

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS EM  
FRANGOS DE CORTE DE CRESCIMENTO LENTO DESAFIADOS  
COM *Salmonella* Heidelberg**

Lorena Cunha Mota

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Nadja Susana Mojyca Leandro

GOIÂNIA

2019

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR  
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES  
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFMG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico:     Dissertação     Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

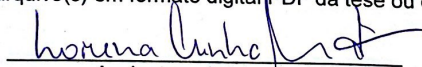
Nome completo do autor: LORENA CUNHA MOTA

Título do trabalho: **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS EM FRANGOS DE CORTE DE CRESCIMENTO LENTO DE-SAFIADOS COM *Salmonella* Heidelberg**

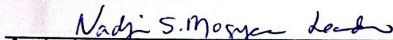
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

  
Assinatura do(a) autor(a)<sup>2</sup>

Ciente e de acordo:

  
Assinatura do(a) orientador(a)<sup>2</sup>

Data: 03 /07 /19

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

<sup>2</sup> A assinatura deve ser escaneada.

LORENA CUNHA MOTA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS EM  
FRANGOS DE CORTE DE CRESCIMENTO LENTO DESAFIADOS  
COM *Salmonella* Heidelberg**

Tese apresentada como requisito parcial  
para a obtenção do título de doutora em  
Zootecnia junto à Escola de Veterinária e  
Zootecnia da Universidade Federal de Goiás

**Área de Concentração:**

Produção animal

**Orientadora:**

Prof. Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro  
– UFG

**Comitê de Orientação:**

Prof. Dra. Alessandra Gimenez  
Mascarenhas - UFG

Prof. Dra. Maria Auxiliadora Andrade –  
UFG

GOIÂNIA

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

CUNHA MOTA, LORENA  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS EM FRANGOS DE CORTE DE CRESCIMENTO LENTO DESAFIADOS COM Salmonella Heidelberg [manuscrito] / LORENA CUNHA MOTA. 2019.  
16, 86 f.

Orientador: Profa. Dra. NADJA SUSANA MOGYCA LEANDRO; co-orientadora Dra. ALESSANDRA GIMENEZ MASCARENHAS; co orientador MARIA AUXILIADORA ANDRADE.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, 2019.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, lista de tabelas.

1. antimicrobianos. 2. aditivos fitogênicos. 3. frango caipira. 4. salmonelose. 5. avicultura. I. MOGYCA LEANDRO, NADJA SUSANA , orient. II. Título.

CDU 635

1 ATA NÚMERO 32 DA SESSÃO DE JULGAMENTO DA DEFESA DE **DOCTORADO** DO  
2 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA DA ESCOLA DE VETERINÁRIA  
3 E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS, realizada por **LORENA**  
4 **CUNHA MOTA**. Aos **08/03/2019** a partir das **14h00min**, na sala de Reuniões do Departamento  
5 de Zootecnia da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, nesta  
6 Capital, realizou-se a sessão pública de Defesa de Doutorado apresentado (a) pelo (a) Pós-  
7 Graduando (a) **LORENA CUNHA MOTA**, intitulada “**Atividade antimicrobiana de extratos**  
8 **vegetais em frangos de corte de crescimento lento desafiados com salmonella heidelberg**”,  
9 para obtenção do **Título de Doutor em Zootecnia**, junto à Área de Concentração: **Produção**  
10 **Animal** desta Universidade. Os trabalhos foram instalados pelo (a) Presidente da Comissão  
11 Julgadora, Orientador (a) **Profa. Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro**, com a participação dos  
12 demais membros da Banca Examinadora **Prof. Dra. Francislete Rodrigues Melo – CEUB;**  
13 **Prof. Dr. Romão da Cunha Nunes; Prof. Dr. Marcos Barcellos Café e Profa Dra. Heloisa**  
14 **Helena de Carvalho Mello**. Iniciando os trabalhos, o Presidente concedeu a palavra ao (a)  
15 candidato (a) **LORENA CUNHA MOTA** para exposição em **cinquenta** minutos do seu  
16 trabalho. A seguir, o senhor Presidente concedeu a palavra, pela ordem, aos demais membros da  
17 banca, os quais passaram a arguir o (a) candidato (a), durante o prazo máximo de **trinta**  
18 **minutos**, assegurando-se ao mesmo, igual prazo para responder aos Senhores Membros da  
19 Banca Examinadora. Ultimada a arguição, que se desenvolveu nos termos regimentais, a  
20 Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o (a) candidato (a)  
21 APROVADA (**Aprovado/Reprovado**) pelos seus membros. Proclamados os  
22 resultados da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar lavrou-se a  
23 presente ata que, após lida e achada conforme vai assinada pelos membros da Banca  
24 Examinadora.

**BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro (Orientador(a))

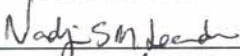

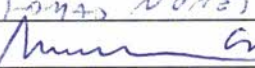
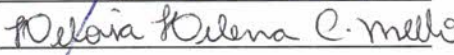
Prof. Dra. Francislete Rodrigues Melo – CEUB

Prof. Dr. Romão da Cunha Nunes

Prof. Dr. Marcos Barcellos Café

Profa Dra. Heloisa Helena de Carvalho Mello

**ASSINATURA**

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da tese:

---

---

---

---

Dedico a todos aqueles que me incentivaram

A continuar e nunca parar.

## AGRADECIMENTOS

À Deus por me proporcionar tudo que precisei para concluir este trabalho.

À Universidade Federal de Goiás, a Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e a Capes pela oportunidade concedida.

À empresa Avifram por ter concedido os frangos de linhagem de crescimento lento para realização dessa pesquisa.

À Professora Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro pelos ensinamentos, orientação, apoio na condução do trabalho e por ter me acolhido com muito carinho, amizade, paciência e tempo dedicados a mim, a ela tenho profundo respeito e admiração e carinho.

À professora Maria Auxiliadora Andrade por prontamente oferecer suporte e parceria na condução dessa pesquisa.

Ao professor Dr. Romão da Cunha Nunes pela orientação, paciência, compreensão e por tantos ensinamentos que carregarei por toda vida.

À professora Alessandra Gimenez Mascarenhas por todo auxílio, compreensão, ensinamentos e amizade que foram fundamentais para a execução e conclusão do doutorado.

Aos professores Heloisa Helena de Carvalho Melo, Paulo Helmmeister Filho, Arthur Macioli, Marcos Barcelos Café, José Henrique Stringhini, Eliane Sayuri Miyagi pelos grandiosos ensinamentos passados, carinho e excelente convivência.

Aos amigos que fiz durante o curso de Pós-Graduação e todos que contribuíram com a realização deste trabalho, principalmente Marcus Vinícios, Marta Moi, Fernanda, Reginaldo Jacovette, Izabella Cruvinel, Sidney, Helder, Renato, Juliana e Saulo por me

ajudarem, me apoiarem nas horas mais cruciais e por me proporcionarem horas de descontração e amizade.

Aos alunos do curso de Zootecnia da Universidade Federal de Goiás e da UPIS - Brasília, Rafael, Maria Luíza, Karoline Moura e Wesley por toda ajuda prestada.

Aos Professores e amigos Frederico Lopes da Silva, Guilherme Soares, Francislete Rodrigues Melo, Mirna Porto e Andrei Fidelis por todo auxílio, amizade e compreensão, as quais foram fundamentais para execução e término desta pesquisa.

Aos meus Coordenadores, Guilherme José Carvalho, Marília Snel e Carlos Alberto da Cruz Junior pelo apoio e compreensão de minhas ausências nos compromissos com o trabalho.

Ao meu esposo Christian Coltri Lugo Sorace por me apoiar, auxiliar e compreender minhas ausências e me confortar nas horas que mais precisei.

Aos meus pais, Maria Rosa Nunes da Cunha Mota e Paulo Joélcio da Silva Mota e minha irmã, Chalana Cunha Mota por acreditarem e me auxiliarem eu tudo, principalmente à minha mãe pelas orações e as palavras de conforto

“Combati o bom combate,  
acabei a carreira, guardei a fé”.

Desde agora a coroa da justiça me está guardada,  
a qual, o Senhor, justo juiz, me dará naquele dia.”

*(Timóteo, cap. 4: 7,8)*

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>XIII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XV</b>
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....</b>	<b>16</b>
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. <i>Salmonellas</i> ssp. ....	19
2.2. <i>Salmonella</i> Heidelberg	19
2.3. Aditivos antimicrobianos moderadores de crescimento na avicultura.....	23
2.4. Frangos de crescimento lento e criação de frango caipira.....	26
2.5. Extratos vegetais e propriedades antimicrobiana .....	28
2.6 Extratos vegetais e propriedades antioxidantes.....	30
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>35</b>

CAPÍTULO 2 - COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE PLANTAS NATIVAS DO CERRADO.....	44
1. INTRODUÇÃO.....	46
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.1. Coleta e identificação do material vegetal.....	48
2.2. Preparo dos extratos vegetais etanólicos.....	48
2.3. Determinação de compostos fenólicos dos extratos vegetais.....	49
2.4. Determinação da atividade antioxidante dos extratos vegetais <i>in vitro</i> .....	50
2.5. Preparação dos inóculos para teste <i>in vitro</i> .....	50
2.6. Avaliação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> .....	51
2.7. Análise estatística.....	51
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4. CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS.....	60

CAPÍTULO 3 - DESEMPENHO, DESENVOLVIMENTO INTESTINAL E BACTERIOLOGIA DE FRANGOS DE CRESCIMENTO LENTO ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO DE PAU-TERRA E DESAFIADOS COM <i>Salmonella</i> HEIDELBERG.....		66
1.	INTRODUÇÃO.....	70
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	71
2.1.	Coleta e identificação do material vegetal e preparo do extrato vegetal.....	71
2.2.	Preparação dos inóculos.....	71
2.3.	Ensaio de desempenho .....	72
2.4.	Avaliação da histomorfometria intestinal.....	75
2.5.	Avaliação bacteriológica específica para <i>Salmonella</i> Heidelberg.....	75
2.6.	Avaliação da bioquímica sanguínea .....	76
2.7.	Análises estatísticas.....	76
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
4.	CONCLUSÃO.....	95
	REFERÊNCIAS.....	96

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 2

TABELA 1 -	Concentração de compostos fenólicos totais dos extratos vegetais e atividade antioxidante dos extratos etanólicos.....	48
TABELA 2 -	Avaliação da susceptibilidade da <i>Salmonella</i> Heidelberg aos diferentes extratos vegetais etanólico.....	49

### Capítulo 3

TABELA 1 -	Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações basais.....	69
TABELA 2 -	Desempenho de frangos de crescimento lento inoculados com <i>Salmonella</i> Heidelberg e tratados com extrato vegetal etanólico de Pau-terra no período de 1 a 28 dias de idade.....	74
TABELA 3 -	Histomorfometria do duodeno de frangos de crescimento lento aos 7 dias.....	75
TABELA 4 -	Histomorfometria do jejuno de frangos de crescimento lento aos 7 dias.....	76
TABELA 5 -	Histomorfometria do ílio de frangos de crescimento lento aos 7 dias.....	77
TABELA 6 -	Médias da profundidade de cripta do ílio de aves aos sete dias de idade na avaliação da interação entre <i>Salmonella</i> Heidelberg e antimicrobianos.....	78
TABELA 7 -	Médias da relação vilo: cripta do ílio de aves aos sete dias de idade na avaliação da interação entre <i>Salmonella</i> Heidelberg e antimicrobianos.....	78

TABELA 8 -	Histomorfometria do duodeno de frangos de crescimento lento aos 42 dias.....	79
TABELA 9 -	Amostras de fígado, baço e ceco positivo/negativo para <i>Salmonella</i> Heidelberg em aves de crescimento lento com sete dias .....	82
TABELA 10 -	Amostras de fígado, baço e ceco positivo/negativo para <i>Salmonella</i> Heidelberg em aves de crescimento lento de 28 dias .....	83
TABELA 11 -	Amostras de fígado, baço e ceco positivo/negativo para <i>Salmonella</i> Heidelberg em aves de crescimento lento de 42 dias .....	83
TABELA 13 -	Parâmetros bioquímicos séricos de frangos de corte de crescimento lento de 28 dias.....	86
TABELA 14 -	Parâmetros bioquímicos de frangos de corte de crescimento lento de 42 dias. ....	87

#### LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	Tratamentos experimentais .....	68
----------	---------------------------------	----

## RESUMO

Foram realizados dois experimentos com o objetivo de avaliar a atividade antimicrobiana de extratos vegetais de espécies nativas do Cerrado brasileiro. O primeiro experimento foi realizado *in vitro* utilizando sete extratos vegetais etanólicos de plantas nativas do cerrado brasileiro (Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), Jacarandá (*Machaerium villosum*), Jenipapo (*Genipa americana*), Pau-terra (*Qualea parviflora*), Pau-ferro (*Connarus suberosus*), Murici (*Byrsonima crassifolia*), Mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*)), para avaliar os compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana frente *Salmonella* Heidelberg. Os compostos fenólicos dos extratos vegetais foram determinados por meio de espectroscopia na região do visível, utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu. A determinação da capacidade antioxidante dos extratos vegetais foi realizado pelo método de seqüestro de radicais livres por solução de ABTS. A atividade antimicrobiana *in vitro* dos sete extratos vegetais etanólicos frente à *Salmonella Heidelberg* foi realizada por meio do método de disco difusão. No segundo experimento foi realizado testes de desempenho, desenvolvimento intestinal, bacteriologia e bioquímica sanguínea de frangos de crescimento lento desafiados com *Salmonella Heidelberg* e tratados com extrato vegetal de pau-terra. Foram utilizados 432 frangos de corte de linhagem Label Rouge Pesadão Vermelho e Pescoço Pelado vermelho, distribuídos em seis tratamentos, seis repetições e 12 aves por unidade experimental. O delineamento experimental foi de blocos casualizados distribuídos em seis tratamentos: SH + controle (aves com desafio + ração basal); SH + ANT (aves com desafio + ração com antimicrobiano), SH + EVPT (aves com desafio + extrato vegetal), controle (aves sem desafio + ração basal), ANT (aves sem desafio + ração com antimicrobiano) e EVPT (aves sem desafio + extrato vegetal). Foram avaliados desempenho, histomorfometria intestinal, bacteriologia específica e bioquímica sanguínea. Os resultados da análise antimicrobiana dos extratos frente *Salmonella Heidelberg* foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Os dados dos compostos fenólicos e antioxidantes foram submetidos à análise descritiva. Os dados de desempenho, histomorfometria e bioquímica sanguínea foram submetidos ao teste de variância. Os dados da bacteriologia específica foram analisados por método descritivo. Os dados dos compostos fenólicos e antioxidantes foram submetidos à análise descritiva.

Os extratos vegetais etanólicos apresentaram variação de 6,48 a 59,81 g EAG/mL de compostos fenólicos totais e 595 a 1098,33  $\mu\text{mol/L}$  de atividade antioxidante. O extrato vegetal etanólico de Pau-terra apresentou atividade antimicrobiana moderada frente *Salmonella* Heidelberg (diâmetro de halo 9,5 %). Nos resultados da avaliação de desempenho o tratamento ANT promoveu maior ganho de peso e maior peso final das aves e o tratamento SH + EVPT influenciou em menor ganho de peso e menor peso final. Na avaliação da histomorfometria dos segmentos do trato gastrointestinal histomorfometria do ílio de frangos de crescimento lento profundidade de cripta na mucosa apresentou-se maior nas aves submetidas ao tratamento SH + EVPT e, menor nas aves submetidas ao tratamento SH + controle aumento da relação vilosidade:cripta para as aves submetidas ao tratamento SH + controle e redução na relação para as aves submetidas ao tratamento SH + EVPT. Os tratamentos não influenciaram nos parâmetros estudados do duodeno e jejuno das aves de sete dias de idade. O tratamento SH + EVPT promoveu aumento da profundidade de cripta, e o tratamento SH + controle reduziu a profundidade de cripta. Nas aves de 42 dias de idade o tratamento promoveu EVPT promoveu altura de vilosidades do jejuno e o tratamento SH + controle reduziu a altura de vilosidades do jejuno. No ílio o tratamento SH + EVPT promoveu aumento das vilosidades e o tratamento ANT reduziu a altura das vilosidades. O tratamento SH + controle reduziu a profundidade de cripta do ílio e o tratamento SH + EVPT aumento a profundidade de cripta do ílio. Na bacteriologia, 75% do trato gastrointestinal apresentou *Salmonella* Heidelberg aos 7 dias de idade, 58 % aos 28 dias de idade e 16,66 % aos 42 dias de idade. A concentração de albumina, colesterol, triglicérides e ácido úrico foi influenciada pelos tratamentos. Os extratos vegetais etanólicos de Barbatimão Jacarandá, Mama-cadela, Jenipapo, Pau-ferro e Murici não apresentaram atividade antimicrobiana frente *Salmonella* Heidelberg (diâmetro de halo 5mm). O extrato vegetal etanólico de Pau-terra, oferecido na água de bebida, utilizando concentração de 1:1000 e fornecido uma vez ao dia à frangos de crescimento lento não promove a melhora do desempenho de frangos até os 28 dias de idade e não apresenta atividade antimicrobiana frente à *Salmonella* Heidelberg.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos, aditivos fitogênicos, frangos caipiras, salmonelose

## ABSTRACT

Two experiments were carried out with the objective of evaluating the antimicrobial activity of native extracts of native species of Brazilian Cerrado. The first experiment was carried out in vitro using seven ethanolic plant extracts native to the Brazilian cerrado (Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), Jacaranda (*Machaerium villosum*), Jenipapo (*Genipa americana*), Pau-terra (*Qualea parviflora*), Pau- (*Brosimum gaudichaudii*), to evaluate the total phenolic compounds, antioxidant activity and antimicrobial activity against *Salmonella Heidelberg*. The phenolic compounds of the plant extracts were determined by spectroscopy in the visible region, using the Folin-Ciocalteu method. The determination of the antioxidant capacity of the plant extracts was carried out using the ABTS solution free radical sequestration method. The in vitro antimicrobial activity of the seven ethanolic extracts against *Salmonella Heidelberg* was performed using the disc diffusion method. In the second experiment were performed performance tests, intestinal development, bacteriology and blood biochemistry of slow-growing chickens challenged with *Salmonella Heidelberg* and treated with woodland plant extract. A total of 432 broiler chickens were used. The roasted red roasted roasted red roasted roe were distributed in six treatments, six replicates and 12 birds per experimental unit. The experimental design was randomized blocks distributed in six treatments: SH + control (birds with challenge + basal ration); SH + EVT (challenged birds + antimicrobial ration), SH + EVPT (control + challenged birds), control (birds without challenge + basal ration), ANT (unchallenged birds + antimicrobial ration) and EVPT challenge + plant extract). Performance, intestinal histomorphometry, specific bacteriology and blood biochemistry were evaluated. The results of the antimicrobial analysis of *Salmonella Heidelberg* extracts were submitted to analysis of variance (ANOVA). The data of phenolic compounds and antioxidants were submitted to descriptive analysis. The performance data, histomorphometry and blood biochemistry were submitted to the test of variance. Data from the specific bacteriology were analyzed by descriptive method. The data of phenolic compounds and antioxidants were submitted to descriptive analysis. The ethanolic vegetal extracts varied from 6.48 to 59.81 g EAG / mL of total phenolic compounds and 595 to 1098.33  $\mu\text{mol} / \text{L}$  of antioxidant activity. The ethanolic extract of

Pau-terra presented moderate antimicrobial activity against *Salmonella Heidelberg* (halo diameter 9.5%). In the results of the performance evaluation the ANT treatment promoted greater weight gain and higher final weight of the birds and the SH + EVPT treatment influenced in lower weight gain and lower final weight. In the evaluation of the histomorphometry of the segments of the gastrointestinal tract histomorphometry of the chick embryo of slow growth slow crypt depth in the mucosa was higher in the birds submitted to the SH + EVPT treatment and, the lower in the birds submitted to SH + crypt for SH + control birds and reduction in the ratio for SH + EVPT treated birds. The treatments did not influence the studied parameters of the duodenum and jejunum of seven - day - old birds. The SH + EVPT treatment promoted crypt depth increase, and the SH + control treatment reduced crypt depth. In the birds of 42 days of age the treatment promoted EVPT promoted jejunal villus height and SH + control reduced jejunal villus height. In the ileum SH + EVPT treatment promoted villus enlargement and ANT treatment reduced villus height. The SH + control treatment reduced the crypt depth of the ileum and the SH + EVPT treatment increased the crypt depth of the ileum. In bacteriology, 75% of the gastrointestinal tract presented *Salmonella Heidelberg* at 7 days of age, 58% at 28 days of age and 16.66% at 42 days of age. The concentration of albumin, cholesterol, triglycerides and uric acid was influenced by the treatments. The ethanolic extracts of Barbatimão Jacarandá, Mama-bitch, Jenipapo, Pau-ferro and Murici did not present antimicrobial activity against *Salmonella Heidelberg* (diameter of halo 5mm). The ethanolic extract of Pau-terra, offered in drinking water, using a concentration of 1: 1000 and supplied once a day to slow-growing chickens does not promote the performance improvement of chickens up to 28 days of age and has no activity antimicrobial activity against *Salmonella Heidelberg*.

**Key-words:**antimicrobials, phenolic compounds, salmonellosis, plant extracts

## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

### 1. INTRODUÇÃO

Por muitos anos os antibióticos foram utilizados como grandes aliados na produção de frangos de corte, principalmente para conter a proliferação de *Salmonella* spp., a qual é considerada um patógeno relevante para o Programa Nacional de Sanidade Avícola brasileiro do MAPA por ser de fácil transmissão horizontal e vertical e por causar transtornos à saúde animal e humana<sup>1</sup>.

Entretanto, a União Européia proibiu o uso de antibióticos como aditivos melhoradores de desempenho ministrados na ração das aves com a justificativa de que promovem a resistência bacteriana aos antibióticos. Segundo Brugalli<sup>2</sup>, os tecidos musculares podem conter resíduos de antibióticos utilizados como melhoradores de desempenho e gerar resistência de cepas que acometem os humanos.

Nesse cenário, surge uma tendência dos consumidores para preferência de produtos oriundos de criações de animais livres de antimicrobianos, impulsionando o mercado de frangos criados em sistemas alternativos. Nos últimos anos, em função de empresas maiores e mais tecnificadas que vislumbraram essa oportunidade de mercado e buscam por melhores resultados de desempenho e aumento da densidade animal em sistemas alternativos de aves, os frangos de crescimento lento estão aumentando nos sistemas de produção, principalmente em médias e pequenas propriedades rurais<sup>3</sup>.

Como nos sistemas alternativos de criação de frangos, principalmente caipira, é proibida a utilização de antibióticos melhoradores de desempenho nas rações, os extratos vegetais e óleos essenciais estão entre os produtos de grande interesse científico, por possuírem atividades antimicrobianas, antiparasitárias, antifúngica, além de estimularem a produção de enzimas e promover a integridade e manutenção do trato gastrointestinal, o que acarreta em aumento do desempenho dos animais<sup>4</sup>.

Os extratos vegetais são preparações concentradas em moléculas bioativas, obtidas a partir da extração de matérias-primas vegetais. As moléculas bioativas, como os compostos fenólicos, vem apresentando efeitos nocivos à microrganismos patogênicos, o que tem contribuído para a utilização dos extratos vegetais e óleos essenciais como aditivos alimentares ou também como biofilmes na indústria alimentícia para evitar a oxidação de compostos e degradação microbiana<sup>5</sup>.

Portanto, objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana, compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante de sete de extratos vegetais diferentes em teste *in vitro* e o efeito do extrato vegetal etanólico de Pau-terra em frangos de corte de crescimento lento desafiados com a *Salmonella* Heidelberg.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. *Salmonellas* spp.

A *Salmonella* spp. é uma bactéria que se comporta como um microrganismo patogênico intracelular facultativo. Seu habitat é o trato gastrointestinal de animais e humanos, causando problemas entéricos, septicêmicos e até aborto devido a sua capacidade de invasão celular e sobrevivência dentro dos fagócitos<sup>6</sup>.

As bactérias do gênero *Salmonella* spp. pertencem à família das *Enterobacteriaceae* e caracterizam-se por serem bastonetes curtos, Gram-negativos, anaeróbios facultativos, sem cápsula, não formadores de esporos, móveis ou imóveis<sup>7</sup>. Essas bactérias fermentam glicose e outros açúcares e descarboxilam aminoácidos, crescem em temperatura de 5 a 45° C, contudo a zona de conforto da maioria dos sorotipos situa-se entre 37 e 40°C.

O gênero *Salmonella* spp. é dividido em duas espécies pela classificação taxômica proposta por Popoff<sup>8</sup>, *Salmonella* entérica e *Salmonella* bongori. São identificadas de acordo com os antígenos somáticos “O” e flagelares “H”. A espécie *Salmonella* entérica por sua vez é dividida em seis subespécies bioquimicamente distintas indicadas por números romanos e letras: I – *Salmonella enterica* subespécie entérica (1586), II – *Salmonella enterica* subespécie salamae (522), IIIa – *Salmonella enterica* subespécie arizonae (102), IIIb – *Salmonella enterica* subespécie diarizonae (338), IV – *Salmonella enterica* subespécie houtenae (76) e VI – *Salmonella enterica* subespécie indica (13), as quais são ainda diferenciadas em 2.637 sorotipos (sorovares) identificados por nomes ou números. A espécie *Salmonella* bongori possui 23 sorovares conhecidos<sup>7</sup>. Somando as duas espécies são descritos mais de 2650 sorovares.

As bactérias do gênero *Salmonella* spp. também podem ser classificadas conforme a especificidade do hospedeiro sendo, a) altamente adaptadas ao homem, *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi A, B e C, as quais são agentes da febre entérica e, b) altamente adaptadas aos animais, *Salmonella* Dublin (bovinos), *Salmonella* Choleraesuis e *Salmonella* Typhisuis (suínos), *Salmonella* Pullorum

(aves) e *Salmonella* Gallinarum (aves) causadoras da pulorose e tifo aviário; c) *Samonellas* zoonóticas que incluem sorovares que afetam homens e animais.

A capacidade dessa bactéria *Salmonella* spp. de causar doença depende diretamente da sua habilidade de expressar genes de virulência que neutralizam as defesas do hospedeiro, ou seja, precisam sobreviver e se replicar não somente nos enterócitos, mas também nos macrófagos, as principais células de defesa do organismo<sup>9</sup>.

O trato digestivo das aves, principalmente das adultas, apresenta uma série de barreiras à instalação de *Samonellas* spp., entre elas: acidez do papo e proventrículo, enzimas digestivas do pâncreas e sais biliares, exclusão competitiva promovida principalmente por bactérias anaeróbias constituintes do trato digestivo normal das aves e as imunoglobulinas<sup>9</sup>. O mecanismo inicial para ocorrer infecção por *Salmonella* spp. é a capacidade de adesão da bactéria nas células epiteliais intestinais, a qual depende de alguns fatores de virulência como os lipopolissacarídeos (LPS), flagelos e fímbrias<sup>6</sup>.

Os lipopolissacarídeos compõem a membrana exterior da bactéria que a protege de substâncias químicas como os antibióticos<sup>10,11</sup>. Quando *Salmonella* spp. atinge a superfície basolateral do epitélio intestinal, inicia-se o reconhecimento do LPS e logo em seguida ocorre a resposta inflamatória por meio do receptor de flagelina bacteriana, o Toll-like receptor (TLR), localizado na membrana das células do epitélio intestinal e em células do sistema imune<sup>12</sup>.

Os flagelos são estruturas filamentosas constituídas basicamente de uma proteína chamada flagelina que participa na adesão e motilidade da bactéria. As fímbrias são estruturas rígidas em forma de haste, localizadas na superfície da célula bacteriana que auxiliam na ligação da *Salmonella* spp. às células hospedeiras. A adesão fimbrial é uma importante fase durante a infecção por *Salmonella* spp. selecionando a célula alvo para a posterior invasão<sup>10</sup>.

A mucosa intestinal é o primeiro sítio alvo da *Salmonella* spp. no hospedeiro, e primeiro mecanismo de defesa contra patógenos. As células caliciformes presentes na mucosa epitelial tem importante papel na imunidade inata, pois são produtoras de mucina, a primeira molécula a ter contato com o patógeno, interagindo com a superfície celular da bactéria e impedindo a ligação na célula hospedeira<sup>6</sup>.

A habilidade da *Salmonella* spp. em persistir e se multiplicar nos macrófagos do hospedeiro é essencial para a patogênese e sua disseminação, entretanto, a adesão da bactéria ao epitélio ativa o mecanismo de reconhecimento do sistema imunológico do hospedeiro resultando em resposta celular com infiltração de linfócitos T e liberação de citocinas contra as fimbrias<sup>13</sup>. No caso da resposta imunológica contra *Salmonella* spp., ocorre inicialmente uma resposta inflamatória não específica, responsável pela retirada da bactéria da lâmina própria e reduzindo assim a entrada na corrente sanguínea, sendo os macrófagos as principais células responsáveis por este processo, que após a ativação de células T irá conferir uma resposta imune específica<sup>14</sup>.

A complexa epidemiologia da *Salmonella* spp. na cadeia de produção de aves envolve a transmissão vertical, desencadeando a eclosão de pintainhos infectados, os quais poderão ou não desenvolver a doença, ou, até em casos mais raros, morrerem na incubadora<sup>15</sup>. A bactéria quando transmitida verticalmente por via transovariana, ocorre a penetração do patógeno no ovo ainda durante sua formação no oviduto ou então, após a postura. Ainda nos ninhos, nos galpões de matrizes, nos caminhões ou no incubatório a *Salmonella* spp. pode atravessar a casca, contaminando a parte interna o embrião em formação<sup>15</sup>.

Nos pintainhos recém nascidos infectados, devido ao sistema imune estar ainda imaturo, a ave pode apresentar sinais clínicos de diarreia, penas arrepiadas e mortalidade<sup>10</sup>. Na fase inicial, as aves podem apresentar sinais de sonolência, anorexia, retardo no crescimento e falhas no empenamento. Em geral o inglúvio e os cecos são os locais de preferência de infecção pela *Salmonella* spp.<sup>15</sup>.

Em alguns casos, não são observados sinais evidentes da infecção entre os cinco a dez dias de idade da ave, mas a doença pode se agravar após os sete dias de idade. Aves com mais de 14 dias de vida comumente não apresentam sinais clínicos, apenas uma enterite sem muitas complicações. Geralmente ocorre maior taxa de mortalidade durante a segunda ou terceira semana de vida, momento em que as aves apresentam prostração, asas caídas, corpo com aparência distorcida e se juntam para se aquecerem. Quando há alta infecção pode aparecer laminite nas articulações, se também os pulmões estiverem bastante infectados, as aves podem apresentar dispnéia<sup>14</sup>.

Outra característica importante é a habilidade da *Salmonella* spp. em persistir no ambiente e se multiplicar fora do organismo animal em condições favoráveis de presença de matéria orgânica, umidade e temperatura. *Salmonellas* spp. são susceptíveis à destruição quando submetidas à temperatura de 55°C, por 1 hora, ou a 60°C, durante 15 a 20 minutos<sup>12</sup>. Alguns desinfetantes com o princípio ativo de fenóis, amônia quaternária, glutaraldeído, iodo e formol são eficazes no controle reduzindo a pressão bacteriana presente nas instalações contaminadas por *Salmonella* spp. A irradiação também tem recebido considerável atenção como um método para controlar *Salmonellas* spp. em carne de frango, ovos e ração. Nas carcaças de frango o controle de *Salmonella* spp. tem sido realizado por meio de cloreto de sódio, peróxido de hidrogênio, ácido acético, ácido láctico<sup>12</sup>.

A avicultura industrial favorece a transmissão de *Salmonella* spp. entre as aves nos galpões de criação devido a facilidade de contaminação pelas fezes (via aero-fecal), por secreções orofaríngeas, por contaminação residual no ambiente da granja como a cama em reuso, aerossóis, pela ração, água, presença de vetores e fômites. Uma das maiores preocupações são as aves portadoras assintomáticas, que podem transmitir a bactéria para todo o lote e especialmente em momentos de estresse como transporte<sup>11</sup>.

A contaminação dos ovos e carne de frango por *Salmonella* spp. se caracteriza por dois problemas: a presença de sorovares patogênicos nos sistemas de criação adaptados às aves, que causam gastroenterites e septicemias, e a presença de sorovares que não causam doença nos animais, mas são as principais fontes de contaminação das carcaças nos frigoríficos e que podem causar doenças ao homem<sup>15</sup>. Os principais sorovares envolvidos nas toxinfecções em humanos são *Salmonella* Enteritidis, *S. Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Heidelberg, *Salmonella* Infantis, *Salmonella* Hadar e *Salmonella* Mbandaka<sup>13</sup>.

## 2.2. *Salmonella* Heidelberg

Dentre os sorovares mais encontrados em aviários e em diagnósticos de salmonelose em humanos, *Salmonella* Heidelberg se destaca, principalmente no Canadá e Estados Unidos<sup>16</sup>. No Brasil, *Salmonella* Heidelberg tem sido relatada

principalmente em abatedouros e aviários da região Sul do país<sup>17</sup>. O problema relacionado à infecção por *Salmonella* Heidelberg está relacionado ao potencial dessa bactéria para promover doença grave com septicemia, miocardite, infecções intra-intestinais e morte nos humanos. Nas aves *Salmonella* Heidelberg promove patogenicidade moderada, caracterizada por quadro de fezes diarréicas, sonolência e baixo desenvolvimento do animal<sup>21</sup>.

Os animais infectados por *Salmonella* Heidelberg, principalmente quando estão na fase inicial podem apresentar quadro clínico com fezes diarréicas, apatia e sonolência. As aves mais maduras podem não apresentar sinais clínicos de infecção, o que dificulta o controle de uma infecção sistêmica, pois a *Salmonella* Heidelberg pode invadir os tecidos musculares se alojando principalmente nos cortes comercializados ou então infectar os ovos por meio do aparelho reprodutor das aves<sup>21</sup>. Dessa forma muitos consumidores de produtos avícolas são contaminados.

Quando o homem é contaminado por *Salmonella* Heidelberg, a infecção pode ser leve, moderada ou apresentar graves complicações como septicemia, miocardite, infecções extraintestinais e morte. Segundo Crump<sup>16</sup> esse sorovar tem alto potencial para causar doença sistêmica em humanos quando comparada com os sorovares Enteritidis e Typhimurium.

Nas últimas décadas os índices de contaminação dos alimentos por *Salmonella* Heidelberg vêm aumentando, assim como a frequência dessa bactéria nas granjas. Nos EUA é o sorovar mais frequentemente relatado do que em outras regiões do mundo. No Canadá está entre os três sorovares mais isolados de pessoas infectadas por *Salmonella* spp. No Brasil, desde 1962, tem sido identificada em aves e produtos derivados<sup>18</sup>. Na região Sul do Brasil<sup>19</sup>, isolaram a sorovar Heidelberg em 11% das carcaças e partes de frango. Em 2014, Pulido-Landinez<sup>20</sup> também avaliaram a diversidade dos sorotipos de *Salmonella* spp. em granjas avícolas no sul do Brasil e identificaram predominância da *S. Heidelberg* (40,6%), *S. Enteritidis* (34,2%), *S. Hadar* (8,4%) e *S. Typhimurium* (3,9%). Em trabalho semelhante, Pandini<sup>15</sup>, encontraram nas amostras de suabe de arrasto provenientes de granjas avícolas do Paraná, os sorotipos Heidelberg, Mbandaka, Newport, Schwarzengrund, Enteritidis, Livingstone, Orion, Give e Infantis.

O grande problema inerente à presença da *Salmonella* Heidelberg, nas granjas também está relacionado à resistência aos antibióticos. Segundo European Food

Safaty Authority a *Salmonella* Heldelberg apresenta resistência aos antibióticos da classe cefalosporinas de terceira geração como o ceftiofur e o ceftriaxone. O ceftriaxone é um importante antibiótico utilizado no tratamento de gestantes e crianças, e outros antibióticos não são indicados<sup>21</sup>.

### 2.3. Aditivos melhoradores de desempenho na avicultura

Os aditivos melhoradores de desempenho são substâncias adicionadas nas rações ou água de bebida para promover melhorias, principalmente na conversão alimentar, crescimento e no peso final dos animais. No Brasil, o uso dos aditivos melhoradores de desempenho é permitido seguindo as normas estipuladas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O MAPA categoriza os aditivos melhoradores de desempenho como aditivos zootécnicos e fazem parte dele um grupo de substâncias qualificadas como antimicrobianos. Os antimicrobianos são substâncias sintéticas ou naturais utilizadas para prevenir/ inibir a proliferação e destruir bactérias patogênicas. Podem ser classificados como quimioterápicos ou antibióticos. Os quimioterápicos agem na interferência de vias metabólicas da célula do microrganismo (inibição de enzimas) e inibição da síntese ou dano no DNA bacteriano. São análogos estruturais do ácido paminobenzóico (PABA), uma substância essencial para a síntese de ácido fólico, o qual por sua vez quando em sua forma reduzida, o ácido tetraidrofólico é fundamental para a síntese de DNA e RNA bacteriano<sup>26</sup>. Os antimicrobianos antibióticos são produzidos por meio do metabolismo de fungos, leveduras ou bactérias.

Desde a década de 40 os antibióticos melhoradores de desempenho são utilizados largamente nas dietas das aves comerciais para melhorar o desempenho das aves e aumentar a oferta de alimento protéico livre de microorganismos patogênicos, reduzindo a taxa de infecção alimentar provocadas por alimentos contaminados por bactérias ao homem. São fornecidos nas rações ou na água de bebida das aves, em dosagens subterapêuticas permitindo o incremento da taxa de crescimento e da conversão alimentar, além de proteger a saúde das aves, modificando o padrão do sistema imune e reduzindo a taxa de mortalidade. Os

ganhos promovidos pelos antimicrobianos variam de 3 a 3,5 % no ganho de peso e a conversão alimentar pode melhorar entre 2 a 3 %<sup>27</sup>.

Cada antimicrobiano possui seu mecanismo de ação sobre os microrganismos sensíveis, o efeito bactericida, que consiste na morte do agente, e o efeito bacteriostático, que paralisa seu crescimento e proliferação. Esses efeitos podem ocorrer na síntese da parede celular dos microrganismos, proporcionando alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, interferências na replicação cromossômica e na síntese protéica celular<sup>28</sup>.

A inibição da síntese da parede celular por agentes antimicrobianos correspondem aos mais seletivos, apresentando um elevado índice terapêutico. As penicilinas, ampicilina e cefalosporinas contêm em sua estrutura um anel  $\beta$ -lactâmico, que interage com proteínas denominadas PBPs (“Penicillin Binding Protein”), inibindo a enzima envolvida na transpeptidação, responsável pela ligação entre as cadeias de tetrapeptídeos do peptidoglicano. Com isso, há o impedimento da formação das ligações entre os tetrapeptídeos de cadeias adjacentes de peptidoglicano, ocasionando uma perda na rigidez da parede celular. Acredita-se também que tais fármacos podem atuar promovendo a ativação de enzimas autolíticas, resultando na degradação da parede<sup>29</sup>.

Na membrana citoplasmática os agentes antimicrobianos atingem tanto a membrana citoplasmática como a membrana externa, onde ligam-se entre os fosfolipídeos, alterando sua permeabilidade (detergentes). Alguns antibióticos podem agir como ionóforos possibilitando que as moléculas hidrofóbicas que se ligam a membrana citoplasmática, permitindo a difusão passiva de compostos ionizados para dentro ou fora da célula. Já a inibição da tradução geralmente é bastante seletiva e correspondem a um dos principais grupos de agentes antimicrobianos, uma vez que a síntese proteica corresponde a processo altamente complexo, envolvendo várias etapas e diversas moléculas e estruturas<sup>30</sup>.

Dentre os antibióticos que inibem a síntese protéica têm-se as tetraciclina, os macrolídeos, as lincosamidas e o cloranfenicol. Esses atuam fixando no RNAt e alongando o RNAm inibindo a ação dos mesmos<sup>31</sup>.

Os antimicrobianos agem de forma seletiva sobre a biota intestinal do animal hospedeiro, impedindo o metabolismo bacteriano, reduzindo a competição direta de

nutrientes entre as bactérias e o hospedeiro, e dessa forma é atenuada a produção microbiana de metabólitos tóxicos, como as aminas, amônia e endotoxinas, as quais inflamam o epitélio intestinal e impedem a digestão e absorção de nutrientes<sup>32</sup>. Segundo Dibner e Richards<sup>31</sup>, as melhorias provocadas pelos antimicrobianos no desempenho dos animais devem-se a modulação da microbiota benéfica no intestino, pois os antimicrobianos selecionam a microbiota, tendo eficácia na eliminação de bactérias patogênicas, proporcionando ambiente favorável para o crescimento microbiano benéfico.

Os antimicrobianos também promovem a saúde e a integridade do epitélio intestinal, pois as bactérias patogênicas podem colonizar a borda das células epiteliais ou as criptas onde novas células são produzidas causando danos às paredes e inflamação de células, aumentando a espessura da vilosidade. Portanto, quando as bactérias patogênicas são impedidas de aderirem às células intestinais por antimicrobianos, as vilosidades passam a ter crescimento normal e as criptas possuem profundidade adequada, propiciando em maior número de células produtoras de enzimas e células absorptivas<sup>32</sup>.

Atualmente os aditivos autorizados no Brasil para uso veterinário como melhoradores de desempenho são tilosina, virginiamicina, bacitracina de zinco, lincomicina, floromicina, avilamicina e enramicina. Na União Européia está proibido o uso dos antibióticos melhoradores de desempenho na dieta dos animais desde 1º de janeiro de 2006. Um importante fator para a União Européia ter tomado essa decisão foi surgimento de bactérias resistentes a vários antibióticos. Uma das hipóteses em teste para o surgimento dessas bactérias resistentes está relacionada ao uso de antimicrobianos nas rações das aves, e aos resíduos dos antibióticos detectados nos produtos, que ao serem consumidos podem também reduzir a sensibilidade das bactérias patogênicas em humanos e assim, diminuir os efeitos esperados dos antibióticos utilizados na terapêutica humana<sup>33</sup>.

No estudo desenvolvido por Diarra<sup>34</sup> no Canadá, foi relatado que 43% das *Salmonellas* isoladas em criações de frangos de corte apresentaram resistências à ampicilina, amoxicilina-ácido clavulânico, ceftiofur, cefoxitim e ceftriaxona. Nos EUA a *Salmonella* paratifóide tem apresentado resistência à ceftriaxona em cerca de 3% das cepas e um nível de resistência à ciprofloxacina de aproximadamente 3%. Aproximadamente 5% de *Salmonella* paratifóide testada pelo Centers for disease

control and prevention(CDC) nos EUA são resistentes a cinco ou mais tipos de fármacos. Nos testes de resistência realizados nos EUA com *Salmonella* paratifóide foram registrados resistência para as drogas ampicilina, estreptomicina, sulfisoxazol e tetraciclina<sup>35</sup>

No Brasil, o trabalho realizado por Ribeiro<sup>36</sup> com cepas de *Salmonella* enteritidis isoladas de amostras de aviários, verificaram que a tetraciclina é o antimicrobiano de menor efeito a *Salmonella* enteritidis, além disso, dentre as 79 das amostras, 65 apresentaram resistência aos antimicrobianos testados, sendo que 66,1% apresentaram resistência a dois ou mais agentes e 33,8% a somente um antimicrobiano.

#### 2.4. Frangos de crescimento lento e criação de frango caipira

A expansão do sistema intensivo de criação de aves aconteceu no período entre 1970 e 1975, quando as raças passaram por programas de melhoramento genético e as aves passaram a ser criadas em galpões fechados com alta densidade/animal e programas nutricionais que atendiam melhor às exigências das aves. Dessa forma a avicultura tornou-se uma das atividades mais relevantes no contexto sócio-econômico mundial por oferecer ao consumidor uma fonte de proteína de boa qualidade, produzida em curto espaço de tempo, com valor pago pela carne e ovos mais acessível que outras fontes de proteína animal<sup>37</sup>.

Hoje a avicultura é predominantemente intensiva, realizada em sistemas de produção denominados integração vertical, em que todas as etapas de produção são coordenadas por agroindústrias, priorizando alta produtividade e realizando melhorias contínuas em vários elos da cadeia, como melhoramento genético, manejo nutricional e sanitário, tecnificação das unidades de abate e de processamento<sup>38</sup>.

Entretanto, a intensificação da produção de frangos de corte gerou alguns problemas relacionados às questões de bem-estar animal e aos aditivos utilizados nas rações para reduzir problemas causados por microrganismos patogênicos. A alta densidade/animal dos sistemas intensivos de criação propicia baixa resistência à patógenos, em virtude do baixo padrão de bem-estar dos animais e a fácil

transmissão de microrganismos entre eles. Portanto, desde a década de 1946, tem sido utilizado antimicrobianos nas rações das aves, principalmente antibióticos, em doses sub-terapêuticas, com a finalidade de promover o crescimento saudável e rápido as aves. Porém, essa prática tem sido discutida em todo o mundo, e em alguns países da Europa já está proibido o uso de antibióticos nas rações de animais<sup>51</sup> em virtude de que estudos tem apontado a existência de bactérias resistente a antibióticos, principalmente os utilizados nas rações ou água de bebida dos animais criados em sistemas intensivos, acarretando na dificuldade de terapia humana<sup>31</sup>.

Diante desses fatores têm surgido consumidores exigentes de produtos alternativos aos oriundos de criações industriais os quais incentivaram a criação, ampliação e manutenção de cadeias de valores diferenciadas<sup>38</sup>, que contemplem na sua cadeia produtiva o respeito ao meio ambiente, ao animal e ao consumidor<sup>39</sup>. Portanto, a cadeia da avicultura passa por transformações em que os tipos de criação mais antigos estão sendo retomados, porém de forma mais organizada e tecnificada, os chamados sistemas alternativos de criação de frangos. Nesses sistemas as aves são criadas em ambientes, geralmente mais rústicos, com disponibilidade de espaço ao ar livre para expressarem seus comportamentos naturais e são utilizadas utilizam linhagens mais adaptadas ao meio ambiente onde são criadas.

Hoje os principais sistemas alternativos de criação de frango, conforme descritos nas normas de produção da Associação Brasileira da Avicultura Alternativa são o sistema de Criação Caipira e Sistema de produção Antibiotic Free e Frango Orgânico. No Brasil as normas do Ministério da Agricultura DOI/DIPOA nº007/99, de 19/05/1999, DOI/DIPOA nº014/2000 de 11/05/00, e mais recentemente da ABNT (ABNT/CEE, 214), regulam a criação, abate e processamento de carne e miúdos do frango caipira. No regulamento estão estipuladas como principais normas, a criação de linhagens específicas caipira, as aves devem ter acesso à área externa após 28 dias de idade, não é permitido utilizar melhoradores de desempenho e ingredientes de origem animal na ração ou água de bebida das aves e a idade mínima de abate é de 85 dias<sup>40</sup>.

As linhagens de frangos específicas para os sistemas alternativos apresentam como características baixo potencial genético de crescimento, alta rusticidade e boa adaptabilidade, as principais linhagens utilizadas em criação alternativa no Brasil são

a Label Rouge, Carijó, Rhode e Índio. A Label Rouge é uma linhagem desenvolvida na França, tem o crescimento lento, possui coloração mista, é abatida aos 90 dias com um peso médio de 2,5 quilos e sua carne é mais rígida que frangos de linhagem industrial.

Embora a Label Rouge seja uma ave de crescimento lento, é eficiente na produção de carne, o que lhe confere as boas características de carcaça<sup>41</sup>. No estudo realizado por Hellmeister Filho<sup>42</sup> foi relatado que as aves da linhagem Label Rouge levam aproximadamente 90 dias para atingir 2,3 kg. Em trabalho desenvolvido por Costa<sup>43</sup> com a linhagem Label Rouge Pescoço pelado, de 1 a 28 dias, foi identificado que as aves consomem 856 g/ave de ração, apresentando 477 g de ganho de peso e conversão alimentar de 1,88. Em outro estudo, foi identificado que frangos Label Rouge levaram 63 dias para atingir 2.030 g e apresentaram conversão alimentar de 2,6.

Segundo Santos<sup>44</sup>, a criação de linhagens de frango de crescimento lento é justificada por apresentarem atributos diferenciados na qualidade da carne, como maior textura e coloração do músculo da carne mais acentuada, tanto para o teor de vermelho como para o teor de amarelo, diferente da cor rosa pálido do músculo das carnes de aves industriais. Entretanto o frango caipira não tem a pretensão de competir com a avicultura industrial, mas sim preencher um nicho de mercado com produtos originados de um sistema alternativo de produção. E, assim, continuar atendendo satisfatoriamente aos consumidores que exigem uma alimentação mais natural<sup>45,46</sup>.

## 2.5. Extratos vegetais e propriedades antimicrobiana

Os extratos vegetais são compostos de uma imensa diversidade de moléculas de ampla atividade biológica e por isso constituem importante recurso terapêutico para o tratamento e prevenção de doenças<sup>47</sup>. Dentre as diversas moléculas bioativas presentes nas plantas, as de maior interesse na fitoterapia pertencem ao grupo dos alcalóides (alcoóis, aldeídos, cetonas, éteres, ésteres, lactonas), dos glucosídeos,

compostos fenólicos, flavonóides, estilbenos, saponinas, mucilagens, taninos condensados e hidrolisáveis, terpenos, ligninas e óleos essenciais<sup>48</sup>.

Muitos extratos vegetais possuem ação antimicrobiana devido ao caráter lipofílico presente nas moléculas constituintes dos extratos, tornando-os capazes de penetrar na célula ou desintegrar a membrana da parede celular bacteriana, por possuírem alguma ação contra bactérias, coccídeos, e fungos<sup>49</sup>.

O extrato das cascas e folhas vegetal de Pau-terra (*Qualea grandiflora*) possuem ação antibacteriana comprovada sobre o *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Além disso, também foi constatado no extrato etanólico das folhas efeito antioxidante, analgésico, depressor do sistema nervoso central, com potencial anticonvulsivante<sup>50</sup>. Os constituintes presentes são nas folhas do extrato são flavonóides, triterpenóides e esteróides, além de taninos, benzoquinonas e antraquinonas.

Segundo Alvez<sup>51</sup>, o método de extração pode influenciar na polaridade dos compostos extraídos por cada tipo de solvente utilizado no processo de extração, que por sua vez influencia na bioatividade das moléculas presentes nos extratos. Alvez<sup>51</sup> relatou em estudo que 10 % dos extratos aquosos apresentaram atividade contra *Biomphalaria glabrata*, nenhum deles apresentou ação fungicida ou tóxica para *Artemia salina*. Os extratos metanólicos apresentaram atividade antimicrobiana frente às bactérias gram positivas como *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*.

O extrato vegetal de barbatimão apresenta propriedade cicatrizante antimicrobiana e antioxidante<sup>52</sup>. Dentre os metabólicos químicos secundários encontrados no barbatimão, citam-se os alcalóides, terpenos, estilbenos, esteroides, saponinas, inibidores de proteases e taninos. Segundo Pinho<sup>53</sup>, os efeitos medicinais do barbatimão são atribuídos ao elevado teor de taninos em sua composição química, podendo atingir níveis de 20% a 50%.

O extrato vegetal de jenipapo (*Genipa americana L*) apresenta vários compostos bioativos, minerais e vitaminas importantes como o sulfato de quinina, os ácidos genipico e genipinico com funções antimicrobiana, antimalárica, antipirética e analgésica. O extrato da casca apresenta alta concentração de tanino, com potente ação antioxidante. Seu extrato é utilizado como antídoto de intoxicações, adstringente, cicatrizante, hemostático e antisséptico<sup>54,55</sup>.

O extrato vegetal de pau-ferro (*Libidibia férrea*) tem sido utilizado para o tratamento de problemas hepáticos, respiratórios, distúrbios gastrintestinais e como cicatrizante<sup>56</sup>. Os extratos dos frutos do pau-ferro apresentaram atividade antimicrobiana em testes *in vitro* utilizando *Streptococcus* sp., *Candida albicans* and *Lactobacillus casei*<sup>57</sup>. Esses efeitos são atribuídos aos compostos fenólicos presentes em todas as estruturas da planta como os taninos cumarinas, flavonoides, saponinas e esteroides<sup>58</sup>.

## 2.6. Extratos vegetais e propriedades antioxidantes

Os extratos vegetais, geralmente, possuem compostos fenólicos, os quais conferem aos extratos atividade antioxidante. Os compostos fenólicos são oriundos do metabolismo primário e secundário das plantas. Os metabólitos primários respondem pela sobrevivência do vegetal, exercendo função ativa nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes; os metabólitos secundários estão intimamente associados à estratégias de defesa contra agressões às plantas por insetos, pragas ou predadores e por fatores climáticos<sup>59</sup>. Esses metabólitos proporcionam às plantas o sabor, odor e pigmentos, que dão a aparência colorida às plantas e frutos<sup>60</sup>.

Além das propriedades terapêuticas, os compostos fenólicos apresentam potencial atividade antioxidante considerada importante na prevenção de danos ocasionados pela presença de radicais livres às células e aos tecidos. Os antioxidantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, presentes em baixas concentrações, quando comparados a um substrato oxidável, atrasam ou inibem a oxidação desse substrato de maneira eficaz. Os principais antioxidantes nos vegetais são as vitaminas C e E, os carotenóides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonóides<sup>61</sup>, já bastante conhecidos como moléculas auxiliadoras no combate ao estresse oxidativo por excesso de radicais livres no organismo de animais e humanos.

A geração de radicais livres é fisiológico e contínuo, acontece durante os processos metabólicos, pois os radicais livres são utilizados como mediadores na transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas<sup>62</sup>. Sua produção, em

proporções adequadas, possibilita a geração de ATP (energia), por meio da cadeia transportadora de elétrons; fertilização do óvulo; ativação de genes; e participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção por patógenos<sup>63</sup>. Contudo, o organismo animal e humano apresenta próprio sistema de defesa contra o estresse oxidativo, ou seja, ao desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes.

O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres ou das espécies reativas não-radicaais. Tais ações podem ser alcançadas por meio de diferentes mecanismos de ação: impedindo a formação dos radicais livres ou espécies não-radicaais (sistemas de prevenção), impedindo a ação desses (sistemas varredores) ou, ainda, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo)<sup>64</sup>. O sistema de defesa ocorre por dois tipos de mecanismo (enzimático e não-enzimático)<sup>62</sup>.

O sistema de defesa do organismo é constituído de sistemas enzimáticos (superóxido dismutase, catalases, glutathione peroxidase e sistemas tioredox) que são reconhecidamente muito eficientes na detoxificação de ERRO (espécie reativa de oxigênio). Essas enzimas agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não-radicaais, envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativos<sup>64</sup>. A atividade das enzimas em questão muitas vezes depende da participação de cofatores enzimáticos, especialmente antioxidantes de origem dietética<sup>65</sup>.

O sistema de defesa não-enzimático inclui, especialmente, os compostos antioxidantes de origem endógena e exógena (dietética). Os principais antioxidantes não-enzimáticos presentes no organismo humano são a glutathione, a bilirubina, os hormônios sexuais estrogênicos, o ácido úrico, a coenzima Q, a melanina, a melatonina, o  $\alpha$ -tocoferol e o ácido lipóico<sup>66</sup>. Os principais antioxidantes de origem dietética são as vitaminas (ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno), minerais (Co, Zn, Mn e Se) e compostos fenólicos<sup>67</sup>.

Entretanto, quando a produção de radicais livres e/ou espécies reativas supera a capacidade de ação dos antioxidantes, se favorece a oxidação de biomoléculas,

gerando metabólitos específicos, os marcadores do estresse oxidativo, que podem ser identificados e quantificados. Tais marcadores são derivados, sobretudo, da oxidação de lipídeos, proteínas e Ácido Desoxirribonucléico (DNA), gerando perda das funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático celular e de tecidos<sup>68</sup>.

Os antioxidantes por apresentar diferentes propriedades protetivas e agir em diversas etapas do processo oxidativo, funcionando por diferentes mecanismos são classificadas em duas categorias principais: antioxidantes primários e secundários. Os antioxidantes primários (doadores de átomos de hidrogênio), que tem a função de inibir ou retardar a oxidação de radicais livres, e transformar os radicais em substâncias estáveis. Os antioxidantes secundários apresentam uma grande variedade de modos de ação: ligação de íons metálicos (alteração de valência); inativação de ERO, conversão de hidroperóxidos em espécies não-radicalares ou absorção de radiação UV<sup>69</sup>, prevenindo a decomposição dos hidroperóxidos e consequente formação de radicais livres nos tecidos<sup>70</sup>.

Dentre os antioxidantes presentes nos extratos vegetais, os compostos fenólicos destacam-se de outras classes de metabólitos secundários por serem amplamente distribuídos e por apresentarem atividade antioxidante, já comprovadas<sup>71</sup>. Os compostos fenólicos possuem um ou mais grupos hidroxilas ligados a um anel aromático, que podem doar elétrons ou hidrogênio, além disso, seus radicais intermediários estáveis impedem a oxidação de várias moléculas, particularmente lipídios<sup>72</sup>.

Na literatura, muitos autores relatam correlação entre a atividade antirradical livre e compostos fenólicos totais<sup>73,74</sup>. Segundo Melo<sup>75</sup>, a capacidade antioxidante dos extratos vegetais ocorre devido aos constituintes ácidos (fenóis) e suas propriedades redutoras, cuja intensidade da ação antioxidante depende fundamentalmente do número e da posição da hidroxila presentes nas moléculas. Os antioxidantes naturais são na grande maioria compostos fenólicos, havendo três grupos principais: os tocoferóis, os flavonóides e os ácidos fenólicos<sup>76</sup>.

Os compostos fenólicos são representados por uma grande diversidade de moléculas e divide-se em flavonóides (polifenóis) e não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos). Os flavonóides compreendem um grupo de compostos fenólicos amplamente distribuídos nas frutas e nos vegetais, apresentando-se sob muitas variações como flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas

e chalconas<sup>77,78</sup>. São conhecidos mais de 2000 flavonóides e sua nomenclatura deriva do latim *flavus*, que significa amarelo. Nas plantas possuem a finalidade de atrair polinizadores por concederem cores às plantas, mas aparentemente conferem também ação protetora às radiações além de propriedades antioxidantes de proteção ao metabolismo vegetal<sup>79</sup>.

Os flavonóides podem ser encontrados na forma livre ou na forma de heterosídeos (glicosídeos). Os átomos de hidrogênio dos grupos hidroxila adjacentes (orto-difenóis), localizados em várias posições dos anéis A, B e C, as duplas ligações dos anéis benzênicos e a dupla ligação da função oxo (-C=O) de algumas moléculas de flavonóides garantem a esses compostos sua alta atividade antioxidante<sup>80</sup>. O efeito positivo dos flavonóides na saúde animal está associado com sua atividade antioxidante, que em nível celular permite a manutenção de funções celulares normais na presença de estresse oxidativo, como a impedimento da oxidação lipídica da membrana<sup>72</sup>.

Na classe dos não-flavonóides estão os derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico. Os principais compostos fenólicos não-flavonóides derivados dos ácidos hidroxicinâmicos são os ésteres dos ácidos caféico, cumárico e felúrico. Quanto aos derivados dos ácidos hidroxibenzóicos, podem-se destacar os ácidos salicílico, gálico, elágico, protocatéico e vanílico<sup>81</sup>. A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos não-flavonóides está relacionada com a posição dos grupos hidroxilas e também com a proximidade do grupo -CO<sub>2</sub>H em relação ao grupo fenil. Quanto mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil, maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta<sup>82</sup>. Portanto, apresentam a capacidade de interagir com as biomembranas e exercem a função de moduladores da fluidez de modo que há o decréscimo da cinética das reações responsáveis pelo estresse oxidativo<sup>83</sup>.

Os terpenos são princípios aromáticos encontrados em diferentes órgãos vegetais. Por evaporarem quando expostos ao ar em temperatura ambiente, são também chamados óleos voláteis ou óleos etéreos e esta característica é que confere o odor característico dos vegetais, tanto para atração dos polinizadores como repelente de insetos e herbívoros<sup>84</sup>. Quimicamente, são misturas de diversos compostos, os quais podem ser divididos em dois grandes grupos: os derivados terpênicos (mentol e citrônolol) e os derivados do fenilpropano (anetol e eugenol). As

principais características farmacológicas dos terpenos estão relacionadas ao emprego como antisséptico e anti-inflamatório <sup>71</sup>.

Os taninos fazem parte do grupo dos ácidos fenólicos e podem ser classificados em dois grandes grupos, taninos hidrolisáveis e taninos condensados, também denominados de proantocianidinas. Os taninos hidrolisáveis são constituídos por uma mistura de fenóis simples, galotaninos e elagitaninos, que após a hidrólise formam o ácido gálico e ácido elágico, que possuem atividade anti-inflamatória e antioxidante<sup>84</sup>.

De um modo geral, o conteúdo de fenóis totais pode ser determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, que utiliza a redução pelos fenóis, em meio alcalino, do fosfomolibdato-fosfotungstato, a molibdênio, cuja coloração é azul. A base química da metodologia é a redução, pelos grupos hidroxifenólicos, de íons  $Fe^{+3}$  a  $Fe^{+2}$ , que formam complexos com ferrocianeto, produzindo pigmentos de coloração azul. Para isso é necessário a utilização de curva padrão, sendo o padrão mais utilizado o ácido gálico<sup>85</sup>. Por este motivo os resultados são, em geral, expressos em mg de ácido gálico em 100g de peso seco da amostra.

## REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. I Seminário Nacional da Rede de Monitoramento e Controle da Resistência Microbiana em Serviços de Saúde [Internet]. Brasil, ANVISA; 2009.
2. Brugalli I. Alimentação Alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: Simpósio Sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos. 2003, Campinas. Anais... Campinas: colégio brasileiro de nutrição animal, 2003. p.167-182.
3. Rocchi L, Paolotti L, Rosati A, Boggia A, Castellini C. Assessing the sustainability of different poultry production systems: A multicriteria approach, *Journal of Cleaner Production*. 2019; 211.
4. Brenes A, Roura E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*. 2010; 158 (1-2): 1-14.
5. Calo JR, Crandall PG, O'bryan CA, Ricke SC. Essential oils as antimicrobials in food systems - A Review. *Food Control*. 2015; 54: 111-119.
6. Gast RK. *Salmonella* infections. In: swayne, d. E.; glisson, j.r.; mcdougald, l.r.; nolan, l.k.; suarez, d.l.; nair, v. (eds). *Diseases of poultry*. 13. Ed. Ames iowa: wiley-blackwell, 2013. Cap. 16, p.677- 736.
7. Ochoa IMF, Rodriguez AV. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *ReviewArticle*. 2005; 47(1-2):25-42.
8. Popoff MY, Minor LE. Formule antiigeniques des sorovars de *Salmonella*. 1997. P 1-15.
9. Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. *Salmonella* nomenclature. *J Clin Microbiol*. 2000;38(7):2465-2467.
10. Porter SB, Curtiss R. Effect of *inv* mutations on *Salmonella* virulence and colonization in 1-day-old White Leghorn chicks. *Aviária Diseases*. 1997; 41 (1): 45-57.

11. Vugia DJ, Samuel M, Farley MM, Marcus R, Shiferaw B, Shallow S, Smith K, Angulo FJ. Invasive *Salmonella* infections in the United States, FoodNet, 1996\_1999: incidence, serotype distribution, and outcome. *Clinical Infectious Diseases*. 2004; 38:149-156.
12. Centers for disease control and prevention (CDC). 2016. National enteric disease surveillance: salmonella annual report, 2013: centers for disease control and prevention, atlanta, 89p.
13. Grimont PAD, Weill FS. Antigenic formulate of the salmonella serovars. world health organization collaborating centre for reference and research on *salmonella*. 2007, Paris. Institut Pasteur. 9 Ed: P167.
14. Penha filho RAC, Díaz SJA, Fernando FS, Chang YF, Andreatti Filho RL, Berchieri Júnior A. Immunomodulatory activity and control of *salmonella* enteritidis colonization in the intestinal tract of chickens by lactobacillus based probiotic. *Veterinary immunology and immunopathology*. 2015; 167(1): 64-69.
15. Pandini JÁ, Da Silva Pinto FG, Muller JM, Weber LD, de Moura AC. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *salmonella* spp. Isolados de aviários do Paraná. *Arquivos do instituto biológico*. 2014; 82:1-6.
16. Crump JA, Medalla FM, Joyce KW, Krueger AL, Hoekstra RM, Whichard JM, Barzilay EJ. Emerging Infections Program NARMS Working Group. Antimicrobial resistance among invasive non typhoid *Salmonella* enteric isolates in the United States: National Antimicrobial Resistance Monitoring System. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1996 to 2007, 55: 1148 - 1154.
17. Hensel M. *Salmonella* pathogenicity island encoding type III secretion systems. *Microbes and Infection*. Helma, R. A. et al. Pigeon-associated strains of *Salmonella* enteric serovar Typhimurium phage type DT2 have genomic rearrangements at RNA operons. *Infection and Immunity*, v. 72, n. 12, 7338-7341, 2004.
18. Hofer E, Silva Filho SJ, Reis EMF. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 1997; 17, (2); 55-62.
19. Nascimento VP, Oliveira JD, Ribeiro AR, Santos LR, Cardoso MO, Pontes AP, Silva AB, Rocha SLS. Identificação de sorovares de *Salmonella* em cortes e carcaças de frango. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. 1997, Rio de Janeiro, RJ. Anais... Rio de Janeiro: 1997, 287.

20. Pulido-Landínez M., Sanchez-Ingunza R, Guard J, Pinheiro do Nascimento V. Assignment of serotype to *Salmonella* enteric isolates obtained from poultry and their environment in southern Brazil. Letters in Applied Microbiology. Lett Appl Microbiol. 2013; 57(4): 288–294.
21. Dutil L, Irwin R, Finley R, Ng LK, Avery B, Boerlin P, Bourgault AM, Cole L, Daignault D, Desruisseau A, Demczuk W, Hoang L, Horsman GB, Ismail J, Jamieson F, Maki A, Pacagnella A, Pillai DR..Ceftiofur resistance in *Salmonella* enteric serovar Heidelberg from chicken meat and humans, Canada. Emerging Infectious Diseases, 2010; 16, 48-54.
22. Hensel M. Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella* enterica. International Journal of Medical Microbiology. 2001; 3, (7): 549-559.
23. Wilson RL, Elthon J, Clegg S, Jones BD. *Salmonella* enterica serovars gallinarum and pullorum expressing *Salmonella* enterica serovar typhimurium type 1 fimbriae exhibit increased invasiveness for mammalian cells. *Infect Immun*. 2000;68(8):4782–4785.
24. Gast R K, Guraya R, Guard-Bouldin J, Holt PS, Moore RW. Colonization of specific regions of their productive tract and deposition at different locations in side egg slaid by hens infected with *Salmonella* enteritidis or *Salmonella* Heidelberg. AvianDis. 2007; 51: 40–44.
25. He GZ, Tian WY, Qian N, Cheng AC, Deng SX. Quantitative studies of the distribution pattern for *Salmonella* Enteritidis in the internal organs of chicken after oral challenge by a real-time PCR. Vet. Res. Commun. 2010; 34:669–676.
26. Corrêa GSS, Gomes AVC, Corrêa AB, Salles AS. Utilização de antibiótico e probióticos como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. Revista Universidade Rural. 2003; 22(2): 35-81.
27. Collington GK, Park DS, Armstrong DG. The influence of both an antibiotic and a probiotic in the diet on the development of digestive enzyme activity in the pig. British Journal Of Nutrition. 2007; 64: 59-70.
28. Engberg RM, Hedemann MS, Leser TD, Jensen BB. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal micro flora and performance of broilers. PoulSci 2000; 79: 1311.
29. Dumonceaux TJ, Hill JE, Hemmingsen SM, Van Kessel AG. Characterization of intestinal microbiota and response to dietary

- virginiamycin supplementation in the broiler chicken. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72: 2815.
30. Palermo Neto J, Spinosa HS, Górnaiak SL. *Farmacologia Aplicada à Avicultura: Boas Práticas no Manejo de Medicamentos.* São Paulo, Ed. Roca, 2005: 366p.
  31. Dibner JJ, Richards JD. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *PoultSci.* 2005; 84:634.
  32. Lancini JB. Aditivos. In: *FACTA. Fisiologia da digestão e absorção de aves.* Campinas, SP: FACTA.1994; 99-126.
  33. Ali J, Rafiq QA, Ratcliffe E. Antimicrobial resistance mechanisms and potential synthetic treatments. *Future Sci OA.* 2018; 4(4): 290.
  34. Diarra MS, Delaquis P, Rempel H, Bach S, Harlton C, Aslam M, Pritchard J, Topp E. Antibiotic resistance and diversity of *Salmonella* enteric serovars associated with broiler chickens. *J Food Prot.* 2014; 77(1): 40-9.
  35. CDC. National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS): Human Isolates Final Report. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, 2008; 2017; CDC.
  36. Ribeiro AR, Kellermann ALR, Nascimento VP.. Resistência antimicrobiana em *Salmonella* Enteritidis isoladas de amostras clínicas e ambientais de frangos de corte e matrizes pesadas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2008; 60, (5).
  37. Maria Nágila Ferreira Da Costa, Ermesson Mascarenhas Da Silva, Joaquim Furtado De Macêdo, Mirelle Tainá Vieira Lima, Irani Ribeiro Vieira Lopes. Desempenho de frangos de corte de crescimento lento alimentados com resíduos de frutas tropicais. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC' 2015 15 a 18 de setembro de 2015 - Fortaleza-CE, Brasil.
  38. Luiz Carlos Demattê Filho, Gustavo do Valle Pereira. O mercado de frangos e ovos orgânicos e caipira - Potencial de mercado. IN PEC NORDESTE 2017.
  39. Benoit M, Méda B. Enjeux et atouts des productions animales sous signe officiel de qualité pour répondre aux attentes sociales. In: Numéro spécial, *Lévege em Europe: une diversité de services et d'impacts.* Dumont B. (Ed) INRA Prod. Animal., 381-394.

40. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ofício circular nº007/1999.1999. 2p. Estabelece normas para frango caipira e produção de ovos. ABNT NBR 16389:2015 – Avicultura - Produção, abate, processamento e identificação do frango caipira.
41. Rafael Frank, Ricardo Vianna Nunes, Rodrigo André Schone, Angela Poveda Parra e Leandro Dalcin Castilha. Desempenho e parâmetros intestinais de frangos Label Rouge recebendo silagem de grãos úmidos de milho. *Revista Ciência Agronômica*, v. 47, n. 4, p. 761-769, 2016.
42. Hellmeister Filho P, Menten J F M, Silva MAN, Coelho AAD, Savino VJM. Efeito de genótipo e do sistema de criação sobre o desempenho de frangos tipo caipira. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2003; 32: 1883-1889.
43. Maria Nágila Ferreira Da Costa, Ermesson Mascarenhas Da Silva, Joaquim Furtado De Macêdo, Mirelle Tainá Vieira Lim4, Irani Ribeiro Vieira Lopes. Desempenho De Frangos De Corte De Crescimento Lento Alimentados Com Resíduos De Frutas Tropicais. In: Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia. 2015. Fortaleza, Ceará.
44. Santos AL, Sakomura NK, Freitas ER. Estudo do crescimento, desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne de três linhagens de frango de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2005; 34(5): 1589-1598.
45. Aguiar APS. Opinião do consumidor e qualidade da carne de frangos criados em diferentes sistemas de produção. 2006. 70p. Dissertação (mestrado em ciência e tecnologia de alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
46. Farina T MQ, Fagá S. A percepção dos consumidores de frangos alternativos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 2002. Anais... [S.l.]: SOBER, 2002.
47. Bona, EAM, Pinto FGS, Borges AMC, Scur MC, Fruet TK, Weber LD, Alves LFZ, Moura AC. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Extratos Vegetais Frente a Sorovares de Salmonella. spp. de Origem Avícola. *UNOPAR CientCiêncBiol Saúde*. 2013;15(1): 41-46.
48. Zago JAA, Ushimaru PI, Barbosa LN, Fernandes Junior A. Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. *Braz J Pharmacogn*. 2009;19:82-83.
49. Chagas Neto FC.. Desenvolvimento do extrato seco de *Libidibiaferrea* (JUCÁ) como alimento funcional: caracterização química e avaliação das atividades antioxidante e anti-inflamatória em modelo deneuroinflamação.

- Dissertação (mestrado): Ciências farmacêuticas. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2018.
50. Rocha MS, Figueiredo RW, Araújo MAM, Moreira-Araújo RSR. Caracterização físico-química e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense. *Ver.Bras.Frútic.* 2013; 35(4): 933-94.
51. Alves Tânia Maria de Almeida, Silva Andréia Fonseca, Brandão Mitzi, Grandi Telma Sueli Mesquita, Smânia Elza de Fátima A, Smânia Júnior Artur. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2000; 95(3): 367-373.
52. Souza JH, Almeida JM, Figueiredo MC, Pequeno AS, Arruda TA, Antunes RMP, Catão RMR 2010. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcoólico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.). Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. *Ver.Bras.Anál. Clín.* 2010; 42(1): 7-31.
53. Pinho L, Souza PNS, Macedo SE, Almeida AC, Martins ER. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. *Ciência Rural*, 2012; 42, (2): 326-331.
54. Dias SRK, Alcantara MMAC, Pessoa SMA. Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects Rubiaceae species in Brazil. *Rev Cubana Plant Med.* 2013; 18(1): 140-156.
55. Pacheco P, Da-Paz JG, Silva CO, Pascoal GB. Composição centesimal, compostos bioativos e parâmetros físico-químicos do Jenipapo (*Genipa americana L.*) in natura. *DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde* 2014; 9:1041-1054.
56. Gonçalves Silveira Teixeira, MI, Félix de Paiva C. da Silva Barros JF, Alencar Juliao Cabral G; Vasconcelos Silva MG. Determinação do teor de fenóis, flavonóides totais e atividade antioxidante em extratos etanólicos de *Libidibia ferrea* Mart. exTul. (pau-ferro) coletado em Tauá-Ce. In.: 4º Simpósio Nordeste de Química. Mossoró, 2018.
57. Chagas Neto, FC. Desenvolvimento do extrato seco de *Libidibia ferrea* (JUCÁ) como alimento funcional: caracterização química e avaliação das atividades antioxidante e anti-inflamatória em modelo de neuroinflamação. Dissertação (mestrado): Ciências farmacêuticas. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2018.

58. Pereira LP, Gomes de Queiroz CV, Gonçalves Pereira M, Assreuy AMS. Uso de extratos de polissacarídicos da planta medicinal caesalpinea ferrea na estimulação do edema na pata de ratos. *Ciência Animal*. 2018; 28 (1): 56-70.
59. Akacha NB, Gargouri M. Microbial and enzymatic technologies used for the production of natural aroma compounds: Synthesis, recovery modeling, and bioprocesses. *Food and Bioproducts Processing*. 2014; 94: 675–706.
60. Nass LL. Recursos genéticos vegetais. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos Vegetais e Biotecnologia, 2007.
61. Podsedek A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Sci. Technol*, v. 40, p. 1-11, 2007.
62. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *Febs Letters*, v. 486, n. 1, p. 10-13, 2000.
63. Machado LP, Kohayagawa A, Saito ME, Silveira VF, Yonezawa LA. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. 2009; 8(1): 84-94.
64. Oliveira, MC, Schoffen JPF. Oxidative stress action in cellular aging. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2010; 53(6): 1333-1342.
65. Garcez M, Bordin D, Peres W, Salvador M. Radicais Livres E Espécies Reativas. In: Salvador, M.; Henrique, J. A. P. Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. Ulbra, Canoas, 2004. p. 13-33.
66. Mclean JA, Karadas F, Surai P, Mcdevitti R, Speak B. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2005; 141(B): 366- 372,.
67. Yang ZG, Li HR, Lu SG, Wang J, Daikonya A, Kitanaka S. Triterpenoids from *Hippophaerhamnoides L.* and their nitric oxide production-inhibitory and DPPH radical scavenging activities. *Chem Pharm Bull*. 2007; 55: 15-18
68. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem*. 2005; 53(6): 1841-56.
69. Maisuthisakul P, Suttajit M, Pongsawatmanit R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, London. 2007; 100: 1409-1418.

70. Welch KD, Davis TZ, Eden MEV, Aust SD. Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. *Free Radic Biol Med.* 2002; 32(7):577-83.
71. Baser KHC, Demirci F. Chemistry of Essential Oils. In: BERGER, R.G. (ed.). *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability.* Springer Science & Business Media. 2007; 4: 75-76.
72. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie.* 1995; 28: 25-30.
73. Cho C, Choi SY, Luo ZW, Lee SY. Recent advances in microbial production of fuels and chemicals using tools and strategies of systems metabolic engineering. *Biotechnology Advances.* 2015; 33(7), 1455-1466.
74. Correia SJ, David JM, da Silva E P, David JP, Lopes LMX, Guedes LMS. Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das Folhas de *Tapiriraguianensis*. *Química Nova.* 2008; 38(8): 2056-2059.
75. Melo Filho GC, Alvino V, Lima MRF, Sant'Ana AEG. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de *Lafoesia pacari* A. St.-Hil. Lythraceae, frente a bactérias multirresistentes de origem hospitalar. *Braz J Pharmacogn.* 2009; 19:785-9.
76. Sies H 1997. Antioxidants in disease mechanisms and therapy. *Advances in Pharmacology*, Academic Press. 1997; 707.
77. Graham HD. Stabilization of the Prussian blue color in the determination of polyphenols. *J. Agric. Food Chem., Columbus.* 1992; 40(5): 801-805.
78. Van Acquire SA. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med.* 1996; 20(3): 331-342.
79. Hanasaki YS, Ogawa S, Fukui. The correlation between active oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med.* 1994; 16:845-850.
80. Rice-Evans CA; Miller NJ; Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, New York. 1996; 20(7): 933-956.
81. Cho C, Choi S, Luo ZW, Lee SY. Recent advances in microbial production of fuels and chemicals using tools and strategies of systems metabolic engineering. *Biotechnology Advances*, 2015; 33, (7), 1455-1466.

82. Hrazdina G, Borzel AJ, Robinson WB. Studies on the stability of the anthocyanidin-3,5-diglucosides. *Am. J. Enol. Vitic.* 1970; 21(4): 201-204.
83. Lemon JA, Rollo CD, Boreham DR. Elevated DNA damage in a mouse model of oxidative stress: impacts of ionizing radiation and a protective dietary supplement. *Mutagenesis.* 2008; 23(6):473-82.
84. Harvey MI. Analysis of hydrolysable tannins. *Animal Feed Sci. Technol.*, 2001; 91:3-20.
85. Rossi Junior JA, Singleton VL. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture.* 1965; 16(3): 144-158.

## CAPÍTULO 2 - COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE PLANTAS NATIVAS DO CERRADO

**RESUMO:** Objetivou-se com esse trabalho avaliar a atividade antimicrobiana de sete extratos vegetais etanólicos de plantas nativas do cerrado brasileiro (Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), Jacarandá (*Machaerium villosum*), Jenipapo (*Genipa americana*), Pau-terra (*Qualea parviflora*), Pau-ferro (*Connarus suberosus*), Murici (*Byrsonima crassifolia*), Mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*)), assim como a concentração de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante dos extratos. Os compostos fenólicos dos extratos vegetais foram determinados por meio de espectroscopia na região do visível, utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu. A determinação da capacidade antioxidante dos extratos vegetais foi realizado pelo método de seqüestro de radicais livres por solução de ABTS. A atividade antimicrobiana *in vitro* dos sete extratos vegetais etanólicos frente à *Salmonella Heidelberg* foi realizada por meio do método de disco difusão. Os resultados da análise antimicrobiana dos extratos frente *Salmonella Heidelberg* foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Os dados dos compostos fenólicos e antioxidantes foram submetidos à análise descritiva. Os extratos vegetais etanólicos apresentaram variação de 6,48 a 59,81 g EAG/mL de compostos fenólicos totais e 595 a 1098,33 µmol/L de atividade antioxidante. O extrato vegetal etanólico de Pau-terra apresentou atividade antimicrobiana moderada frente *Salmonella Heidelberg* (diâmetro de halo 9,5 %). Os extratos vegetais etanólicos de Barbatimão Jacarandá, Mama-cadela, Jenipapo, Pau-ferro e Murici não apresentaram atividade antimicrobiana frente *Salmonella Heidelberg* (diâmetro de halo 5mm).

**Palavras-chave:** aditivos fitogênicos, antimicrobianos, fitomoléculas, plantas medicinais

## CHAPTER 2 - PHENOLIC COMPOUNDS, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NATIVE CLOSED PLANTS

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the extracts of Brazilian Cerrado plants, Jacarandá (*Machaerium villosum*), Jenipapo (*Genipa americana*), Pau-terra (*Qualea parviflora*), Pau-terra (*Qualea parviflora*), Pau-terra *Qualea parviflora*), Pau-terra (*Qualea parviflora*). iron (*Connarus suberosus*), Murici (*Byrsonima crassifolia*), Mama-bitch (*Brosimum gaudichaudii*), as well as a concentration of phenolic compounds and an antioxidant activity of the extracts. The phenolic compounds of the plant extracts were determined by spectroscopy in the visible region, using the Folin-Ciocalteu method. The date of the antioxidant capacity of the vegetal extracts was determined by the method of sequestration of free radicals by solution of ABTS. The in vitro antimicrobial activity of the seven plant extracts in *Salmonella* Heidelberg medium was carried out using the disc diffusion method. The results of the antimicrobial analysis of the extracts ahead of *Salmonella* Heidelberg were submitted to analysis of variance (ANOVA). The phenolic compounds and antioxidants were submitted to descriptive analysis. The extracts normal showed a greater variation from 6.48 to 59.81 g EAG / mL of phenolics at 595 to 1098.33  $\mu\text{mol} / \text{L}$  of antioxidant activity. The ethanolic vegetal extracts of Barautimão Jacarandá, Mama-bitch, Jenipapo, Pau-ferro and Murici not-a-line were presented with the ethanolic vegetal extract of Pau-earth presented the moderate antimicrobial activity before *Salmonella* Heidelberg (halo diameter to 9,5%. Antimicrobial activity against *Salmonella* Heidelberg (halo diameter 5mm).

**Keywords:** phyto-genetic additives, antimicrobials, phyto-molecules, medicinal plants

## 1. INTRODUÇÃO

A *Salmonella* Heidelberg tem sido considerada entre as sorovares uma das mais isoladas em casos de salmoneloses humana e mais presentes em aviários em todo o mundo. Segundo relatório emitido em anualmente pela Agência Pública de Saúde do Canadá<sup>1</sup>, a *Salmonella* Heidelberg é a terceira sorovar mais encontrada em humanos no Canadá e a quinta sorovar encontrada nos EUA.

Um dos maiores problemas relacionados às *Salmonellas* spp. é a resistência aos antibióticos largamente utilizados na terapêutica humana e nos sistemas de produção animal. Segundo Mion<sup>2</sup> a *Salmonella* Heidelberg apresenta resistência principalmente aos antibióticos relacionados à ceftriaxona (cefalosporina de terceira geração). Em trabalho realizado por Mion<sup>2</sup> foi identificado a ocorrência de progressão da resistência antimicrobiana de sorovares de *Salmonella* Heidelberg isolados em abatedouro de aves no período de quatro anos, uma vez que 46,1% das amostras isoladas em 2005 foram resistentes a um princípio ativo e todos os isolados em 2009 foram resistentes a pelo menos quatro princípios ativos.

Devido as evidências encontradas de resistência à antimicrobianos por diversas bactérias, a União Européia proibiu o uso dos antibióticos moderadores de crescimento. Nesse cenário, variados estudos vêm testando o potencial antimicrobiano de extratos vegetais e óleos essenciais frente aos diversos microrganismos de importância patogênica. Dentre estes trabalhos, o estudo desenvolvido por Wiest<sup>3</sup> avaliando a atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente a isolados de *Salmonella* spp., constataram que, dos extratos (etanólicos e hidroalcolóicos) de 86 diferentes espécies vegetais, 58 % apresentaram alguma inibição ou inativação sobre *Salmonella* spp. Um trabalho semelhante foi desenvolvido por Bona<sup>4</sup>, ao estudar o efeito de nove extratos vegetais de diferentes plantas sobre *Salmonella* ssp., verificaram que de todos os extratos estudados somente um não apresentou efeito bacteriostático ou bactericida.

As plantas, por meio do metabolismo secundário, são capazes de sintetizar uma diversidade de moléculas, como os alcalóides e compostos fenólicos que participam das funções de proteção contra fatores ambientais estressores e atração de insetos polinizadores<sup>5</sup>. Devido ao potencial antimicrobiano dessas moléculas, a

medicina humana e veterinária vem empregando extratos de plantas, concentrados em algum princípio ativo no tratamento de doenças<sup>6,7,8</sup>.

O extrato vegetal do Jenipapo possui os ácidos genípico e genípinico os quais são considerados potenciais moléculas de efeito antimicrobiano. O extrato de Jacarandá é largamente utilizado por apresentar compostos polifenólicos e triterpênicos que conferem alto potencial antimicrobiano<sup>9</sup>. O extrato vegetal do pau-terra promove ação antibacteriana sobre o *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*, além de apresentar efeito antioxidante<sup>10,11</sup>.

Em trabalho desenvolvido por Carvalho<sup>12</sup>, foi descrito como efeitos do extrato vegetal de pau-ferro, as atividades antiinflamatória, antimicrobiana e analgésica. Gellen<sup>14</sup> quando encontraram o efeito bactericida do extrato do Murici sobre *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. A planta mama-cadela apresenta constituintes químicos como furocumarinas (bergapteno, psoraleno, xantiletina, luvangetina, gaudichaudina), saponinas, taninos, protoantocianidinas e alcalóides, os quais indicam haver potencial antimicrobiano de seu extrato.

Diante disso, objetivo-se avaliar a atividade antimicrobiana de sete extratos vegetais etanólicos de plantas nativas do cerrado brasileiro (Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), Jacarandá (*Machaerium villosum*), Jenipapo (*Genipa americana*), Pau-terra (*Qualea grandiflora*), Pau-ferro (*Connarus suberosus*), Murici (*Byrsonima crassifolia*), Mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*)), assim como a concentração de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante destes extratos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O potencial antimicrobiano dos extratos vegetais de sete plantas do cerrado brasileiro frente a *Salmonella* Heidelberg foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina Veterinária da UPIS (União Pioneira de Integração Social), Planaltina-DF. Foram escolhidas sete plantas, Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), Jacarandá (*Jacaranda decurrens*), Jenipapo (*Genipa americana*), Pau-terra (*Qualea grandiflora*), Pau-ferro (*Libidibia ferrous*), Murici (*Byrsonima crassifolia*), Mama-cadela nólicos e (*Brosimum gaudichaudii*) para produzir os extratos vegetais etanólicos a partir deles avaliar a atividade antimicrobiana frente *Salmonella* Heidelberg, o conteúdo total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante.

### 2.1. Coleta e identificação do material vegetal

As espécies vegetais escolhidas fazem parte da flora do bioma cerrado brasileiro e foram coletadas na região de Planaltina-DF. Coletou-se 4 kg da parte aérea de cada espécie. As espécies foram identificadas no Herbário das Faculdades UPIS (União Pioneira de Integração Social), Planaltina-DF. No preparo das amostras coletadas para a extração dos compostos ativos foi necessário realizar uma limpeza prévia, seguido da pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. Logo após a pré-secagem, o material foi triturado em moinho de facas tipo Willey e acondicionado em sacos plásticos herméticamente fechados.

### 2.2. Preparo dos extratos vegetais etanólicos

Os extratos vegetais etanólicos foram produzidos e cedidos pelo Laboratório de Bioquímica da faculdade UPIS localizada em Planaltina-DF, Campus II. Foram produzidos sete tipos de extratos vegetais etanólicos a partir das folhas de: Jacarandá (*Jacaranda decurrens*), Jenipapo (*Genipa americana*), Pau-terra (*Qualea grandiflora*), Pau-ferro (*Libidibia ferrous*), Murici (*Byrsonima crassifolia*), Mama-cadela nólicos e (*Brosimum gaudichaudii*). O extrato de Barbatimão

(*Stryphnodendron adstringens*) foi produzido a partir das casas. As folhas selecionadas e a casca do Barbatimão foram colocadas em estufa de secagem com circulação e renovação de ar a 36 °C durante 48 horas. Depois de secas, as folhas foram moídas (Figura 2.1) em moinho de facas tipo Willey (Modelo TE-650 da Tecnal), utilizando-se peneira com a malha de 0,59 mm. O material moído foi armazenado em sacos plásticos com 30g cada um, selados com seladora elétrica, devidamente identificada com o nome da planta e armazenada à temperatura ambiente em local escuro. O extrato etanólico de cada espécie de planta foi obtido a da maceração de 100g de material moído juntamente com 500 mL de etanol 95% P.A. Esse processo teve a duração de uma semana. Logo em seguida o material foi filtrado e evaporado em rotaevaporador à 40°C por 2 horas. Para o ideal acondicionamento dos extratos brutos foram utilizados frascos com tampa rosqueada e armazenado sob refrigeração para ser utilizado no ensaio, *in vitro*.

### 2.3.Determinação de compostos fenólicos dos extratos vegetais

A determinação de compostos fenólicos totais presentes nos extratos etanólicos das folhas foi realizada por meio de espectroscopia na região do visível, utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu, que contém uma mistura de ácidos fosfomolibdico e fosfotunguístico, com formação de um complexo de coloração azul de absorção máxima em 760 nm na presença de um agente redutor. Para esse procedimento foi utilizado uma alíquota de 1 mg/mL de cada extrato bruto e dissolvida em metanol, em seguida, transferida para um balão volumétrico de 50 mL e o volume final completado com solvente. Para a reação colorimétrica, foi utilizada uma alíquota de 0,5 mL da solução metanólica do extrato misturada à 2,5 mL de solução aquosa do reativo Folin- Ciocalteu 10% e, 2 mL de solução de carbonato de sódio 7,5 %. A mistura foi incubada em banho aquecido a 50°C por 5 min, e resfriadas em temperatura ambiente. Posteriormente a absorbância foi medida no comprimento de onda 760 nm<sup>13</sup>. A absorbância (Aa) da fração líquida foi determinada a 760 nm em espectrofotômetro Biochrom Libra S12. Curva de calibração de ácido gálico foi utilizada para quantificação dos fenóis totais (Figura 1). Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mg EAG.100 g-1).

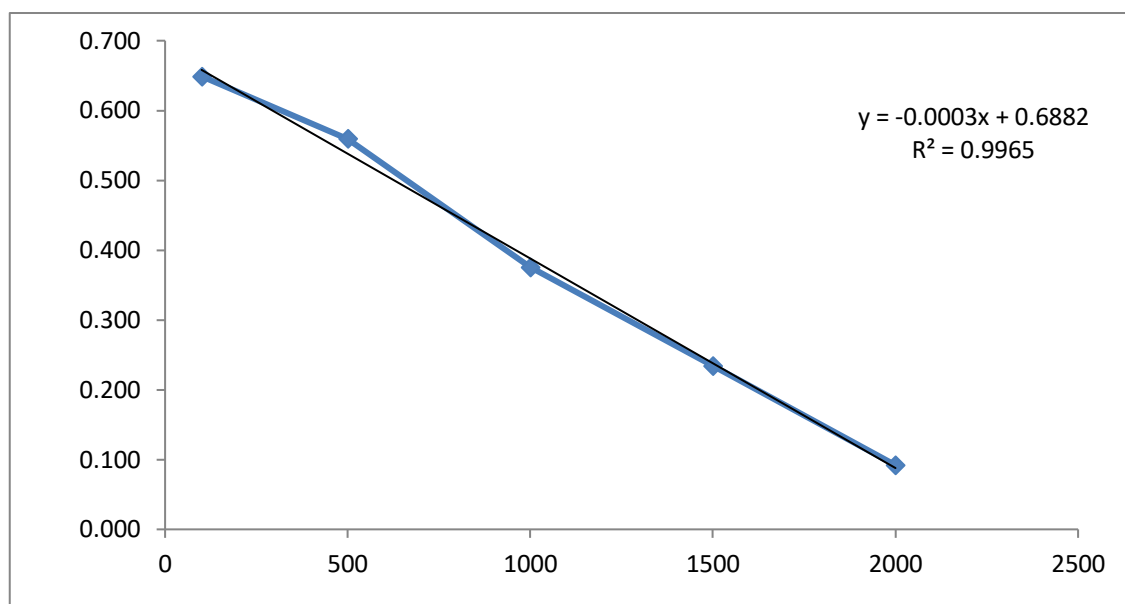


FIGURA 1. Curva padrão de ácido gálico a 760 nm (Folin-Ciocalteu) em D.O. utilizada para compostos fenólicos com equação da reta com valor  $R^2=0,996$ .

#### 2.4. Determinação da atividade antioxidante dos extratos vegetais *in vitro*

Para avaliar a capacidade antioxidante dos extratos vegetais foi utilizado o método de captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática<sup>15</sup>. A solução de ABTS+ foi preparada pela reação de ABTS 7 mM (5 mL) e 2,45 mM (88  $\mu$ L) de persulfato de potássio, após incubação à temperatura ambiente no escuro, durante 16 h. Foi então diluída com etanol a 80% para se obter uma absorbância de  $0,700 \pm 0,005$  a 734 nm. A solução ABTS+ (2,7 mL) foi cuidadosamente misturada com 0,3 mL das amostras do teste. A mistura de reação foi deixada em repouso a 30°C, durante 30 min., e a absorbância a 734 nm foi medida em espectrofotômetro (Marca QUIMIS, modelo Q798U2M).

#### 2.5. Preparação dos inóculos para teste *in vitro*

A incubação e os testes antimicrobianos foram realizados no Laboratório de microbiologia da UPIS, Planaltina – DF. O inóculo (*Salmonella* Heidelberg) foi preparado de amostras oriundas de frangos de corte cedidas pelo Laboratório de

Bacteriologia, da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

A *Salmonella* Heidelberg foi mantida a - 80 °C em caldo Infusão de cérebro e coração (caldo BHI, Merck) contendo 20 % de glicerol. As culturas de trabalho foram preparadas pelo subcultivo de 100 µL da cultura estoque em 9 mL de caldo BHI e incubadas a 35°C por 12 horas.

## 2.6. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro*

A avaliação da atividade antimicrobiana dos sete extratos vegetais etanólicos frente à *Salmonella* Heidelberg, determinando-se a sua suscetibilidade, foi realizada por meio do método de disco difusão adaptado, recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute<sup>17</sup>. Dessa forma foi semeado, com o auxílio de um *swab* estéril, o inóculo de forma uniforme por toda a superfície da placa de Petri, contendo ágar Müeller-Hinton. Foram utilizadas sete placas diferentes e em cada placa foram adicionados 5 discos de papel filtro estéreis com 5 mm de diâmetro, cada disco foi impregnado com 1mg/mL em solução salina 0,85% de algum dos sete extratos vegetais. As placas semeadas e contendo os discos foram invertidas e incubadas em estufa à 36 (± 1°C) por 24 horas. A placa com os discos + inóculo de *Salmonella* Heidelberg foi considerada um tratamento e cada disco, uma repetição. Os resultados da susceptibilidade aos produtos vegetais foram expressos em termos de tamanho de diâmetro do halo de inibição do crescimento microbiano. O resultado final de cada tratamento foi dado em milímetros (mm) e foi obtido pela média das 5 repetições. Para a avaliação da susceptibilidade da *Salmonella* Heidelberg foi utilizada a metodologia de análise do diâmetro do halo adaptada por Ayres<sup>18</sup>, na qual, o halo sendo menor que 9 mm foi considerado que a bactéria é resistente ao extrato-vegetal; halo de 9-14 mm, a bactéria apresenta resistência moderada; halo de 14 a 17 mm é considerado que a bactéria é sensível, e halo maior que 17 mm, a bactéria apresenta alta sensibilidade.

## 2.7. Análise estatística

Os resultados da análise antimicrobiana dos extratos frente *Salmonella* Heidelberg foram submetidos à análise de variância utilizando o programa estatístico GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, USA).

Para análise dos dados da determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante dos extratos, foi utilizada análise descritiva, avaliando-se a média das três repetições de cada extrato nessas determinações.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na determinação dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante estão apresentados na Tabela 1. Os extratos avaliados apresentaram teores de compostos fenólicos variando de 6,48 a 59,81, sendo o menor teor de compostos fenólicos conferido no extrato vegetal de Jenipapo (6,48) e o maior teor no extrato de Pau-ferro (59,81).

TABELA 1. Concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos vegetais etanólicos

Extratos vegetais etanólicos (1µg/mL)	Concentração de compostos fenólicos totais mg EAG/mL	Atividade Antioxidante µmol/L
Barbatimão, casca ( <i>Stryphnodendron adstringens</i> )	16,25	1098,33
Jacarandá ( <i>Jacaranda decurrens</i> )	17,31	595,00
Jenipapo ( <i>Genipa americana</i> )	6,48	1045,00
Pau-terra ( <i>Quelea grandiflora</i> )	48,52	1045,00
Pau-ferro ( <i>Libidibia ferrea</i> )	59,81	1055,00
Murici ( <i>Byrsonima crassifolia</i> )	41,10	978,33
Mama-cadela ( <i>Brosimum gaudichaudii</i> )	39,73	1018,33

A concentração de compostos fenólicos identificados no extrato etanólico da casca do *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) foi de 16,25 mgEAG/mL. Este resultado é semelhante ao encontrado por Souza<sup>19</sup>, ao avaliar também extrato etanólico da casca de *Stryphnodendron adstringens*, no qual relatou haver 22,95 mgEAG/mL de compostos fenólicos totais. Entretanto, Souza<sup>20</sup> encontrou resultados diferentes (75,09 mgEAG/mL) de teor de compostos fenólicos totais no extrato vegetal de barbatimão. Os compostos fenólicos já identificados nos extratos de

Barbatimão foram os taninos, os flavonóides, os terpenos e alcalóides, compostos fenólicos inibidores de proteases e tripsina, além das saponinas, esteróides e estilbenos<sup>21, 22, 23</sup>. Estes compostos fenólicos tem proporcionado benefícios em tratamentos e prevenções de doenças por possuírem ação antioxidante, anti-inflamatória<sup>24</sup>, antifúngica<sup>25</sup>, antimicrobiana, antisséptica<sup>26</sup>, cicatrizante e aumento da atividade enzimática gástrica<sup>27, 28</sup>.

Em relação ao conteúdo total de compostos fenólicos do extrato de Jenipapo (*Genipa americana*), foi encontrado 6,48 mgEAG/mL. Esse resultado está em concordância com os encontrados no trabalho de Porto<sup>29</sup>, no qual foi obtido o valor de 8,57 mgEAG/g. No trabalho realizado por Barbosa<sup>30</sup>, no qual estudou os compostos fenólicos presentes no extrato do fruto do Jenipapo, também encontrou resultado semelhante ao do presente estudo, 4,74 mgEAG/g de compostos fenólicos. Contudo, em estudo desenvolvido por Borges<sup>31</sup>, foi relatado no extrato de folhas do Jenipapo teores menores aos do presente estudo, 3,38 mgEAG/g. Os compostos fenólicos encontrados nos extratos de Jenipapo são os taninos, os flavonóides, os terpenos, os alcalóides<sup>31</sup>, iridóides, manitol, metil-ésteres, hidantoína e antraquinonas<sup>32</sup>. Essas substâncias possuem atividades como repelente de insetos, adstringente, antiinflamatórias e ação antimicrobiana<sup>33</sup>.

Em relação aos compostos fenólicos do extrato etanólico da folha do Jacarandá (*Jacaranda decurrens*) foi obtido o total de 17,36 mgEAG/mL. Ao avaliar o extrato bruto da mesma espécie vegetal, Carvalho<sup>34</sup> encontraram 48,0 mgEAG/mL compostos fenólicos. Dentre estes compostos foram relatados, principalmente, a presença de triterpenos, ácidos ursólicos e oleanólico e flavonóides<sup>35</sup>.

No tocante aos compostos fenólicos encontrados no extrato etanólico de Pau-terra (*Quelea grandiflora*), observa-se a segunda maior concentração obtida, 48,52 mgEAG/mL. Os trabalhos publicados na literatura demonstram que o Pau-terra possui concentração de compostos fenólicos semelhantes. No trabalho de Souza<sup>19</sup> foi descrito 39,90 mg EAG/mL de compostos fenólicos em extrato metanólico da folha. De forma semelhante foi mencionado no estudo de Chagas Neto<sup>36</sup>, 28,37 mg EAG/mL de compostos fenólicos no extrato hidroalcoólico.

A maior concentração de compostos fenólicos foi encontrada no extrato etanólico de Pau-ferro (*Libidibia ferrea*), 59,81 mg/mL EAG. A literatura informa

resultados discrepantes dos encontrados no presente estudo. No estudo de Gonçalves Silveira<sup>37</sup> foi identificado valores de 113,06 mg EAG/g no extrato da casca, e 31,18 mg EAG/g no extrato de raízes do Pau-ferro.

Em relação aos compostos fenólicos do extrato etanólico do Murici (*Byrsonima crassifolia*) foi observada a concentração 41,10 mg EAG/mL. Resultado semelhante é encontrado no trabalho desenvolvido por Moraes<sup>33</sup>, no qual foi identificada concentração de compostos fenólicos de 50 mg EAG/100g no extrato etanólico das raízes e de 77 mg EAG/100g no extrato da polpa do murici.

A respeito da concentração de compostos fenólicos totais do extrato de Mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii*) foi encontrado 39,73 mg EAG/mL. De modo semelhante foi relatado por Land<sup>34</sup> ao analisarem o extrato de mama-cadela que apresentou 46,47 mgEAG/100g. Contudo, Rocha<sup>38</sup>, estudando a concentração de fenóis por outro método de extração, verificaram que na extração com cetona 70 %, apresentou maior valor de compostos fenólicos, 177 mg EAG/100g.

Observa-se nos trabalhos com extratos vegetais e óleos essenciais divergências nas concentrações de compostos fenólicos. De acordo com Dweck<sup>39</sup>, as variadas concentrações dos compostos fenólicos obtidas em testes com extratos vegetais ocorrem devido aos fatores variáveis em que as plantas são cultivadas como os fatores ambientais (clima e solo), ao estágio fisiológico e que são coletadas e às variedades dentro de uma mesma espécie de planta. Além disso, existem diversos protocolos utilizados na extração dos extratos que podem influenciar na quantificação dos compostos fenólicos obtidos.

Acerca do estudo da atividade antioxidante dos extratos etanólicos, os resultados encontram-se na Tabela 1. Todos os extratos vegetais etanólicos estudados possuem atividade antioxidante variando de 595,00  $\mu\text{mol/L}$  a 1098,33  $\mu\text{mol/L}$ . O extrato da casca de Barbatimão foi o de maior potencial antioxidante (1098,33  $\mu\text{mol/L}$ ) dentre os extratos estudados. Segundo Santos<sup>40</sup> e Fonseca<sup>41</sup>, a casca do Barbatimão possui altas concentrações de metabólitos da classe dos taninos, os quais conferem três propriedades gerais responsáveis pela maior parte das atividades farmacológicas: a formação de complexos com íons metálicos, a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e a habilidade de formar complexos com outras moléculas tais como proteínas e polissacarídeos.

As moléculas de taninos já isoladas e elucidadas na casca do Barbatimão são tanino hidrolisável ácido gálico e dos taninos condensados galocatequina, epigalocatequina, 4'-*O*-metil-galocatequina, epigalocatequina-3-*O*-galato, epigalocatequina-3-*O*-(3",5"- dimetil)-galato, epigalocatequina-3-*O*-(3"-metoxi)-4"-hidroxibenzoato, 4'-*O*-metil-galocatequina-(4 8)-4'-*O*metil- galocatequina, 4'-*O*-metil-robinetinidol-(4 8)-4'-*O*metil- galocatequina e 4'-*O*-metil-robinetinidol-(4 8)-4'-*O*-metil-epigalocatequina<sup>42, 42, 44</sup>. No trabalho desenvolvido por Souza<sup>45</sup>, o extrato da casca do barbatimão apresentou alto potencial de se seqüestro de radicais livres (98,14%), ao utilizar método DPPH e protocolo de extração com etanol a 70 %.

A respeito da atividade antioxidante do extrato de Jacarandá, foi o que apresentou o menor potencial antioxidante dentre os estudados. Comparando com o extrato da casca do Barbatimão, que apresentou a maior atividade antioxidante, a diferença entre os dois extratos é de 54,17%. No trabalho realizado por Souza<sup>19</sup> foi relatado que a capacidade de seqüestro de radicais livres dos compostos fenólicos presente no extrato de Jacarandá apresentou alta atividade antioxidante. Segundo Yamaguchi<sup>46</sup> os compostos fenólicos presentes nos extratos do Barbatimão têm recebido grande atenção por suas propriedades redutoras. Essas substâncias têm capacidade de sequestrar radicais livres, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. De acordo com Carvalho<sup>47</sup> e Santos<sup>48</sup>, a atividade antioxidante do extrato bruto de Jacarandá, assim como o extrato diluído pode estar relacionada à presença dos ácidos ursólico e oleanólico. Recentemente foi comprovado que esses triterpenos apresentam atividade antioxidante não enzimática e que o ácido úrsólico também atua como inibidor da apoptose celular<sup>49</sup>.

Quanto ao extrato etanólico das folhas de Jenipapo foi encontrado alta atividade antioxidante, 1.045 µmol/L. Conforme Nascimento<sup>50</sup>, o extrato das cascas e frutos de Jenipapo apresentam alto potencial antioxidante. No trabalho realizado por Pacheco<sup>51</sup> também verificaram a atividade antioxidante do extrato etanólico dos frutos do Jenipapo e obtiveram o valor de porcentagem de inibição de oxidação do radical livre DPPH de 70,2%. Apesar do extrato etanólico ter apresentado pequena concentração de compostos fenólicos (6,48 mg/mL EAG), uma justificativa para este extrato ter apresentado alta atividade antioxidante pode estar respaldada no fato de possui altos teores de ácido ascórbico<sup>33</sup>.

A cerca do extrato de Pau-terra foi identificado atividade antioxidante de 1.055,0  $\mu\text{mol/L}$ . Na pesquisa desenvolvida por Souza<sup>19</sup>, relatou-se que a atividade antioxidante do extrato de Pau-terra foi de 45 % (50,16  $\mu\text{g/mL}$ ), considerdara moderada. Entretanto, Rocha<sup>40</sup> identificaram que, para evitar a oxidação e levar a estabilização do DPPH foram necessários somente 8,53  $\mu\text{g/mL}$  de extrato de Pau-terra, dessa forma, consideraram alta atividade antioxidante para o extrato de Pau-terra. No trabalho realizado por Lima Neto<sup>52</sup> o extrato de Pau-terra também foi considerado de alta atividade antioxidante, sendo necessário somente  $1,31 \pm 0,19$   $\mu\text{g/mL}$  de extrato para estabilizar o DPPH. Segundo Souza<sup>18</sup>, o poder antioxidante do extrato da folha do Pau-terra deve-se à presença dos compostos fenólicos, sendo que os de maior concentração encontrados em seu trabalho foram os flavonóides, alcalóides, saponinas e taninos.

Com relação ao extrato vegetal etanólico de Pau-ferro foi encontrado potencial atividade antioxidante, 978,33  $\mu\text{mol/L}$ . Em estudo, Gonçalves Silveira<sup>37</sup> observaram que o extrato metanólico das raízes de Pau-ferro apresentou moderada atividade antioxidante, 502,54  $\mu\text{g/mL}$ . Entretanto, no trabalho de Rocha<sup>43</sup> foi relatado que o extrato hidroalcoólico das vagens do Pau-ferro, apresentou alto potencial antioxidante, 99,76 % (método ABTS), e 90,61 % de redução pelo método DPPH em extrato com concentração de 1000  $\mu\text{g/mL}$ . O Segundo Souza<sup>53</sup>, a capacidade antioxidante do extrato bruto do Pau-ferro está associada à presença dos compostos antraquinonas, alcalóides, depsidos, depsidonas, flavonóides, lactonas, saponinas, açúcares, taninos, sesquiterpenos e triterpenos, sendo os taninos o principal componente.

Quanto ao extrato etanólico das folhas de Murici, apresentou potencial atividade antioxidante de 835,00  $\mu\text{g/mL}$ . Semelhante resultado foi descrito no trabalho realizado por Carvalho<sup>54</sup> ao relatarem que o extrato etanólico das cascas do Murici apresentou alta atividade antioxidante, 618,95  $\mu\text{g/mL}$  (método DPPH). Na pesquisa desenvolvida por Morzelle<sup>55</sup>, foi observado potencial antioxidante do extrato do fruto de 56 mg/g (método DPPH). De acordo com Canuto<sup>56</sup>, a presença de ácido ascórbico e de compostos fenólicos nos extratos promove a atividade antioxidante.

O extrato etanólico das folhas de Mama-cadela apresentou 1018,33  $\mu\text{mol/L}$  de capacidade antioxidante. Segundo Land<sup>33</sup> o extrato de mama-cadela apresenta 85

% de atividade antioxidante (método DPPH), caracterizando-o de alta atividade antioxidante. Isso provavelmente está relacionado com a alta concentração de compostos fenólicos e de ácido ascórbico nos extratos dessa espécie vegetal<sup>39</sup>.

Os resultados da susceptibilidade da *Salmonella* Heidelberg aos extratos vegetais foram expressos em termos de tamanho de diâmetro do halo de inibição do crescimento microbiano e estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 2. Avaliação da susceptibilidade da *Salmonella* Heidelberg aos diferentes extratos vegetais etanólicos.

<b>Extratos vegetais</b>	<b>Média dos halos de inibição do crescimento microbiano (mm)</b>
Barbatimão ( <i>Stryphnodendron adstringens</i> )	5,0 <sup>b</sup>
Jacarandá ( <i>Jacaranda decurrens</i> )	5,0 <sup>b</sup>
Mama-cadela ( <i>Brosimum gaudichaudii</i> )	5,0 <sup>b</sup>
Jenipapo ( <i>Genipa americana</i> )	5,0 <sup>b</sup>
Pau-terra ( <i>Quelea grandiflora</i> )	9,5 <sup>a</sup>
Pau-ferro ( <i>Libidibia ferrea</i> )	5,0 <sup>b</sup>
Murici ( <i>Byrsonima crassifolia</i> )	5,0 <sup>b</sup>
Controle disco	5,0 <sup>b</sup>
Controle com solução salina 9%	5,0 <sup>b</sup>
Coefficiente de variação	13,80
<b><i>P-value</i></b>	<0,0001

Todos os extratos vegetais estudados com exceção do extrato de Pau-terra não apresentaram atividade antimicrobiana para a *Salmonella* Heidelberg (halo < 9mm), sendo assim, *Salmonella* Heidelberg resistente aos extratos etanólicos (1mg/mL) de Barbatimão Jacarandá, Mama-cadela, Jenipapo, Pau-ferro e Murici. Esse fato pode ter ocorrido em virtude que, provavelmente concentrações das moléculas ativas desses extratos serem insuficientes para apresentar alguma atividade antibacteriana frente *Salmonella* Heidelberg. Segundo Oliveira<sup>57</sup>, a concentração de compostos bioativos que podem apresentar poder antimicrobiano está ligada à presença dos flavonóides, terpenos, taninos e fenóis totais. Entretanto, a constituição

química dos extratos depende dos métodos, reagentes químicos utilizados para a sua obtenção e, da diluição dos extratos<sup>58</sup>.

Quanto ao extrato vegetal de Pau-terra, apresentou halo de 9,5 mm de diâmetro frente à *Salmonella* Heidelberg, sendo então essa bactéria moderadamente resistente ao extrato de Pau-terra. No trabalho realizado por Ayres<sup>6</sup>, foi relatado que o extrato vegetal de Pau-terra apresentou atividade antimicrobiana sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis* (11,3 mm, 12,3 mm e 11,0 mm, respectivamente). De forma semelhante foi relatado por Weninger<sup>59</sup> em pesquisa, na qual identificaram atividade inibitória moderada de extrato de Pau-terra sobre as cepas de *Staphylococcus epidermidis*, importante patógeno relacionado com a ocorrência de endocardites, bacteremias e sepse.

O Pau-terra possui como moléculas bioativas com poder antimicrobiano os triterpenos Suffredini<sup>60</sup>. De acordo com Copp<sup>61</sup>, os metabólitos secundários considerados como a principal classe promissora de atividade antimicrobiana são os terpenóides. Segundo Pinho<sup>22</sup>, o potencial fitoterápico do Pau-terra deve-se a presença de esteróides, fenóis simples, flavonóides, saponinas e taninos.

Os fenóis simples, ácidos fenólicos, taninos e os terpenóides podem agir rompendo as membranas celulares bacterianas e, ou privando as bactérias de substrato<sup>54</sup>. Segundo (Vidanarachchi<sup>62</sup>, Windisch<sup>63</sup>), o mecanismo de ação dos extratos vegetais sobre as bactérias patogênicas parece ocorrer de suas formas: 1) rompimento da membrana celular da bactéria e 2) modificação da superfície das células que afetam a hidrofobicidade e, portanto, sua capacidade de virulência. Entretanto, segundo Ratledge e Wilkinson<sup>64</sup>, os compostos fenólicos presentes nos extratos vegetais podem não penetrar na parede lipopolissacarídica das células Gram-negativas. A dupla membrana apresentada pelas bactérias Gram-negativas forma um envelope complexo, sendo responsável pela menor sensibilidade destes organismos frente aos extratos vegetais<sup>65</sup>.

Porém, as vantagens dos extratos vegetais em relação aos antibióticos utilizados em tratamentos ou prevenção de doenças está relacionada à presença de diversos compostos bioativos que possuem efeito sinérgico, devido aos vários fitoconstituintes que atuam melhor em associação, além disso, a associação de mecanismos por compostos atuam em moléculas alvos diferentes, como os taninos que atuam privando o ferro e hidrogênio para as bactérias, os alcalóides inibem a

síntese de DNA das bactérias e as saponinas possuem a habilidade de se complexar com esteróis presentes nas membranas, causando dano e conseqüentemente o colapso dos microrganismo<sup>66,67</sup>.

#### 4. CONCLUSÃO

Conclui-se que os extratos vegetais etanólicos de *Stryphnodendron adstringens*, *Jacaranda decurrens*, *Genipa americana*, *Quelea grandiflora*, *Libidibia férrea*, *Byrsonima crassifolia*, *Brosimum gaudichaudii* possuem concentrações de compostos fenólicos totais e potencial atividade antioxidante.

O extrato vegetal etanólico de *Quelea grandiflora* diluído em 1mg/mL possui moderada ação antimicrobiana frente *Salmonella* Heidelberg.

## REFERÊNCIAS

1. Government of Canada. (2012). Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance. 2008. Report. Public Health Agency of Canada, Guelph, ON. \_ xv, 146p.
2. Mion L, Colla FL, Cisco IC, Webber B, Diedrich LN, Pilotto F, Rodrigues LB, Nascimento VP, do Santos LR. Perfil de resistência a antimicrobianos por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola em 2005 e 2009. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2014; 42:1197.
3. Wiest JM, Carvalho HHC, Avancini CAM, Goncalves AR. Inibição e inativação *in vitro* de *Salmonella* spp. com extratos de plantas com indicativo etnográfico medicinal ou condimentar.. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 2009; 61(1): 119-127.
4. Bona EAM, Pinto FGS, Borges AMC, Scur MC, Fruet TK, Weber LD, Alves LFZ, Moura AC. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente a sorovares de salmonella. Spp. De origem avícola. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*. 2013;15(1): 41-6.
5. Martins CHG, Santos VR, Castro FA, Fernandes SA, Martinez R. Ribotyping of *Salmonella* Enteritidis strains reveals the spread of a single genotype in the Brazilian city of Ribeirão Preto. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2006; 42(1): 19-23.
6. Ayres MCC, Brandão MS, Vieira-Júnior GM, Menor Júlio César AS, Silva HB, Soares MJ. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. *Rev. bras. farmacogn*. 2008; 18(1): 90-97.
7. Souza JH, Almeida JM, Figueiredo MCP, Pequeno AS, Arruda TA, Antunes RMP, Catão RMR. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2010; 42(1): 27-31.
8. Fernandes JIM, Kosmann RC, Viott AM, Simões, RS, Ribeiro MV, Rorig A Anete. Avaliação de extratos de plantas sobre a resposta imune, o desempenho produtivo e a morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com *Eimeria* sp.. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 2017; 18(1): 127-139.
9. Carvalho IT, Santos L. Antibiotics in the aquatic environments: a review of the European scenario. *Environ Int*. 2016; 94:736
10. Souza JH, Almeida JM, Figueiredo MCP, Pequeno AS, Arruda TA, Antunes RMP, Catão RMR. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2010; 42(1): 27-31.

11. Souza TM, Severi JA, Silva VYA, Santos E, Pietro RCLR. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2007; 28(2): 221-226.
12. Carvalho JCT, Teixeira JRM, Souza PJC, Bastos JK, Santos Filho D, Sarti SJ. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. *J Ethnopharmacol*. 1996; 53: 175-178.
13. Roesler, R, et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, vol.27, n.1, pp. 53-60, 2007.
14. Alves TMA, Silva AF, Brandão M, Grandi TSM, Smânia EFA, Smânia Junior A, Zani CL. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem I Oswaldo Cruz*. 2000; 95: 367-373.
15. Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes: revisión. *Ann Fac Med*. 1996; 57(4):278-81.
16. Gellen LFA, Silva EHC. Antimicrobial activity of extracts of *Byrsonima crassifolia* roots. *Journal of bioenergy and food Science*. 2016; 3:63–71.
17. CLSI 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fourth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 230p.
18. Ayres, Mariane Cruz Costa, Escórcio, Samuel Portela, Costa, Danielly Albuquerque da, Chaves, Mariana H., Vieira Júnior, Gerardo Magela, & Cavalheiro, Alberto J.. Químicos das folhas de *Qualea grandiflora*: atribuição dos dados de RMN de dois flavonóides glicosilados acilados diastereoisoméricos. *Química Nova*. 2008; 31(6), 1481-1484.
19. Souza JNP, Candotti JG, Amparo TR, Coelho FF, Rodrigues IV, dos Santos ODH, de Medeiros LFT, Furtado NAJC, de Sousa HC, de Souza GHB. Bioprospecção das atividades antioxidante e antimicrobiana de espécies vegetais medicinais coletadas em Ouro Preto-MG. *Revista Eletrônica de Farmácia*. 2013; 1: 01 - 15.
20. Souza TM, Severi JA, Silva VYA, Santos E, Pietro RCL R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2007; 28 (2): 221-226.
21. Oliveira LG. et al. Inibidores de proteases encontrados em sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) – isolamento e caracterização do inibidor de tripsina. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2002; (12):72-74.
22. Soares, JDAH. et al. Atividade tripanocida in vivo de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão verdadeiro) e *Caryocar brasiliense* (pequi). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2002; 12:01-02.

23. Pinho, L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. *Ciência Rural*. 2012; 42(2): 326-331.
24. Sanches ACC. et al. Antioxidant and antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphnodendron obovatum* Benth. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2005; 41(1):101-107.
25. Soares, SP. et al. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. *Rev. Odonto Ciência*. 2008; 23:141-144.
26. Soares, SE. et al. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*. 2002b; 15(1): 71-81.
27. Ferreira SB, Palmeira JD, Souza JH, Almeida JM, Figueiredo MC, Pequeno AS, Arruda TA, Antunes RMP, Catão RMR. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcoólico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. *Rev Bras Anál Clín*. 2010; 42(1): 7-31.
28. Oliveira FCS, Barros RFM, Moita Neto JM. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 2010; 12 (3): 282-301.
29. Porto RGCL, Cunha EMF, Barros NVA, Silva MGSS, Moreira-Araújo RSR. Correlação entre a capacidade antioxidante e o conteúdo de vitamina C, antocianinas, flavonoides e fenólicos totais no Jenipapo (*Genipa americana* L.). Universidade Federal do Piauí. 2010; 1-4.
30. Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Oxidative stress: the concept, implications and factors modulating. *Rev Nutr*. 2010; 23:629-43.
31. Borges ES, Rezende CM. Main aroma constituents of genipap (*Genipa America* L) and bacuri (*Platonia insignis* M.). *Journal of Essencial Oil Research*. 2000; 12: (1), 71-74.
32. Revilla, J. *Plantas da Amazônia: oportunidades econômicas e sustentáveis*. 2. ed. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnologia. 2001; 405.
33. Morais ML, Silva AC, Rodrigues AC, Rodrigues R, Esteves EAA, Dessimoni-Pinto NAV. Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do Cerrado brasileiro, *Revista Brasileira de Fruticultura*, 2013; 35(2): 355-360.
34. Land LRB, Borges FM, Borges DO, Pascoal GB Composição centesimal, compostos bioativos e parâmetros físico-químicos da mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Trecul) proveniente do Cerrado Mineiro. *Demetra*. 2017; 12(2):509-518.

35. Carvalho CAD, Lourenc-o MV, Bertoni BW, França SC, Pereira OS, Fachin AL, Pereira MAS. Atividade antioxidante de Jacaranda decurrens Cham., Bignoniaceae, Revista Brasileira de Farmacognosia. 2009; 19: 592–598.
36. Chagas Neto FC. Desenvolvimento do extrato seco de Libidibia ferrea (JUCÁ) como alimento funcional: caracterização química e avaliação das atividades antioxidante e anti-inflamatória em modelo de neuroinflamação, Dissertação (mestrado): Ciências farmacêuticas, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
37. Gonçalves Silveira Teixeira MI, Félix de Paiva C, da Silva Barros JF, Alencar Juliao Cabral G, Vasconcelos Silva MG, Determinação do teor de fenóis, flavonóides totais e atividade antioxidante em extratos etanólicos de Libbidia ferrea Mart, ex Tul, (pau-ferro) coletado em Tauá-Ce, In: 4º Simpósio Nordeste de Química, Mossoró, 2018,
38. Rocha MS, Figueiredo RW, Araújo MAM, Moreira-Araújo RSR, Caracterização físico-química e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense, Rev Bras Frutic, 2013, 35(4):933-941
39. Dweck AC. The internal and external use of medicinal plants, Clinics in Dermatology, 2009; 27(2): 148-158.
40. Santos SC, Costa WF, Ribeiro JP, Guimarães DO, Ferri PH, Ferreira HD, Seraphin JC. Tannin composition of barbatimão species. Fitoterapia 2002;73:292-9.
41. Fonseca, P. Da; Librandi, A. P. L. Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*). Rev. Bras. Cienc. Farm. 2008; 44(2).
42. Mello JCP, Petereit F, Nahrstedt A. Flavan-3-ols and Prodelphinidins from stryphnodendron adstringens. Phytochemistry 1996; 42:807-13.
43. Mello JCP, Petereit F, Nahrstedt A. Prorobinetinidins from *Stryphnodendron dstringens*. Phytochemistry 1996; 42:857-62.
44. Mello JCP, Petereit F, Nahrstedt A. A dimeric prodelphinidin from *Stryphnodendron adstringens*. Phytochemistry 1999; 51:1105-7.
45. Souza, T.M.; Severi, J.A.; Silva, V.Y.A.; Santos, E.; Pietro, R.C.L.R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae).. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl. 2007; 28(2):221-226.
46. Yamaguchy T, Takamura H, Matoba T, Terao J. Hplc method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1998; 62: 1201-1204.
47. Carvalho IT, Santos L. Antibiotics in the aquatic environments: a review of the European scenario. Environ Int 2016; 94:736

48. Santos BS, Barretto LCO, Santos JAB, Silva GF. Obtenção, liofilização e caracterização de extrato de capim limão (*cymbopogon citratus* d,c,) e hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.), Revista GEINTEC. 2013; 3(5): 90-99.
49. Oh CJ, Kil IS, Park CI, Yang CH, Park JW. Ursolic acid regulates high glucose-induced apoptosis. Free Radical Res. 2007; 41: 638-644
50. Nascimento JÉC, Reatgui WS, Araújo LS, Ribeiro MES, Avaliação do potencial antioxidante e anti-Helicobacter pylori in vitro de extratos de plantas medicinais utilizadas popularmente na região amazônica. Revista Fitos. 2017; 11(2).
51. Pacheco P, Paz JG, Silva CA, Pascoal GB, Composição centesimal, compostos bioativos e parâmetros físico-químicos do jenipapo (*Genipa americana* L.) in natura. Demetra. 2015; 9(4):1041-1054.
52. Lima Neto GA., Kaffashi S., Luiz W., Ferreira W., Dias da Silva YSA., Pazin G., Violante I. Quantification of secondary metabolites and antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants from the Cerrado of the Mato Grosso. Revista Brasileira de Plantas Medicinai. 2015; 17: 1069-1077.
53. Souza AB., Souza LMS, Carvalho JCT, Maistro EL. No clastogenic activity of Caesalpinia ferrea Mart. (Leguminosae) extract on bone marrow cells of Wistar rats. Genet Genetics and Molecular Biology. 2006; 29:380–383.
54. Carvalho AF, Silva DM, Silva TRC, Scarcelli E, Manhani MR, Evaluation of the antibacterial activity of ethanolic and cyclohexane extracts of chamomile flowers (*Matricaria chamomilla* L.). Revista Brasileira de Plantas Medicinai. 2014; 16(3): 521-6.
55. Morzelle MC, Bachiega PS, Ellen CDe, Vilas Boas E V De B, Lamounier M L. Caracterização química e física de frutos de curriola, gabioba e murici provenientes do cerrado brasileiro. Revista Brasileira de Fruticultura. 2015; 37(1): 96-103.
56. Canuto GAB, Xavier AAO, Neves LC, Benassi MT. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade antirradical livre, Revista Brasileira de Fruticultura, 2010; (32): 1,196-1,205.
57. Oliveira LG de, Gozzo AJ, Nunes VA, Silva IC, Sampaio MU, Sampaio C AM. Inibidores de proteases encontrados em sementes de Caesalpinia echinata (paubrasil): isolamento e caracterização do inibidor de tripsina, Rev, bras, farmacogn. 2002; 12:72-74.
58. Rates SMK 2001, Plants as source of drugs, Toxicon 39: 603-613.
59. Weniger B, Lobstein A, Um BH, Vonthron-Senechau C, Anton R, Usuga NJ, Basaran H, Lugnier C. Bioactive triterpenoids from Vochysia pacifi ca interact with cyclic nucleotide phosphodiesterase isozyme PDE4. Phytother Res 2005; 19: 75-77

60. Suffredini IB, Sader HS, Gonçalves AG, Reis AO, Gales AC, Varella AD, Younes RN. Screening of antibacterial extracts from plants native to the Brazilian Amazon Rain Forest and Atlantic Forest, *Braz J Med Biol Res.* 2004; 37: 379-384,
61. Copp BR. Antimycobacterial natural products, *Natural Products Report.* 2003; 20(6): 535-57.
62. Vidanarachchi JK, Mikkelsen LL, Sims IM, Iji PA, Choct H. Selected plants extracts modulate the gut microflora in broilers. *Aust. Poult. Sci. Symp.* 2006; 18:145–148.
63. Windisch W, Kroismayr A. Natural phytobiotics for health of young piglets and poultry: mechanisms and application. *Poult. Sci.* 2007; 86:643.
64. Ratledge, C., and S. G. Wilkinson. 1988. An overview of microbial lipids. Pages 3–22 in *Microbial Lipids*. C. Ratledge, and S. G. Wilkinson, eds. London.
65. Francescato LN, Deuschle RAN, Mallmann CA, Alves SH, Heinzmann BM. Atividade antimicrobiana de *Senecio heterotrichius* DC. (Asteraceae). *Rev Bras Ciênc Farm.* 2007; 43:239-45.
66. Yunes RA, Pedrosa RC, Cechinel V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quím Nova.* 2001; 4: 147-52.
67. Karou D, Savadogo A, Canini A, Yameogo S, Montesano C. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuda*. *Afr. Biotchnol.* 5: 195:200.

**CAP 3. EFEITO DO EXTRATO VEGETAL DE PAU-TERRA EM FRANGOS DE CRESCIMENTO LENTO DESAFIADOS COM *Salmonella Heidelberg***

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar o desempenho, desenvolvimento intestinal, bacteriologia e bioquímica sanguínea de frangos de crescimento lento desafiados com *Salmonella Heidelberg* e tratados com extrato vegetal de pau-terra. Foram utilizados 432 frangos de corte de linhagem Label Rouge Pesadão Vermelho e Pescoço Pelado vermelho, distribuídos em seis tratamentos, seis repetições e 12 aves por unidade experimental. O delineamento experimental foi de blocos casualizados distribuídos em seis tratamentos: SH + controle (aves com desafio + ração basal); SH + ANT (aves com desafio + ração com antimicrobiano), SH + EVPT (aves com desafio + extrato vegetal), controle (aves sem desafio + ração basal), ANT (aves sem desafio + ração com antimicrobiano) e EVPT (aves sem desafio + extrato vegetal). Foram avaliados desempenho, histomorfometria intestinal, bacteriologia específica e bioquímica sanguínea. Os dados de desempenho, histomorfometria e bioquímica sanguínea foram submetidos ao teste de variância. Os dados da bacteriologia específica foram analisados por método descritivo. Nos resultados da avaliação de desempenho o tratamento ANT promoveu maior ganho de peso e maior peso final das aves e o tratamento SH + EVPT influenciou em menor ganho de peso e menor peso final. Na avaliação da histomorfometria dos segmentos do trato gastrointestinal histomorfometria do ílio de frangos de crescimento lento profundidade de cripta na mucosa apresentou-se maior nas aves submetidas ao tratamento SH + EVPT e, menor nas aves submetidas ao tratamento SH + controle aumento da relação vilosidade:cripta para as aves submetidas ao tratamento SH + controle e redução na relação para as aves submetidas ao tratamento SH + EVPT. Os tratamentos não influenciaram nos parâmetros estudados do duodeno e jejuno das aves de sete dias de idade. O tratamento SH + EVPT promoveu aumento da profundidade de cripta, e o tratamento SH + controle reduziu a profundidade de cripta. Nas aves de 42 dias de idade o tratamento EVPT promoveu altura de vilosidades do jejuno e o tratamento

SH + controle reduziu a altura de vilosidades do jejuno. No ílio o tratamento SH + EVPT promoveu aumento das vilosidades e o tratamento ANT reduziu a altura das vilosidades. O tratamento SH + controle reduziu a profundidade de cripta do ílio e o tratamento SH + EVPT aumento a profundidade de cripta do ílio. Na bacteriologia, 75% do trato gastrointestinal apresentou *Salmonella* Heidelberg aos 7 dias de idade, 58 % aos 28 dias de idade e 16,66 % aos 42 dia de idade. A concentração de albumina, colesterol, triglicérides e ácido úrico foi influenciada pelos tratamentos. O extrato vegetal etanólico de Pau-terra, oferecido na água de bebida, utilizando concentração de 1:1000 e fornecido uma vez ao dia à frangos de crescimento lento não promove a melhora do desempenho de frangos até os 28 dias de idade e não apresenta atividade antimicrobiana frente à *Salmonella* Heldelberg.

**Palavras chaves:** avicultura alternativa, integridade intestinal, fitoterápicos, salmonelose

**CAP 3. EFFECT OF HERBAL EXTRACT FROM SLOW-GROWTH  
BROILERS CHICKENS CHALLENGED WITH *Salmonella*  
Heidelberg**

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the performance, intestinal development, bacteriology and blood biochemistry of slow-growing chickens challenged with *Salmonella Heidelberg* and treated with a ground-nut vegetable extract. 432 broiler chickens were used for Red Rouge and Red Pelado Neck, distributed in six treatments, six replicates and 12 birds per experimental unit. The experimental design was randomized blocks distributed in six treatments: SH + control (birds with challenge + basal ration); SH + EVT (challenged birds + antimicrobial ration), SH + EVPT (control + challenged birds), control (birds without challenge + basal ration), ANT (unchallenged birds + antimicrobial ration) and EVPT challenge + plant extract). Performance, intestinal histomorphometry, specific bacteriology and blood biochemistry were evaluated. The performance data, histomorphometry and blood biochemistry were submitted to the test of variance. Data from the specific bacteriology were analyzed by descriptive method. In the results of the performance evaluation the ANT treatment promoted greater weight gain and higher final weight of the birds and the SH + EVPT treatment influenced in lower weight gain and lower final weight. In the evaluation of the histomorphometry of the segments of the gastrointestinal tract histomorphometry of the embryo of slow-growing chickens crypt depth in the mucosa was higher in the birds submitted to SH + EVPT treatment and, the lower in the birds submitted to SH + control birds and reduction in the ratio for SH + EVPT treated birds. The treatments did not influence the studied parameters of the duodenum and jejunum of seven - day - old birds. The SH + EVPT treatment promoted crypt depth increase, and the SH + control treatment reduced crypt depth. In the birds of 42 days of age the treatment promoted EVPT promoted jejunal villus height and SH + control reduced jejunal villus height. In the ilium SH + EVPT treatment promoted villus enlargement and ANT treatment reduced villus height. The SH + control treatment reduced the crypt depth of the ilium and the SH + EVPT treatment increased the crypt depth of the ilium. In bacteriology, 75% of the gastrointestinal tract presented *Salmonella Heidelberg* at 7 days of age, 58% at 28 days of age and 16.66% at 42 days of age.

The concentration of albumin, cholesterol, triglycerides and uric acid was influenced by the treatments. The ethanolic extract of Pau-terra, offered in drinking water, using a concentration of 1: 1000 and supplied once a day to slow-growing chickens does not promote the performance improvement of chickens up to 28 days of age and has no activity antimicrobial activity against Salmonella Heidelberg.

**Key words:** alternative poultry farming, intestinal integrity, herbal medicines, salmonellosis

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, nos últimos anos tem expandido o número de empresas que estão interessadas na criação de frangos em sistemas de produção “Caipira”/Free-Range ou orgânicos. Esses produtos avícolas atendem um mercado que vem crescendo e aumentando nos últimos anos em vários países<sup>1</sup>, principalmente devido ao marketing e associação do consumidor com melhor sabor, maiores valores nutritivos<sup>2</sup>, baixo teor de gordura e maiores concentrações de vitaminas e minerais<sup>3,4</sup>.

Para o sistema de produção Caipira”/Free-Range, existem normas técnicas<sup>5</sup> nas quais está proibido a utilização de antibióticos como moderadores de crescimento, na alimentação ou água de bebida das aves, assim, os produtos oriundos desse sistema são livres de resíduos de antibióticos. No entanto, podem ser utilizados alguns aditivos com função antimicrobiana, como os fitoterápicos.

Diante desse contexto surgem diversas pesquisas a fim de encontrar produtos fitoterápicos com ação antimicrobiana para frangos de corte de crescimento lento, como os extratos vegetais, óleos essenciais de plantas medicinais, que são aceitos pela legislação do Brasil para a criação de aves tipo caipira.

Diversos extratos vegetais e óleos essenciais possuem ação comprovada na terapêutica humana, por apresentarem estímulo de secreção enzimática intestinal, melhora da resposta imune reduzindo processos inflamatórios<sup>6</sup>, auxílio na manutenção morfohistológica do trato gastrointestinal e, além disso, possuem atividade antioxidante, antifúngica e antiparasitária<sup>7,8,9</sup>. Algumas dessas propriedades estão presentes no extrato vegetal do Pau-Terra (*Quelea grandiflora*).

O extrato etanólico de Pau-Terra (*Quelea grandiflora*) apresenta composição de moléculas da categoria dos taninos, terpenóides, flavonóides, catequinas, saponinas e fitoesteróides<sup>10</sup>, as quais possuem ações antiinflamatória, antimicrobiana e antioxidante<sup>11</sup>, constatadas na terapêutica humana.

No capítulo 2 foi constatado que entre vários extratos vegetais o extrato de Pau-terra apresentou, em estudo bacteriológico *in vitro* com a *Salmonella* Heidelberg, maior efeito inibidor no crescimento dessa bactéria. Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito do extrato vegetal etanólico de Pau-terra no desempenho, histomorfometria, bacteriologia e a bioquímica sanguínea de aves desafiadas experimentalmente com *Salmonella* Heidelberg.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um experimento de desempenho de frangos de crescimento lento, desafiados com *Salmonella* Heidelberg na Universidade Federal de Goiás, no Setor de Bacteriologia Aviária da Escola de Veterinária e Zootecnia, no período de julho à agosto de 2018.

### 2.1. Coleta e identificação do material vegetal e preparo do extrato vegetal

O extrato vegetal de Pau-terra (*Quelea grandiflora*) foi produzido no Laboratório de Bioquímica da faculdade UPIS (União Pioneira de Integração Social) localizada em Planaltina-DF, Campus II. Foram coletados 4kg da parte aérea da espécie vegetal Pau-terra, logo em seguida foram limpos e secos em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e triturado em moinho de facas do tipo Wiley. As folhas selecionadas e a casca do Barbatimão foram colocadas em estufa de secagem com circulação e renovação de ar a 36 °C durante 48 horas. Depois de secas, as folhas foram moídas (Figura 2.1) em moinho de facas tipo Willey (Modelo TE-650 da Tecnal), utilizando-se peneira com a malha de 0,59 mm. O material moído foi armazenado em sacos plásticos com 30g cada um, selados com seladora elétrica, devidamente identificada com o nome da planta e armazenada à temperatura ambiente em local escuro. O extrato etanólico de cada espécie de planta foi obtido a da maceração de 100g de material moído juntamente com 500 mL de etanol 95% P.A. Esse processo teve a duração de uma semana. Logo em seguida o material foi filtrado e evaporado em rotaevaporador à 40°C por 2 horas. Para o ideal acondicionamento dos extratos brutos foram utilizados frascos com tampa rosqueada e armazenado sob refrigeração para ser utilizado no ensaio, *in vitro*.

### 2.2. Preparação dos inóculos

O inóculo (*Salmonella* Heidelberg) foi preparado de amostras oriundas de frangos de corte cedidas pelo Laboratório de Bacteriologia, da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

A *Salmonella* foi mantida a - 80 °C em caldo Infusão de cérebro e coração (caldo BHI, Merck) contendo 20 % de glicerol. As culturas de trabalho foram preparadas pelo subcultivo de 100 µL de cada cultura estoque em 9 mL de caldo BHI e incubadas a 35°C por 12 h.

### 2.3. Ensaio de desempenho

O ensaio de desempenho teve duração de vinte e oito dias. Foram utilizados 432 pintainhos, cedidos pela Empresa Avifram, de linhagem CPK (Label Rouge Pesadão Vermelho) ou PSC (Label Rouge Pescoço Pelado vermelho), de um dia de idade, divididos em seis tratamentos, com seis repetições cada, alojados em grupos de 12 aves por unidade experimental, perfazendo em um total de 36 unidades experimentais, com 72 aves por tratamento.

O delineamento utilizado foi de blocos casualizados com seis tratamentos: Controle (aves não desafiadas + ração basal sem antimicrobiano), ANT (aves não desafiadas + ração basal com antimicrobiano comercial), EVPT (aves não desafiadas + extrato vegetal na água de bebida), SH controle (aves desafiadas + ração basal sem antimicrobiano), SH + ANT (aves desafiadas + ração basal com antimicrobiano comercial), SH + EVPT (aves desafiadas + extrato vegetal fornecido na água de bebida), (Quadro 1).

QUADRO 1- Tratamentos experimentais

<b>Tratamentos</b>	<b>Desafio com <i>Salmonella</i> Heidelberg</b>
Controle	Não
ANTI (antimicrobiano comercial)	Não
EVPT (extrato vegetal de Pau-terra)	Não
SH + Controle	Sim
SH + ANTI	Sim
SH + EVPT	Sim

As aves foram alojadas em baterias com quatro andares de aço galvanizado, equipadas com comedouros e bebedouros do tipo linear e bandejas para retirada de excretas. As baterias foram aquecidas com uma lâmpada incandescente de 60 W até os 14 dias de idade das aves. As aves desafiadas foram alojadas em sala separada das aves não desafiadas. Ambas as salas foram monitoradas a umidade relativa do ar e a temperatura ambiental.

As aves destinadas ao desafio experimental foram inoculadas no primeiro e sétimo dia do experimento. Introduziu-se 1mL do preparo de inóculo de *Salmonella* Heidelberg em cada ave, por meio de sonda esofágica. Nas aves não desafiadas, foi realizado o mesmo procedimento, porém com solução salina (0,85 %).

O programa alimentar das aves foi constituído por rações basais experimentais: pré-inicial (1-14 dias de idade), inicial (14-42 dias de idade) (Tabela 1). As rações foram fornecidas aos animais, na forma farelada à base de milho moído e farelo de soja. As rações foram formuladas de acordo com a composição dos alimentos e exigências nutricionais preconizadas por Rostagno<sup>12</sup>. Os animais foram arraoados constantemente proporcionando ração *ad libitum*. Os bebedouros também foram abastecidos duas vezes ao dia para não haver privação de água. O extrato vegetal etanólico de Pau-terra foi fornecido diariamente, às 11 horas, 1mL de solução de extrato vegetal/ave, diluído na concentração de 1g de extrato etanólico bruto para 1000 mL de solução salina 0,85%.

TABELA 1. Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações

Ingredientes (%)	Idade	
	1 a 14 dias	14 a 42 dias
Milho moído	57,557	62,978
Soja farelo 45 %	37,076	32,396
Fosfato bicálcico	1,913	1,469
Óleo de soja	1,289	1,103
Calcário	0,898	0,964
Sal comum	0,506	0,468
DL-metionina 99%	0,355	0,274
L-lisina HCL 98%	0,303	0,236
Suplemento mineral vitamínico (Vitcre1) <sup>1</sup>	0,100	0,100
Inerte	0,04	0,04
Total (%)	100	100
Composição calculada		
Proteína (%)	21,800	20,000
Energia metabolizável (Mcal/kg)	2,925	2,980
Cálcio (%)	0,920	0,827
Fósforo disponível (%)	0,470	0,381
Lisina digestível (%)	1,297	1,135
Metionina + cistina digestível (%)	0,934	0,818
Sódio (%)	0,220	0,205

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico – mineral: níveis de garantia por quilograma do produto: Ácido fólico 1.600,00 mg, Ácido pantotênico 24,96 g, Biotina 80 mg, Hidróxido de tolueno butilado 100 mg, Niacina 67,20 g, Selênio 600 mg, Vitamina A 13.4440,000 UI, Vitamina B1 500 mg, Vitamina B12 9.200 meg, Vitamina B2 9.600 mg, Vitamina B6 4.992 mg, Vitamina D3 3.200,000 UI, Vitamina E 21.000 UI, Vitamina K3 2.880 mg, Cobre 15 g, Ferro 90 g, Iodo 1.500 mg, Manganês 150 g, Zinco 140 g.  
<sup>2</sup>antimicrobiano melhorador de desempenho incluído nas rações destinadas somente para este tratamento.

Diariamente foram coletados dados da mortalidade, aos 28 dias de idade das aves foram coletados os dados de desempenho: peso vivo, consumo de ração, conversão alimentar, ganho de peso e viabilidade.

#### 2.4. Avaliação da histomorfometria intestinal

Aos sete e quarenta e dois dias de idade das aves foram sorteadas quatro aves/tratamento e abatidas para a coleta de fragmentos do sistema digestório (duodeno, jejuno e ílio) para posterior avaliação das vilosidades e criptas destes tecidos. Para isso as aves foram submetidas ao jejum de oito horas, insensibilizadas e eutanasiadas por secção interna dos vasos do pescoço e posteriormente necropsiadas. Os fragmentos foram retirados e acondicionados em frascos, previamente identificados, contendo formol tamponado a 10% para confecção de lâminas histológicas corados pela hematoxilina eosina (HE), de acordo com Luna<sup>13</sup>. Cada lâmina foi submetida à análise de histomorfometria com medição de altura de vilosidade e profundidade de cripta utilizando o programa Image J 1.45. A altura do vilo foi determinada utilizando o ápice do vilo até a base da junção do vilo com a cripta. E a profundidade da cripta foi determinada a partir da profundidade da invaginação da cripta com os vilos adjacentes. Foram realizadas em média 20 leituras por lâmina para altura do vilo e 20 leituras em sequência para profundidade das criptas por fragmento de cada tecido, sempre da direita para a esquerda do corte, totalizando 80 repetições por tratamento. As imagens foram digitalizadas em microscópio óptico marca Leica modelo DM 4000 B acoplado a um microcomputador.

#### 2.5. Avaliação bacteriológica específica para *Salmonella* Heidelberg

Aos sete, vinte e oito e quarenta e dois dias de idade as aves foram abatidas (quatro aves/ tratamento). As aves foram submetidas ao jejum de oito horas, insensibilizadas e eutanasiadas por secção interna dos vasos do pescoço e posteriormente necropsiadas. Foi retirado de cada ave o fígado, baço e ceco. Que posteriormente foram macerados separadamente e cerca de 1g/tecido macerado foi transferido para tubo de ensaio contendo água peptonada a 1% na proporção 1:10, logo em seguida foram incubados a 37°C por 24 horas.

Após o período de incubação, alíquotas de 1,0 mL da água peptonada a 1% foram transferidas para 9 mL de caldo selenito cistina (CS) e 0,1mL para 10 mL de caldo Rappaport e incubados a 37°C por 24 h. Posteriormente, com o auxílio de uma alça níquel-cromo, foram realizados repiques nos ágar verde brilhante (VB) e

Xylose-Lysine-Tergitol4 (XLT4) e incubadas a 37°C por 24 h. De cada um dos ágaros foram selecionadas cinco colônias com características morfológicas de *Salmonella* e replicadas em ágar tríplice açúcar-ferro (TSI), seguindo-se novamente incubação a 37°C por 24 h. As culturas em TSI com crescimento sugestivo de *Salmonella* foram submetidas aos testes de: produção de indol, motilidade, urease, descarboxilação da lisina, vermelho de metila, utilização do malonato e citrato de Simmons.

## 2.6. Avaliação da bioquímica sanguínea

Aos vinte e oito dias e quarenta e dois dias de idade, retirou-se amostras sanguíneas de quatro aves por tratamento, por venopunção na região coxofemoral, utilizando seringas de 10 mL. Retirou-se 1 mL de sangue de cada ave, coletado em tubo comercial contendo anticoagulante fluoreto de sódio e EDTA, que logo em seguida foi centrifugado a 2800 RPM por minuto. As alíquotas foram organizadas em tubos de polipropileno, tipo *ependorf*, e congelados (-20°C) até o momento das análises. Os exames bioquímicos (glicose, ácido úrico, aspartatoaminotransferase, albumina, globulina, colesterol triglicérides) foram realizados a partir das alíquotas de soro obtidos dos tubos com sangue. Todas as análises bioquímicas foram realizadas com kit comercial Labtest®, e as análises em analisador automático WienerLab® CM 200. Os exames bioquímicos (glicose, ácido úrico, aspartatoaminotransferase, albumina, globulina, colesterol triglicérides) foram realizados a partir das alíquotas de soro obtidos dos tubos com sangue.

## 2.7. Análises estatísticas

Os resultados do ensaio de desempenho, avaliação da histomorfometria intestinal e avaliação da bioquímica sanguínea foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quanto ao fator contaminação foi utilizado apenas o F de Snedecor para descrever a diferença dos efeitos da bactéria, já que existem apenas dois efeitos, controle e contaminado. Na avaliação de colonização de *Salmonella* utilizado teste descritivo considerando a frequência encontrada nas variáveis.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio de desempenho de um a vinte e oito dias de idade (Tabela 2), observou-se influência dos tratamentos no peso final e no ganho de peso ( $P < 0,05$ ) das aves de crescimento lento.

Em relação ao desafio, constatou-se influência da *Salmonella* Heidelberg no desempenho das aves. As aves submetidas ao tratamento SH controle (aves desafiadas + ração basal) apresentaram menor ganho de peso e conseqüentemente, menor peso final que as aves submetidas ao tratamento controle (aves sem desafio + ração basal) ( $P < 0,05$ ). A diferença de peso final entre os dois grupos foi de 20, 17 %.

Com relação às aves submetidas ao tratamento ANT (sem desafio + antimicrobiano) apresentaram o maior peso final (837,99 g P.V.). As aves submetidas ao tratamento controle (sem desafio + controle) e EVPT (sem desafio + extrato vegetal) apresentaram o segundo melhor resultado para peso final (827,29 g 732,40 g P.V., respectivamente) e ambos foram semelhantes. O menor resultado de peso final foi observado no grupo de aves submetidas ao tratamento SH + EVPT (aves desafiadas + extrato vegetal) (610,00 g P.V.) sendo que, as aves submetidas aos tratamentos SH controle e SH + ANT apresentaram maior peso final que o grupo SH + EVPT (688,39g e 676,09,83g P.V., respectivamente).

Com relação ao ganho de peso das aves, também observou-se comportamento semelhante ao peso final das aves, em que as aves submetidas ao tratamento ANT apresentaram o maior resultado para ganho de peso (796,56g P.V.). As aves submetidas aos tratamentos controle e EVPT apresentaram em segundo lugar o melhor resultado de ganho de peso (786,29g, 690,74g P.V., respectivamente) e ambos foram semelhantes. O menor ganho de peso foi observado no grupo de aves submetidas ao tratamento SH + EVPT (574,39g P.V.), entretanto, as aves submetidas aos tratamentos SH + controle e SH + ANT apresentaram maior ganho de peso que o grupo SH + EVPT (647,12g e 634,96g P.V., respectivamente).

Apesar ter sido constatado no presente trabalho influência da *Salmonella* Heidelberg no peso final e ganho de peso das aves desafiadas, conferindo 20, 17 % de diferença de peso final entre o grupo SH + controle e controle, esse comportamento não foi identificado no estudo desenvolvido por Amerah<sup>14</sup>, no qual foi relatado não haver diferença nos parâmetros de desempenho entre as aves não desafiadas e desafiadas com *Salmonella* Heidelberg no ensaio de 1 a 21 dias e de 1 a 42 dias, porém as aves utilizadas no experimento foram Cobb. Da mesma forma foi

identificado na pesquisa desenvolvida por Hayashi<sup>15</sup>, quando inoculou *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte Coob e não observou diferença nos parâmetros de desempenho entre o grupo de aves desafiadas e não desafiadas.

O extrato vegetal de Pau-terra foi eficiente em promover o ganho de peso das aves não desafiadas, acarretando nelas incremento do peso final. Entretanto, para as aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg o extrato não promoveu melhor ganho peso e peso final, sendo que as aves submetidas ao tratamento SH + ANT foram mais pesadas e com maior ganho de peso que as aves do tratamento SH + EVPT. Esse fato está relacionado ao mecanismo de ação dos aditivos antimicrobianos sobre bactérias patogênicas. Quando o trato gastrointestinal está colonizado por patógenos, uma parte dos nutrientes e energia da dieta são desviados para a fermentação microbiana, o nitrogênio protéico consumido pelo animal é perdida pela conversão microbiana em amônia ou assimilação de aminoácidos para a síntese protéica microbiana<sup>16</sup>. O carboidrato consumido pelas bactérias implica em menor disponibilidade de energia e maior produção de ácido lático no trato gastrointestinal, que por sua vez prejudica a absorção de nutrientes por aumentar o trânsito intestinal<sup>17</sup>, todos esses fatores podem ter contribuído para o menor ganho de peso dos animais contaminados e que não receberam o aditivo melhorador de desempenho.

TABELA 2. Desempenho de frangos de crescimento lento inoculados com *Salmonella* Heidelberg e tratados com extrato vegetal etanólico de Pau-terra no período de 1 a 28 dias de idade.

Tratamentos	Desempenho 1-28 dias de idade					
	Peso inicial (g)	Peso final (g)	CA	CR (g)	GP (g)	Via. (%)
SH + controle	41,27	688,39 <sup>bc</sup>	1,57	958,45	647,12 <sup>bc</sup>	94,31
SH + ANT	41,13	676,09 <sup>bc</sup>	1,60	909,39	634,96 <sup>bc</sup>	92,77
SH + EVPT	41,92	610,00 <sup>c</sup>	1,63	927,36	574,39 <sup>c</sup>	98,48
Controle	38,41	827,29 <sup>ab</sup>	1,69	929,3	786,29 <sup>ab</sup>	93,05
ANT	41,43	837,99 <sup>a</sup>	1,60	903,12	796,56 <sup>a</sup>	87,77
EVPT	41,66	732,40 <sup>ab</sup>	1,69	908,79	690,74 <sup>abc</sup>	95,83
<b>Valor de P</b>						
Tratamentos	0,379	0,0007	0,225	0,746	0,0006	0,176
Blocos	<0,001	0,023	0,226	0,294	0,077	0,868
<b>CV%</b>	8,68	8,67	6,11	7,41	12,70	7,26

<sup>a,b</sup> médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

Além disso, provavelmente o extrato vegetal de Pau-terra, fornecido na concentração de 1:1000 mL em solução salina à 0,85% e dosagem de 1mL/ave, não apresentou efeito antibacteriano frente a *Salmonella* Heidelberg, havendo então, maior necessidade das aves desafiadas em demandar energia para ativação das células do sistema imune, e maior desvios de nutrientes da dieta pelas bactérias, o que implicou em menor ganho de peso e peso final dessas aves. Outro ponto a ser observado em relação ao extrato vegetal de Pau-terra é a presença de compostos dos compostos fenólicos, os quais, hipoteticamente, podem não ter efeito bactericida ou bacteriostático sobre a *Salmonella* Heidelberg.

Ainda, pode-se especular que o tempo de ação do extrato não foi suficiente para causar efeito antimicrobiano, pois as aves submetidas ao tratamento sem EVPT recebiam o extrato somente uma vez ao dia (11:00 horas), enquanto as aves submetidas ao tratamento sem desafio + antimicrobianos tinham fornecimento da ração *ad libitum*. Segundo Kohlert<sup>18</sup>, a maior parte dos princípios ativos dos extratos vegetais são de rápida metabolização e curta meia vida, sendo absorvidos no intestino delgado pelos enterócitos e metabolizados rapidamente e eliminados pelos rins e pelos pulmões.

Em relação ao estudo histomorfométrico dos segmentos do intestino das aves de sete dias de idade observou-se que não houve efeito dos tratamentos nos parâmetros estudados no duodeno e jejuno (Tabelas 3 e 4) ( $P>0,05$ ).

TABELA 3 . Histomorfometria do duodeno de frangos de crescimento lento aos 7 dias

<b>Tratamentos</b>	<b>Parâmetros histomorfométricos do duodeno</b>		
	<b>Altura de vilosidades (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Profundidade de criptas (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Relação V:C</b>
SH + controle	547.250	71.175,5	3,94
SH + ANT	512.915	90.700,5	2,885
SH + EVPT	524.398,5	80.175	3,21
Controle	521.039	78.913	3,435
ANT	501.216	79.194,5	3,38
EVPT	617.405,5	88.913	3,465
<b>Valor de P</b>			
Tratamentos	0,135	0,474	0,113
Blocos	0,808	0,439	0,482
<b>CV%</b>	13,85	22,46	17,63

<sup>a,b</sup> médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 4. Histomorfometria do jejuno de frangos de crescimento lento aos 7 dias

Tratamentos	Parâmetros histomorfométricos do jejuno		
	Altura de vilosidades (µm)	Profundidade de criptas (µm)	Relação V:C
SH + controle	307.545	60.610	3,105
SH + ANT	318.362	67.804,5	2,45
SH + EVPT	318.739	70.616,5	2,315
Controle	350.733,5	84.060	2,27
ANT	284.629,5	68.892	2,105
EVPT	390.263,5	65.153	2,985
<b>Valor de P</b>			
Tratamentos	0,1306	0,5241	0,5587
Blocos	0,9547	0,1125	0,5466
<b>CV%</b>	15,58	24,58	35,76

<sup>a,b</sup> médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

Quanto ao estudo da histomorfometria do ílio de frangos de crescimento lento (Tabela 5), os tratamentos influenciaram os parâmetros profundidade de criptas e relação vilosidade:cripta ( $P < 0,05$ ). A profundidade de cripta na mucosa apresentou-se maior nas aves submetidas ao tratamento SH + EVPT e, menor nas aves submetidas ao tratamento SH + controle. Entretanto houve aumento da relação vilosidade:cripta para as aves submetidas ao tratamento SH + controle e redução na relação para as aves submetidas ao tratamento SH + EVPT.

Segundo Herdt<sup>19</sup>, as divisões mitóticas nas criptas correspondem por cerca de 60% da proliferação celular, a região média dos vilos por 32% e a região apical por 8%, e esse mecanismo pode ser afetado pela fixação de patógenos e provocar modificações estruturais na morfometria intestinal<sup>20</sup>. O aumento da profundidade de cripta na mucosa das aves submetidas ao tratamento SH + EVPT, provavelmente pode ter ocorrido pela maior demanda do turnover celular em função da colonização de *Salmonella* Heidelberg no intestino, a fim de manter o equilíbrio entre extrusão e renovação das células no epitélio intestinal, o que acarretou na menor relação vilosidade:cripta das aves submetidas a esse tratamento. Conforme Lopes<sup>21</sup>, o aumento na profundidade da cripta na mucosa intestinal pode indicar uma acelerada taxa de renovação dos vilos. Segundo Maiorka<sup>22</sup>, o equilíbrio entre os dois processos celulares que acontecem nas vilosidades (extrusão e renovação

celular) determina um turnover constante, ou seja, a manutenção do tamanho dos vilos. Esse mecanismo reflete na relação vilos:cripta.

TABELA 5. Histomorfometria do ílio de frangos de crescimento lento aos 7 dias

Tratamentos	Parâmetros histomorfométricos do ílio		
	Altura de vilosidades (µm)	Profundidade de criptas (µm)	Relação V:C
SH + controle	270.979,5 <sup>b</sup>	54.898,95	2,4575 <sup>a</sup>
SH + ANT	318.827 <sup>ab</sup>	73.900,75	2,19 <sup>ab</sup>
SH + EVPT	312.374,5 <sup>a</sup>	99.936,43	1,587 <sup>b</sup>
Controle	288.492,5 <sup>a</sup>	85.504,08	1,6885 <sup>ab</sup>
ANT	295.113,5 <sup>ab</sup>	85.480,89	1,8195 <sup>ab</sup>
EVPT	292.485,5 <sup>ab</sup>	72.254,33	2,0255 <sup>ab</sup>
<b>Valor de P</b>			
Tratamentos	0,8699	0,0033	0,0042
Blocos	0,221	0,4015	0,3785
<b>CV%</b>	8,53	14,80	13,27

<sup>a,b</sup> médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

b, ab,a,a,ab,ab    a,ab,b,ab,ab,ab

De acordo com Santin<sup>23</sup> e Baurhoo<sup>24</sup> o aumento do comprimento das vilosidades intestinais em relação à profundidade de cripta está correlacionado com a melhora na saúde intestinal, proporcionando melhor uniformidade e integridade da mucosa, promovendo maior absorção de nutrientes, devido ao aumento da superfície de absorção.

No tocante ao estudo dos parâmetros histomorfométricos dos frangos de crescimento lento aos 42 dias foi possível observar que os tratamentos não influenciaram nos parâmetros do duodeno ( $P > 0,05$ ) (Tabela 6), porém, os segmentos jejuno e ílios foram influenciados pelos tratamentos ( $P < 0,05$ ).

TABELA 6. Histomorfometria do duodeno de frangos de crescimento lento aos 42 dias

<b>Tratamentos</b>	<b>Parâmetros histomorfométricos do duodeno</b>		
	<b>Altura de vilosidades (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Profundidade de criptas (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Relação V:C</b>
SH + controle	531.531	79.429,5	3,395
SH + ANT	516.074	72.411,5	3,58
SH + EVPT	495.213,5	78.304	3,245
Controle	498.127	67.478,5	3,755
ANT	573.194	80.270,5	3,67857
EVPT	491.558,5	77.319	3,17813
<b>Valor de P</b>			
Tratamentos	0,5124	0,5137	0,3246
Blocos	0,3488	0,6619	0,5554
<b>CV%</b>	11,33	16,22	16,54

Em relação ao estudo da histomorfometria do jejuno das aves de 42 dias (Tabela 7) observou-se influência dos tratamentos no parâmetro altura da vilosidade ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos EVPT e controle promoveram maior altura de vilosidade no jejuno. A menor altura de vilosidade foi observada no jejuno das aves submetidas ao tratamento SH + controle.

TABELA 7. Histomorfometria do jejuno de frangos de crescimento lento aos 42 dias

<b>Tratamentos</b>	<b>Parâmetros histomorfométricos do jejuno</b>		
	<b>Altura de vilosidades (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Profundidade de criptas (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Relação V:C</b>
SH + controle	264.335,985 <sup>c</sup>	67.574,5	1,985
SH + ANT	322.917,15 <sup>abc</sup>	67.804,5	2,45
SH + EVPT	318.738,875 <sup>abc</sup>	70.616,5	2,315
Controle	355.288,525 <sup>a</sup>	84.060	2,27
ANT	298.177,875 <sup>ab</sup>	76.820,5	1,975
EVPT	39.4818,9 <sup>a</sup>	65.153	2,985
<b>Valor de P</b>			
Tratamentos	0,072	0,500	0,281
Blocos	0,449	0,140	0,452

**CV%** 17,97 21,67 24,15

<sup>a,b</sup> médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

Quanto ao estudo da histomorfometria do ílio de frangos de crescimento lento de 42 dias de idade (Tabela 8) foi observado influência significativa dos tratamentos nos parâmetros altura de vilosidade e profundidade de cripta do ílio ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos SH + EVPT e EVPT promoveram maior altura de vilosidade no ílio das aves submetidas a esses tratamentos. As aves submetidas ao tratamento ANT apresentaram menor altura de vilosidade. A altura de vilosidade do ílio das aves submetidas aos tratamentos SH + controle, SH + ANT e controle mostraram-se semelhantes.

O parâmetro profundidade de cripta do ílio das aves de 42 dias foi influenciado pelos tratamentos ( $P < 0,05$ ). A profundidade de cripta das aves submetidas ao tratamento SH + EVPT mostrou-se maior que a profundidade de cripta das aves submetidas aos tratamentos SH + controle e controle. A profundidade de cripta das aves submetidas ao tratamento SH + controle apresentou-se menor que a profundidade de cripta das aves submetidas aos demais tratamentos.

TABELA 8. Histomorfometria do ílio de frangos de crescimento lento aos 42 dias

<b>Tratamentos</b>	<b>Parâmetros histomorfométricos do ílio</b>		
	<b>Altura de vilosidades (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Profundidade de criptas (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Relação V:C</b>
SH + controle	510.016,6 <sup>ab</sup>	5.8505,67 <sup>c</sup>	4,345
SH + ANT	578.741,4 <sup>ab</sup>	74.805,61 <sup>abc</sup>	4,71
SH + EVPT	573.403,35 <sup>a</sup>	9.0463,92 <sup>a</sup>	3,11
Controle	458.278,6 <sup>ab</sup>	63.551,17 <sup>bc</sup>	3,55
ANT	431.668,35 <sup>b</sup>	80.094,29 <sup>abc</sup>	2,77
EVPT	593.314,15 <sup>a</sup>	87.559,09 <sup>abc</sup>	3,5075
<b>Valor de P</b>			
Tratamentos	0,0073	0,062	0,357
Blocos	0,6529	0,530	0,390
<b>CV%</b>	11,48	20,22	35,52

<sup>a,b</sup> médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

Nos tratamentos em que foi incluído o extrato vegetal de Pau-terra na água de bebida (SH + EVPT e EVPT) foi possível identificar influência positiva na altura de vilosidade do jejuno e no ílio das aves com 42 dias de idade. Os compostos fenólicos presentes no extrato de Pau-terra, possuem poder antioxidante, como identificado no experimento 1. Esses antioxidantes absorvem radicais livres e inibem a cadeia de iniciação ou interrompem a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais, os quais causam diversos danos nas células do epitélio intestinal e ao seu desenvolvimento<sup>25</sup>. Sendo assim, os compostos fenólicos presentes no extrato vegetal de Pau-terra provavelmente promoveu o crescimento das vilosidades no epitélio do jejuno e do ílio<sup>26</sup>.

O tratamento SH + EVPT influenciou no aprofundamento de cripta do ílio das aves de 42 dias. O aprofundamento da cripta pode estar relacionado a passagem da *Salmonella* Heidelberg para a mucosa intestinal, a qual pode ter sido facilitada pelas células M e por meio de enterócitos absorptivos, sem causar danos às células das vilosidades e, portanto, colonizaram as células crípticas, causando maior proliferação dessas, o que acarretou em profundamento de cripta. As células M e os enterócitos absorptivos presentes na mucosa intestinal são consideradas as principais vias de entrada da *Salmonella* spp. na mucosa e podem transportar o patógeno deixando o epitélio intacto, por isso a altura da vilosidade do ílio dessas aves apresentou maior que os demais<sup>27</sup>.

Outra explicação pode estar respaldada no fato de que a colonização da *Salmonella* Heidelberg acarretou em alterações nas células epiteliais das vilosidades, pois quando a bactéria se adere à parede do epitélio intestinal, prolifera-se e conseguem invadir a mucosa intestinal destruindo a parede epitelial do intestino por meio de metabólitos bacterianos e efeitos citotóxicos<sup>17</sup>. Portanto foi necessário haver intensa proliferação celular nas criptas para manter o mecanismo normal de crescimento das vilosidades e renovação celular, o qual, foi auxiliado pelo extrato vegetal de Pau-terra, pois a altura da vilosidade das aves submetidas ao tratamento SH + EVPT foi maior que a altura de vilosidade das aves submetidas aos demais tratamentos e semelhante à altura de vilosidade das aves submetidas ao tratamento EVPT.

Certamente o extrato vegetal de Pau-terra por ter potencial antioxidante e antimicrobiano possibilitou o crescimento das vilosidades intestinais de forma saudável, podendo ter influenciado na exclusão de microrganismos patogênicos que

destroem células epiteliais. Segundo Marchese<sup>21</sup>, os extratos vegetais possuem moléculas como os hidrocarbonetos, compostos fenólicos e cetonas capazes de inibir a proliferação bacteriana ou excluir patógenos, dependendo de sua concentração. Na pesquisa realizada por Yang<sup>28</sup>, não foi encontrado nenhuma diferença de altura de vilosidades no duodeno entre os grupos (aves submetidas ao tratamento com melhorador de desempenho e aves submetidas ao tratamento com timol, princípio presente em extratos vegetais, juntamente com ácidos orgânicos) para as aves com 42 dias de idade.

As pesquisas com extratos vegetais e óleos essenciais vêm demonstrando que essas substâncias promovem a integridade da morfologia intestinal, acarretando no incremento do desempenho das aves<sup>23, 24</sup>. Segundo Windishi<sup>29</sup>, os extratos vegetais e óleos essenciais são classificados como aditivos fitogênicos. Segundo Zeng<sup>30</sup>, os aditivos fitogênicos estão sendo utilizados como medida alternativa aos antimicrobianos melhoradores de desempenho para prevenir/reduzir o surgimento de bactérias multirresistentes à antibióticos utilizados na terapêutica de animais e humana. Como o extrato vegetal de Pau-terra exerceu influência positiva sobre as vilosidades do duodeno, jejuno e ílio possivelmente poderá contribuir como estratégia auxiliar para manutenção da integridade das células intestinais.

O crescimento e a manutenção do trato digestivo são fatores que contribuem para que as aves aumentem a eficiência dos processos digestivos<sup>31</sup>. A não preservação da integridade morfométrica da mucosa intestinal das aves estressadas compromete a absorção de nutrientes<sup>32</sup>. Isso altera o crescimento, o desenvolvimento e o desempenho das aves. As perdas econômicas tornam-se inevitáveis nessas situações.

Em referência ao estudo da bacteriologia, os dados estão apresentados nas Tabelas 9, 10 e 11, respectivamente. Foi identificada colonização da *Salmonella* Heidelberg no trato gastrointestinal dos frangos de crescimento lento, nas diferentes idades (7, 28 e 42 dias de idade). Não foram identificadas colonização de *Salmonella* Heidelberg nas aves não desafiadas, nos três períodos de coleta.

Com relação às aves de sete dias idade foi identificado que 75 % das aves desafiadas apresentaram colonização em algum dos órgãos estudados. As aves submetidas ao tratamento SH + controle apresentaram colonização da *Salmonella* Heidelberg no fígado, baço e ceco. Das aves estudadas, 50 % apresentaram colonização somente no fígado e 25 % apresentaram colonização no baço e ceco. As

aves submetidas ao tratamento SH + ANT observou-se colonização no ceco de 90 % das aves estudadas e 10 % no baço. Quanto às aves submetidas ao tratamento SH + EVPT foi identificado que 50 % das aves foram colonizadas no ceco, 25 % no fígado e 25 % no baço.

TABELA 9. Amostras de fígado, baço e ceco positivo/negativo para *Salmonella* Heidelberg em aves de crescimento lento com sete dias de idade.

Tratamentos	Fígado	Baço	Ceco
<b>Aves sem desafio</b>			
SH + controle	-	-	-
SH + ANT	-	-	-
SH + EVPT	-	-	-
<b>Aves com desafio</b>			
Controle	+	+	+
ANT	-	+	+
EVPT	+	+	+

No teste bacteriológico das aves desafiadas com vinte e oito dias de vida, (Tabela 10) foi verificada a presença de *Salmonella* Heidelberg em 58 % delas. No grupo das aves submetidas ao tratamento SH + controle foi identificada colonização no ceco e no fígado em 25 % das aves estudadas. No grupo de aves submetidas ao tratamento SH + ANT, 50% das aves apresentaram colonização no ceco, 25 % no fígado e 25 % no baço. Já no grupo das aves submetidas ao tratamento SH + EVPT, 50 % apresentaram colonização no ceco e 25 % apresentaram colonização no baço.

TABELA 10. Amostras de fígado, baço e ceco positivo/negativo para *Salmonella* Heidelberg em aves de crescimento lento de 28 dias de idade.

Tratamentos	Fígado	Baço	Ceco
<b>Aves sem desafio</b>			
SH + controle	-	-	-
SH + ANT	-	-	-
SH + EVPT	-	-	-
<b>Aves com desafio</b>			
Controle	+	+	+
ANT	+	+	+
EVPT	-	+	+

O teste bacteriológico do grupo de aves com 42 dias de idade (Tabela 11) constatou a presença de *Salmonella* Heidelberg somente em 16,66% das aves estudadas. Das aves submetidas ao tratamento SH + ANT 50 % apresentaram colonização no ceco. As aves submetidas ao SH + controle e ao SH + EVPT não apresentaram colonização.

TABELA 11. Amostras de fígado, baço e ceco positivo/negativo para *Salmonella* Heidelberg em aves de crescimento lento de 42 dias de idade.

Tratamentos	Fígado	Baço	Ceco
<b>Aves sem desafio</b>			
SH + controle	-	-	-
SH + ANT	-	-	-
SH + EVPT	-	-	-
<b>Aves com desafio</b>			
Controle	-	-	-
ANT	-	-	+
EVPT	-	-	-

No presente estudo foi possível identificar que a colonização por *Salmonella* Heidelberg reduziu conforme o avanço de idade das aves desafiadas. Certamente a maturação dos órgãos linfóides proporcionou a redução da colonização do patógeno entre as diferentes fases estudadas. Nas duas primeiras semanas de vida das aves de corte o tecido linfóide apresenta-se de forma desorganizada, além disso o tecido linfático do ceco e as placas de Peyer não estão totalmente desenvolvidos, dessa forma a entrada e proliferação da *Salmonella* spp. é facilitada pelos macrófagos, podendo colonizar outros órgãos como fígado e baço<sup>33</sup>.

Segundo Cerisuelo<sup>34</sup>, *Salmonella* ssp, após ser inoculada, leva aproximadamente quatro horas para invadir os órgãos internos. No trabalho desenvolvido por Boirsoi<sup>27</sup> as aves inoculadas com *Salmonella* Heidelberg apresentaram colonização do ceco e fígado 6 horas após a inoculação. De forma semelhante foi relatado por Silva<sup>35</sup>, ao constatarem colonização da *Salmonella* Heidelberg no fígado e baço sete dias após a inoculação *in ovo*. Também foram relatados redução da colonização de *Salmonella* Heidelberg conforme o crescimento das aves e, quando estavam com 35 dias de vida, não identificaram nenhuma unidade formadora de colônia da bactéria no ceco das aves.

O ceco foi o sítio que apresentou maior percentual de colonização da *Salmonella* Heidelberg, provavelmente isso ocorreu devido ao fato de que o tempo de permanência da ingesta é mais longo no ceco proporcionando condições estáveis para a colonização microbiana<sup>19</sup>. Além disso, segundo Boirsoi<sup>27</sup> existe uma relação inversa de colonização da *Salmonella* spp. entre o fígado e o ceco, quando há maior severidade de colonização no fígado, o ceco está com colonização menos severa.

Quanto aos efeitos do aditivo melhorador de desempenho comercial e o extrato vegetal de Pau-terra, foi possível identificar que ambos não apresentaram efeito bacteriostático ou bactericida para *Salmonella* Heidelberg nas aves desafiadas com 7 dias de idade, pois nos três tratamentos em que as aves desafiadas foram submetidas (SH + controle, SH + ANT e SH + EVPT), o percentual de aves que apresentaram colonização do patógeno no trato gastrointestinal foi igual, 75 %.

Provavelmente isso ocorreu devido ao mecanismo de ação do melhorador de desempenho que é eficaz no combate a bactérias Gram-positivas, sendo que *Salmonellas* spp, são bactérias Gram-negativas, ou seja, possuem membrana celular mais complexa, portanto são mais resistentes a agentes nocivos.

Já em relação ao extrato vegetal de Pau-terra que possui compostos como flavonóides 1 e 2 (kanferol-3-O-A-L-(4''-E-p-cumaroil)-raminosídeo e kanferol-3-O-A-L-(4''-Z-p-cumaroil)-raminosídeo), terpenos (esqualeno, fitol, lupeol, A-amirina, B-amirina, ácidos ursólico e oleanólico), esteróides (sitosterol, sitostenona, 3-O-B-D-glicopiranosídeo do sitosterol Ayres<sup>36</sup>), pode não apresentar efeito antimicrobiano frente a *Salmonella* Heidelberg, isso se confirma pelos dados obtidos no ensaio de desempenho, em que as aves submetidas ao tratamento SH + EVPT apresentaram o pior ganho de peso e peso final.

Entretanto, alguns trabalhos têm apresentado algum efeito antimicrobiano do extrato vegetal de Pau – terra, como no estudo desenvolvido por Ayres<sup>37</sup>, no qual relatou haver efeito antibacteriano do extrato da folhas do Pau-terra e sobre o *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228 e MRSE H-111). Semelhantemente foi identificado no estudo realizado por Alvez<sup>38</sup>, em que validou o efeito antibacteriano (*in vitro*) do extrato de Pau-terra sobre o *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (gram Positivas) e *Pseudomonas aeruginosa* (gram negativa).

Com relação dos parâmetros bioquímicos séricos das aves de 28 dias (Tabela 12) observou-se influência dos tratamentos na concentração de albumina (Alb) e colesterol (Cole) (P<0,05). No tocante a concentração de albumina sérica observou-se redução entre as aves submetidas aos tratamentos controle e SH + controle e SH + ANT e SH + EVPT, sendo a maior concentração de albumina encontrada nas aves submetidas ao tratamento controle. A redução da albumina nas aves do tratamento SH + ANT foi de 43,16 %, no caso das aves do tratamento SH + EVPT foi de 19,91 %. Possivelmente a diminuição da concentração de albumina nesses dois grupos de aves está relacionada aos processos inflamatórios ocasionados pela colonização do trato gastrointestinal por *Salmonella* Heidelberg.

Nas aves existe uma relação inversa entre as proteínas plasmáticas totais (albumina e globulinas), pois ocorre aumento da concentração de globulinas e redução da albumina quando as aves estão submetidas a condições de infecções, hemorragias ou desnutrição<sup>39,40</sup>. A hipoalbuminemia ocorre devido a perdas (via glomerular, em enteropatias, por lesões cutâneas, e em hemorragias severas), por diminuição da sua produção (em casos de insuficiência hepática, má alimentação, má digestão, má absorção), e por diminuição por sequestro (ascite aviar)<sup>41,42</sup>.

Quanto à concentração de colesterol sérico nas aves, os resultados sustentam incremento de colesterol nas aves submetidas ao tratamento SH + controle em

relação ao tratamento controle. Entretanto, observou-se redução da concentração de colesterol entre os tratamentos em que as aves foram desafiadas. Houve diminuição de 12,31% da concentração de colesterol para o grupo de aves SH + EVPT quando comparado com o tratamento SH + controle. O colesterol é o lipídeo mais comum nos tecidos corporais e atua como precursor na síntese de hormônios esteroides e de sais biliares. O aumento das concentrações pode ser ocasionada por obstrução biliar extra-hepática, fibrose hepática, hiperplasia do ducto biliar e por dieta rica em gordura. Dessa forma, pode-se influir que o extrato vegetal de Pau-terra foi eficiente em promover melhores condições de funcionamento do fígado quando colonizado por bactéria *Salmonella* Heidelberg.

Segundo Borsa<sup>43</sup> os níveis séricos elevados de colesterol estão associados a problemas cardíacos em animais e humanos, entretanto a concentração de colesterol por si só não permite um diagnóstico preciso, pois é bastante sensível aos fatores como hereditariedade, nutrição, sexo, idade e condições ambientais<sup>x44,45</sup>.

TABELA 12. Parâmetros bioquímicos séricos de frangos de corte de crescimento lento de 28 dias.

Tratamentos	Parâmetros bioquímicos séricos							
	Alb (g/dl)	Alt	A. urico (mg/dl)	Cole (g/dl)	Glic (mg/dl)	Glob (g/dl)	Prot (g/dl)	Trig (mg/dl)
SH + controle	1,09 <sup>b</sup>	7,92	5,83	140,88 <sup>a</sup>	227,5	2,23	3,45	40,11
SH + ANT	0,98 <sup>b</sup>	7,04	3,63	112,63 <sup>b</sup>	239,5	2,34	3,32	34,69
SH + EVPT	1,17 <sup>b</sup>	7,36	2,64	125,43 <sup>ab</sup>	198,3	2,2	3,48	38,32
Controle	1,403 <sup>a</sup>	9,75	2,57	112,69 <sup>b</sup>	234,5	2,04	3,44	49,93
ANT	1,23 <sup>ab</sup>	9,45	5,05	113,88 <sup>ab</sup>	242,9	2,20	3,29	27,27
EVPT	1,17 <sup>ab</sup>	11,5	4,16	134,02 <sup>ab</sup>	237,7	2,29	3,30	37,34
<b>Valor de P</b>								
Tratamentos	0,010	0,815	0,1973	0,0178	0,6613	0,4615	0,6541	0,6158
Blocos	0,504	0,600	0,5319	0,4897	0,1865	0,2271	0,4328	0,9803
CV%	11,41	63,57	53,63	10,24	22,15	9,85	6,71	45,44

Com relação dos parâmetros bioquímicos séricos das aves de 42 dias (Tabela 13) observou-se influência dos tratamentos na concentração de ácido úrico (A. úrico) e triglicérides (Trig) ( $P < 0,05$ ). Quanto à concentração de ácido úrico, as aves

submetidas ao tratamento SH + EVPT apresentaram maior concentração de ácido úrico que as aves submetidas aos demais tratamentos, sendo que as aves submetidas ao tratamento SH + controle apresentaram menor concentração de ácido úrico que as aves submetidas aos demais tratamentos. O ácido úrico é o composto nitrogenado excretado em maior quantidade nas aves e sua síntese ocorre no fígado e parcialmente nos rins. Segundo Schmidt<sup>46</sup>, o aumento de ácido úrico, creatinina e uréia no plasma ocorre quando os rins trabalham a 30% de sua capacidade. Sendo assim, ao considerar que os níveis de ácido úrico normais para aves jovens é de 1 até 2 mg/dL, pode-se influir que as aves submetidas a todos os tratamento apresentaram concentração de ácido úrico acima da normalidade.

TABELA 13. Parâmetros bioquímicos de frangos de corte de crescimento lento de 42 dias.

Tratamentos	Parâmetros bioquímicos séricos							
	Alb (g/dl)	Alt	A.urico (mg/dl)	Cole (g/dl)	Glic (mg/dl)	Glob (g/dl)	Prot (g/dl)	Trig (mg/dl)
SH + controle	1,65	23,9	2,64 <sup>b</sup>	117,7	231,88	1,30	2,92	39,25 <sup>b</sup>
SH + ANT	1,79	21,8	3,41 <sup>ab</sup>	121,3	230,55	1,33	3,12	33,35 <sup>b</sup>
SH + EVPT	1,64	16,1	4,70 <sup>a</sup>	117,3	231,85	1,37	3,032	77,38 <sup>a</sup>
Controle	1,75	19,0	2,50 <sup>ab</sup>	118,9	221,55	1,42	3,22	33,87 <sup>b</sup>
ANT	1,81	18,7	3,08 <sup>ab</sup>	111,6	220,1	1,61	3,42	42,98 <sup>b</sup>
EVPT	1,43	12,9	3,83 <sup>ab</sup>	92,7	221,76	1,59	3,05	41,14 <sup>b</sup>
<b>Valor de P</b>								
Tratamentos	0,133	0,4695	0,0187	0,1735	0,8607	0,219	0,3373	0,0061
Blocos	0,2794	0,777	0,012	0,6584	0,7619	0,6287	0,8781	0,2137
CV%	10,96	39,75	25,83	12,11	7,79	14,75	10,02	33,34

A maior concentração de triglicérides foi apresentada pelo grupo de aves submetidas ao tratamento SH + EVPT e controle, enquanto que a menor concentração de triglicérides foi apresentada pelo grupo de aves submetidas aos tratamentos SH + controle e SH + ANT. Os triglicerídeos são sintetizados na mucosa intestinal e fígado a partir de componentes da digestão das gorduras. Segundo Borsa<sup>42</sup>, os triglicerídeos e colesterol são componentes analisados nos testes de avaliação do metabolismo lipídico, sendo o triglicerídeo o lipídeo padrão do organismo, que constitui, em média, 95% de toda a gordura que existe no corpo. O

aumento de 128,46 % de triglicerídeos das aves submetidas ao tratamento SH + EVPT em relação ao tratamento controle pode estar relacionado a danos hepáticos ocasionados por doenças infecciosas, como a salmonelose<sup>47</sup>. Entretanto os triglicerídeos podem ser influenciados por fatores como o sexo, clima, influência hormonal e por erros de balanceamento na dieta<sup>45</sup>.

Os resultados da presente pesquisa não estão em consonância com os resultados encontrados por Abudabo<sup>48</sup> ao trabalhar com frangos de corte desafiadas com *Salmonella typhimurium* relatou que as aves submetidas ao tratamento com antimicrobiano comercial apresentaram incremento de albumina sérica na segunda semana de vida, porém a concentração de triglicérides e glicose reduziu. Ainda, os autores identificaram que os óleos essenciais (thimol, thime e anise) não influenciaram as concentrações séricas de colesterol, proteínas totais, aspartato amino transferase e alanina transaminase. Entretanto, em outro trabalho realizado por Abudabo<sup>49</sup>, utilizando frangos infectados por *Clostridium perfringens*, identificaram influência dos óleos essenciais (carvacrol, cinnamaldehyde e capsaicin) nas concentrações séricas de proteínas totais e globulinas nas aves com 4 semanas de idade.

#### 4. CONCLUSÃO

O extrato vegetal etanólico de Pau-terra, oferecido na água de bebida, utilizando concentração de 1:1000 e fornecido uma vez ao dia à frangos de crescimento lento não promove a melhora do desempenho de frangos até os 28 dias de idade e não apresenta atividade antimicrobiana frente à *Salmonella* Heldelberg.

## REFERÊNCIAS

1. Figueiredo EAP, Soares JPG. Sistemas orgânicos de produção animal: dimensões técnicas e econômicas. In: A produção animal no mundo em transformação. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 49. Anais... Brasília/DF p. 1-31 2012.
2. Ferreira AS. Demanda domiciliar por alimentos orgânicos no Brasil. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa. 2015, p.110.
3. Demattê Filho LC. Sistema agroalimentar da avicultura fundada em princípios da Agricultura Natural: multifuncionalidade desenvolvimento territorial e sustentabilidade. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e Centro de Energia Nuclear na Agricultura Piracicaba. 2014.
4. Farina TMQ, Fagá S. A Percepção Dos Consumidores De Frangos Alternativos. In: Congresso Brasileiro De Economia E Sociologia Rural 2002. Anais... [S.l.]: SOBER 2002.
5. Demattê Filho LC. 2015. ABNT normatiza a criação brasileira de Frangos Caipiras [Entrevista]. Revista ave World. Disponível em: <<http://www.aveworld.com.br/noticia/abnt-normatiza-a-criacao-brasileira-de-frangos-caipiras>>
6. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *Int. J. Food Microbiol.* 2004; 94: 223–253.
7. Brugalli I. Alimentação Alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: Simpósio Sobre Manejo E Nutrição De Aves E Suínos. 2003 Campinas. Anais... Campinas: colégio brasileiro de nutrição animal 2003. P.167-182
8. Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 2000; 88: 308–316.
9. Calo JR, Crandall PG, O’bryan CA, Ricke SC. Essential oils as antimicrobials in food systems - A Review. *FoodControl.* 2015; 54: 111–119.
10. Hiruma-Lima CA, Santos LC, Kushima H, Pellizzon CH, Silveira GG, Vasconcelos PCP, Vilegas W, Souza Brito ARM, J. *Ethnopharmacol.* 2006; 104 207.
11. Haslam E. *Plant Polyphenols Vegetable Tannins Revisited.* Cambridge University Press Cambridge, 1989.

12. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV. 3ed. 252p. 2011.
13. Luna LG. Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3 Ed. New York McGraw Hill, 1968 258p.
14. Amerah M, Mathis G, Hofacre CL.. Effect of xylanase and a blend of essential oils on performance and *Salmonella* colonization of broiler chickens challenged with *Salmonella* Heidelberg. *Poult Sci.* 2012; 91(4): 943–947.
15. Hayashi RM, Louren MC, Kraieski AL, Araújo R, Gonzalez-Esquerria R, Leonardecz E, Ferreira AC, Carazzolle MF, Monzani PS, Santin E.. Effect of feeding *Bacillus subtilis* spores to broilers challenged with *Salmonella* enterica serovar Heidelberg Brazilian strain UFPR1 on performance, immune response and gut health. *Front. Vet. Sci.* 2018; 5:13.
16. Santin E, Hayashi RM, Wammes JC, Gonzales-Esquerria R, Carazzolle MF, Freire CCM. Phenotypic and genotypic features of a *Salmonella* Heidelberg strain isolated in broilers in Brazil and their possible association to antibiotics and short-chain organic acids resistance and susceptibility. *Front Vet Sci.* 2017; 4:184.
17. Lancinni JB. Fatores exógenos na função gastrointestinal: aditivos. In: Fundação Apinco De Ciência E Tecnologia (Ed.). *Fisiologia da digestão e absorção das aves.* Campinas: FACTA p99-126, 1994.
18. Kohlert C, Van Rensen I, Marz R, Shindler G, Graefe EU, Veit M. Bioavailability and pharmokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. *Planta Med.* 2000; 66 (6): 495-505.
19. Herdt T, Cunningham J.G. Fisiologia gastrintestinal de metabolismo, p.231-238. In: *Ibid.* (Eds), *Tratado de Fisiologia Veterinária.* Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2004, 720p.
20. Chiquieri J, Soares RTRN, Hurtado Nery VL. Bioquímica sangüínea e altura das vilosidades intestinais de suínos alimentados com adição de probiótico, prebiótico e antibiótico. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 2007; 8:97-104.
21. Lopes CC, Rabello CB, Silva VA. Desempenho, digestibilidade, composição corporal e morfologia intestinal de pintos de corte recebendo dietas contendo levedura de cana-de-açúcar. *Acta Sci. Anim. Sci.* 2011; 33:33- 40.

22. Maiorka A, Boleli IC; Macari M.. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal, p.113-123. In: Macari M., Furlan R.L. & Gonzales E. (Eds), Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte. Funep/Unesp, Jaboticabal. 2002, 375p.
23. Santin E, Maiorka A, Macari M, Grecco M, Sanchez JC, Okada TM, Myasaka M. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *saccharomyces cerevisiae* cell wall. J. Applied Poultry Res. 2001; 10: 236-244.
24. Baurhoo B, Phillip L, Ruiz-Feria CA. Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens. Poult. Sci. 2007; 86:1070-1078.
25. Podsedek A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. LWT-Food Sci. Technol. 2007; 40:1-11.
26. Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Review. Progress in Lipid Research. 2007; 46: 244-282.
27. Borsoi A, Santos LR, Rodrigues LB, Moraes HL, Souza Salle CT, Pippi NV, Pinheiro do. Behavior of *Salmonella* heidelberg and *Salmonella* enteritidis strains following broiler chick inoculation: evaluation of cecal morphometry liver and cecum bacterial counts and fecal excretion patterns. Braz. J. Microbiol. 2011; 42( 1 ): 266-273.
28. Xin Yang, Hongliang Xin, Chengbo Yang, Xiaojun Yang. Impact of essential oils and organic acids on the growth performance, digestive functions and immunity of broiler chickens, Animal Nutrition. 2018: 4 (4):388-393.
29. Windisch W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. J. Anim. Sci. 2008, 86 (Suppl. 14), 140–148.
30. Zeng Z, Zhang S, Wang H, Piao X. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. J Anim Sci Biotechnol. 2015; 6:1-10.
31. Furlan RL, Carvalho NC, Malheiros EB. et al. Efeito da restrição alimentar inicial e da temperatura ambiente sobre o desenvolvimento de vísceras e ganho compensatório em frangos de corte. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2001; 53:1-7.

32. Noy Y, Sklan D. Digestion and absorption in the young chick. *Poult. Sci.* 1995;74:366-373.
33. Henderson SC, Bounous DI, Lee MD. Early events in the pathogenesis of avian Salmonellosis. *Infection and Immunity.* 1999;67: 3580-3586.
34. Cerisuelo A, Marín C, Sanchez-vizcaíno F, Gomez EA, Delafuente JM, Duran R, Fernandez C. The impact of a specific blend of essential oil components and Sodium butyrate in feed on growth performance and Salmonella counts in experimentally challenged broilers. *Poultry Sci.* 2014;93:599-606.
35. Silva IGO, Vellano IHB, Moraes AC, Lee IM, Alvarenga B, Milbradt EL, Hataka A, Okamoto AS, Andreatti Filho RL. Evaluation of a probiotic and a competitive exclusion product inoculated in ovo on broiler chickens Challenged with Salmonella Heidelberg. *Brazilian Journal of Poultry Science.* 2017; 19(1) 9-26.
36. Ayres MCC, Escórcio SP, Costa DA, Chaves MH, Vieira Júnior GMagela, Cavalheiro AJ. Químicos das folhas de *Qualea grandiflora*: atribuição dos dados de RMN de dois flavonóides glicosilados acilados diastereoisoméricos. *Química Nova.* 2008; 31(6): 1481-1484.
37. Ayres MCC, Brandão MS, Vieira Júnior GM, Menor JCAS, Silva HB, Soares MJS, Chaves MH. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2008; 18, 90.
38. Alves TMA, Silva AF, Brandão M, Grandi TSM, Smânia EFA, Smânia Júnior A, et al. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2000; 95(3): 367-373.
39. Boettcher, A. Valores bioquímicos sanguíneos del cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*, Molina 1782), en una población silvestre, de Valdivia, Chile. Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al título de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile. 2004.
40. Kaneko J, Harvey J, Bruss M. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5th ed., San Diego, Academic Press, 1997, 932p.
41. Lumeij JT. *Avian Clinical Biochemistry*. In: Kaneko JJ; Harvey JW; Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* 5th edition. San Diego, Academic Press, 1997. 932p
42. Bowes V, Julian R, Stirtzinger T. Comparison of Serum Biochemical Profiles of Male Broilers with Female Broilers and White Leghorn Chickens *Can. J Vet Res.* 1989; 53: 7-11.

43. Borsa A, Kohayagawa A, Boretti LP, Saito ME, Efeitos da interação entre aflatoxicoses e doença infecciosa bursal sobre níveis de enzimas de função hepática, colesterol e triglicerídeos em frangos de corte. *Veterinária em Foco*. 2011; 8(2):132- 142.
44. Swenson M, O’Reece W. Dukes. *Fisiologia dos animais domésticos*. Cornell University Press. 1996.
45. Schmidt E, Locatelli -Dittrich R, Santin E, Paulillo A. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. *Archives of Veterinary Science*. 2007; 12(3):9-20.
46. Berchieri A, Jr Silva EM, Fábio JD, Sesti L, Zuanaze MA. (Eds.). *Doenças das Aves*. 2 ed., FACTA Brasil . 2009. 1. 104p.
47. Abudabos AM, Alyemni AH, Dafallah YM, KhanRU. The effect of phytogetic feed additives to substitute in-feed antibiotics on growth traits and blood biochemical parameters in broiler chicks challenged with *Salmonella typhimurium*. *Environ Sci Poll Res*. 2016; 23:24151–24157.
48. Abudabos AM., Alyemni AH., Dafalla YM, Khan RU. The effect of phytogenics on growth traits, blood biochemical and intestinal histology in broiler chickens exposed to *Clostridium perfringens* challenge. *Journal of Applied Animal Research*, 2018; 46:1, 691-695.

## CAPÍTULO 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos vegetais são produtos concentrados em moléculas bioativas, como compostos fenólicos, que há muito tempo são utilizados para prover algum benefício à saúde humana, e que atualmente estão sendo testados em animais a fim de se verificar seus efeitos, principalmente como antimicrobianos para os animais.

Entretanto, devido aos inúmeros fatores que contribuem para diversificação de extratos vegetais, como diversos protocolos de extração, idade da planta, variedades da mesma espécie de planta, partes diferentes da planta que estão sendo utilizadas como matéria-prima, diluição, armazenamento, além dos fatores climáticos que a planta foi submetida, torna o extrato vegetal um produto difícil de ser avaliado e padronizado para uma específica função.

No primeiro experimento, os sete extratos vegetais etanólicos testados *in vitro* apresentaram boa concentração de compostos fenólicos e potencial antioxidante, entretanto quando testados sua influência para inibir o crescimento da *Salmonella* Heidelberg, somente o extrato de Pau-terra apresentou efeito moderado. No segundo experimento foi identificado que o efeito do extrato de Pau-terra frente à *Salmonella* Heidelberg inoculadas em frangos de crescimento lento não promoveu o desempenho das aves até os 28 dias de idade e não influenciou na saúde intestinal das aves até os 42 dias de idade.

O grande desafio da utilização de extratos vegetais na nutrição de frangos de crescimento lento está na identificação e quantificação dos compostos que exercem influência a um gênero ou espécie de patógeno, além da padronização do produto, estabelecendo protocolos de extração mais elaborados e específicos para a função desejada do produto.