliando a atividade antimicrobiana do óleo essencial de  
207 *Cymbopogon flexuosus* frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* entéricas isoladas de *Gallus*  
208 *gallus domesticus*, evidenciaram o efeito antimicrobiano, na concentração de 160  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e (SOUZA *et*  
209 *al.*, 2015). Os mesmos autores observaram atividade antimicrobiana da *Lippia* aff. *rotundifolia* frente a  
210 entero-bactérias isoladas de aves, demonstrando maior eficácia na concentração de 160  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

211 O uso do antibiótico também não afetou a microbiota, pois os animais foram criados em  
212 excelentes condições de manejo e ambientais e receberam alimentação conveniente. O efeito benéfico dos  
213 antibióticos foi maior em condições de campo, onde apresentou melhor resposta em relação às estações  
214 experimentais. Portanto o uso dos melhoradores de desempenho deve ser avaliado, pois dependendo do  
215 sistema de produção, não há necessidade do seu uso.

216 Os óleos essenciais não apresentaram efeitos positivos ou negativos sobre a microbiota dos  
217 animais, não afetando nem mesmo em relação ao grupo controle, sugerindo avaliar as condições  
218 sanitárias do ambiente criatório antes de recomendar o uso dos melhoradores de desempenho.

219 Tabela 2 - Contagem de microrganismos no trato gastrointestinal de frangos de corte alimentados com  
 220 ração contendo óleos essenciais de *Cymbopogon flexuosus* e *Lippia aff rotundifolia*  
 221

Variável	Controle Negativo <sup>(1)</sup>	Controle Positivo <sup>(2)</sup>	Raç+OCf <sup>(3)</sup>	Raç+OLr <sup>(4)</sup>	P-Valor
Duodeno					
Mesófilo (UFC/g)	5,73ns	5,65ns	7,03ns	6,65ns	0,385
Coliformes Totais (UFC/g)	1,33ns	2,16ns	1,40ns	1,47ns	0,3134
<i>Eschericia coli</i> (UFC/g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	-
<i>Salmonella</i> sp.	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	-
Jejuno					
Mesófilo (UFC/g)	5,73ns	6,76ns	7,03ns	6,65ns	0,454
Coliformes Totais (UFC/g)	1,40ns	1,89ns	1,42ns	1,47ns	0,752
<i>Eschericia coli</i> (UFC/g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	-
<i>Salmonella</i> sp.	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	-
Íleo					
Mesófilo (UFC/g)	4,01ns	5,51ns	6,34ns	5,87ns	0,788
Coliformes Totais (UFC/g)	1,47ns	1,80ns	1,89ns	1,47ns	0,495
<i>Eschericia Coli</i> (UFC/g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	-
<i>Salmonellasp.</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	-

222 ns- Não significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>(1)</sup>Ração controle negativo, sem aditivos. <sup>(2)</sup>Ração  
 223 controle positivo, com antimicrobiano e anticoccidiano. <sup>(3)</sup>Ração controle + óleo essencial de  
 224 *Cymbopogon flexuosus*. <sup>(4)</sup>Ração controle + óleo essencial de *Lippia aff. rotundifolia*.

225

226 Fonte: Do autor, 2017.

227

228 As condições experimentais não permitiram observar os efeitos dos óleos de chá-de-pedestre e  
 229 capim-limão, pois o tratamento com antibiótico se comparou aos demais e ao controle negativo (sem  
 230 antibióticos ou óleo essencial). De acordo com Freitas *et al.* (2001), os melhoradores de desempenho  
 231 expressam melhores resultados e seus objetivos são percebidos quando os animais passam por condições  
 232 de desafios sanitários, riscos de contaminação, alta densidade populacional ou exposição a doenças. O  
 233 mesmo se aplica à utilização dos óleos essenciais.

234 Cross *et al.* (2007) não identificaram aplicação na totalização de bactérias da microbiota  
 235 intestinal entre o grupo controle e os demais tratamentos contendo extratos ou óleos essenciais de  
 236 manjerição, alecrim e tomilho. Resultado semelhante foi obtido por Kirkpinar *et al.* (2011), não  
 237 encontraram diferença significativa para quantidade de coliformes intestinais em frangos que receberam  
 238 óleo essencial de alho, orégano e orégano mais alho, comparados aos frangos do tratamento controle.

239 Combinações entre produtos naturais e medicamentos sintéticos são poucos relatados. O efeito

240 sinérgico entre a gentamicina e a *Croton zehntneri* (Canela de Cunhã), sugerem que o óleo essencial,  
241 pode suprimir e impedir o desenvolvimento e crescimento de patógenos, podendo ser utilizado como  
242 terapia contra microrganismos (RODRIGUES *et al.*, 2009).

243       Trabalhos revisados por Menten (2001), utilizando antibióticos, revelaram que em 28% dos  
244 experimentos não foram observadas respostas no desempenho dos animais, o que indica que a análise de  
245 poucas pesquisas pode interferir no resultado do promotor testado, e para obter resultado efetivo, são  
246 necessários que os animais passem por condições experimentais com desafio sanitário próximo à  
247 realidade do campo, onde é possível observar baixa sanidade. Nas pesquisas realizadas no Brasil,  
248 observou-se que as respostas ao uso dos antibióticos nos alimentos utilizados por frangos de corte foram  
249 de baixa magnitude, a maioria não foi significativa e, em alguns casos, a resposta foi negativa,  
250 confirmando assim os resultados encontrados neste experimento, onde não foram observadas diferenças  
251 estatísticas em nenhum dos tratamentos.

252       Azevedo *et al.* (2017), na etapa inicial do mesmo estudo, analisando o efeito dos óleos essenciais  
253 de capim-limão e chá-de-pedestre sobre desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte,  
254 perceberam que o peso corporal, conversão alimentar, eficiência produtiva, consumo de ração, não  
255 diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Portanto, as boas condições de manejo e higiene durante a  
256 criação dos animais podem ter contribuído para que estes apresentassem baixa carga de microrganismos  
257 patogênicos no intestino, não demonstrando agravamento do estado, mesmo no controle negativo. A  
258 mortalidade (0,0%) e a viabilidade criatória (100%) comprovam as boas condições da criação durante o  
259 experimento.

260       Outro aspecto que deve ser considerado é o fato de ter ocorrido competição patogênica  
261 insignificante, pois os tratamentos não demonstraram ação expressiva, e os óleos não interferiram nos  
262 resultados encontrados na pesquisa. A explicação é o fato que os animais utilizados no experimento foram  
263 criados em condições profiláticas boas e com mínimo de estresse, não ocorrendo aumento no número de  
264 bactérias suficientes para provocar desequilíbrio na microbiota das aves.

265       A microbiota presente no trato intestinal está diretamente ligada à saúde dos animais. Processos  
266 nutricionais são afetados pelos microrganismos presentes no trato gastrointestinal. Microrganismos  
267 benéficos melhoram os processos absorptivos dos nutrientes, reduzem produção de gases, e inibem o  
268 desenvolvimento de microrganismos patogênicos. Essas infecções acontecem quando ocorrem  
269 desequilíbrios da microbiota intestinal benéfica, favorecendo o desenvolvimento de bactérias nocivas,  
270 provocando prejuízo da saúde intestinal da ave (MAIORKA, 2004).

271       De acordo com Jamroz e Kamel (2002), a suplementação com óleos essenciais favorecem os  
272 processos digestivos dos alimentos e o equilíbrio da microbiota, impedindo a adesão de patógenos no  
273 epitélio intestinal. Bona *et al.* (2012), analisando o composto vegetal contendo óleo essencial de orégano,  
274 alecrim, canela e extrato de pimenta vermelha, apresentou efeito no controle da colonização por  
275 *Clostridium perfringens* no ceco de aves e diminuiu a excreção de *Salmonella* em frangos de corte,  
276 demonstraram ainda que o composto vegetal reduziu as lesões de *E. máxima* e *E. tenella* e a excreção de  
277 *Salmonella*.

278 Portanto, existe dificuldade em comparar os estudos científicos utilizando os aditivos, uma vez  
279 que os trabalhos utilizam promotores de crescimento em diferentes dosagens e formas de administração,  
280 além das demais condições experimentais diversas. Freitas (2001), comparando resultados da  
281 suplementação de alho na ração e o uso dos melhoradores de desempenho em aves, concluiu que devido  
282 às boas condições de criação, não foram observadas diferenças significativas entre os promotores usados  
283 na ração das aves. De acordo com Menten (2001), o uso de antibióticos promotores de crescimento na  
284 ração sobre a microbiota de animais, não diminui a quantidade de microrganismos no trato intestinal dos  
285 animais tratados. O número de bactérias não sofre alterações, mas podem ocorrer mudanças na proporção  
286 de várias espécies.

287 Diversos fatores, tanto endógenos, quanto exógenos podem afetar o equilíbrio da microbiota. O  
288 tipo de manejo pode interferir nos resultados encontrados, a dieta de alta qualidade pode ter permitido que  
289 as aves desenvolvessem todo seu potencial genético. Dietas altamente digestíveis impedem ou limitam o  
290 desenvolvimento das bactérias no trato intestinal, devido à diminuição de substratos disponíveis ao  
291 crescimento bacteriano. O mesmo pode acontecer com animais criados em instalações com boas  
292 condições de higiene, manejo e desafio sanitário (LEE *et al.*, 2003).

293 Outro aspecto a ser considerado é a característica hidrofóbica dos óleos estudados, que por sua  
294 ação, podem ter interagido com a membrana celular bacteriana, perturbado a estrutura celular e  
295 provocado extravasamento do seu conteúdo (Burt, 2004). Alguns óleos essenciais possuem a capacidade  
296 de penetrar a camada lipídica, interferindo assim na ação sobre o microrganismo (BERTINI *et al.*, 2005).

297

## 298 CONCLUSÃO

299

300 Os óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) e chá-de-pedestre (*Lippia* aff.  
301 *rotundifolia*) não promoveram alterações significativas na microbiota intestinal de frangos de corte em  
302 comparação aos grupos controle positivo e controle negativo.

303

## 304 AGRADECIMENTO

305

306 Ao CNPq, à UFMG/PRPq, à CAPES e à Fapemig, pelo apoio financeiro concedido.

307

### Comitê de ética

308

### Certificado

309

Certificamos que o Protocolo nº. 277 / 2015, relativo ao projeto intitulado “QUALIDADE DE

310

CARÇAÇA, PERFIL METABÓLICO E HEMATOLÓGICO DE FRANGOS DE CORTE

311

ALIMENTADOS COM RAÇÃO CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS”, que tem como responsável

312

ANNA CHRISTINA DE ALMEIDA, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal,

313

adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), tendo sido aprovado na reunião de

314

05/10/2015. Este certificado espira-se em 05/10/2020.

315 **REFERÊNCIAS**

- 316 ARAÚJO, J. C.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, M. R., LIMA, C. B. Uso de aditivos na  
317 alimentação de aves. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, v.1, n. 3, p. 69-77, 2007.
- 318 AZEVEDO, I. L. et al. Use of *Lippia rotundifolia* and *Cymbopogon flexuosus* essential oils, individually  
319 or in combination, in broiler diets. **R. Bras. Zootec**, vol. 46, n. 1, 2017.
- 320 AZEVEDO, I.L. et al. **Uso dos óleos essenciais de capim-limão e chá-de-pedestre na alimentação de**  
321 **frangos de corte** .2015. Dissertação ( Mestrado em Produção Animal) - Instituto de Ciências Agrárias,  
322 Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2015.
- 323 BERTINI, L.M. et al. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do  
324 nordeste do Brasil. **Revista Infarma**, v.17, n.314, p.80-3, 2005.
- 325 BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.;  
326 FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep,  
327 2002. cap.5, p.75-95.
- 328 BONA, T. D.M.M.; PICKLER, L.; B. MIGLINO, L.B.; N. KURITZA, L.N.; P. VASCONCELOS, S.P.;  
329 SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de Salmonella,  
330 Eimeria e Clostridium em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n.5, p. 411-418, maio  
331 2012.
- 332 BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a  
333 review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.
- 334 BUTAYE, P. et al. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well know  
335 antibiotics on Grampositive bacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.2, p.175-188, 2003.
- 336 COSTA, P.M.; OLIVERIA, M.; RAMOS, B.; BERNARDO,F. The impacto of antimicrobial use in  
337 broiler chicken son growth performance and the occurrence of antimicrobial resistant Escherichia coli.  
338 **Livestock Science**, Foulum, v. 136, p. 262-269, 2011.
- 339 CROSS, D.E.; McDevitt, R.M.; Hillman, K.; Acamovic T. The effect of herbs and their associated  
340 essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of  
341 age. **Braz. Poultry Sci.**, v. 48, p. 496-506, 2007.
- 342 DI PASQUA, R. et al. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced. **Journal**  
343 **Agricultural Food Chemistry**, London, v. 54, n. 7, p. 2745-2749, 2006.
- 344 FREITAS, R.; FONSECA, J. B.; SOARES, R. T. R. N.; ROSTAGNO, H. S.; SOARES, P. R. Utilização  
345 do alho (*Allium sativum L.*) como promotor de crescimento de frangos de corte. **Revista Brasileira de**  
346 **Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 761-765, 2001.
- 347 HUYGHEBAERT,G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. Anupdate on alternatives to  
348 antimicrobial growth promoter for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n.2, p. 182-188, 2011.
- 349 ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; MIYAJI, S. O.; LIMA, E. A. Fisiopatologia do sistema digestório e  
350 anexos. In: Berchieri Júnior, A.; Silva, E. N.; Di Fábio, J.; Sesti, L.; Zuanaze, M. A. F. **Doença das aves**.  
351 Campinas: FACTA, p. 215-264, 2009.
- 352 JAMROZ D.; KAMEL. C. 2002. Plant extracts enhance broiler performance. **J. Anim. Sci**, v. 80, p. 1-41,  
353 2002.
- 354 KIRKPINAR, F.; ÜNLÜ, H.B.; ÖZDEMİR, G. Effects of oregano and garlic essential oils on  
355 performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. **Livestock**  
356 **Science**, v. 137, p. 219-225, 2011.



- 357 LEE, K. W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H. J.; FREHNER, M.; LOSA, R.; BEYNEN, A.C. Effects of  
358 dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in  
359 female broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 44, n. 3, p. 450-457, 2003.
- 360 MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. **V Simpósio Brasil Sul de**  
361 **Avicultura**, 2004, Chapecó. **Anais...** Paraná. Disponível em:  
362 <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/anais\\_V\\_bsa\\_Alex.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais_V_bsa_Alex.pdf)>. Acesso em: 23 mar. 2015.
- 363 RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M. Sinergy effects of the antibiotics  
364 gentamicin and the essencial oil of *Croton zehntneri*. **The Free Library**, 2009.
- 365 SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise**  
366 **Microbiológica de Alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.
- 367 SILVA, P. L. Enterites bacterianas: atenção especial para enterites inespecíficas. **Informativo técnico**  
368 **Farmabase**, p. 1-4, 2010.
- 369 SOUZA, D.S.; ALMEIDA, A.C.; ANDRADE, V.A.; MARCELO, N.A.; AZEVEDO, I.L.; MARTINS,  
370 E.R.; FIGUEIREDO, L.S. **Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* e *Lippia***  
371 ***roduntifolia* frente à enterobactérias isoladas de aves**. 2015. Artigo em avaliação pela revista *Arquivo*  
372 *Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* sob protocolo n. 7580/2014.