

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

**ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA E EXTRATO DE BARBATIMÃO NA  
DIETA DE POEDEIRAS COMERCIAIS INFECTADAS POR *Escherichia*  
*coli***

Aleane Francisca Cordeiro Barbosa  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nadja Susana Mogyca Leandro

GOIÂNIA  
2015

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) 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/UFG), 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**

Autor (a):	ALEANE FRANCISCA CORDEIRO BARBOSA		
E-mail:	aleanebarbosa@hotmail.com		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Vínculo empregatício do autor			
Agência de fomento:		Sigla:	
País:	UF:	CNPJ:	
Título:	Óleo-Resina de Copaíba e Extrato de Barbatimão na Dieta de Poedeiras Comerciais Infectadas por <i>Escherichia Coli</i>		
Palavras-chave:	Aditivos, <i>Copaífera</i> , fitogênicos, galinhas, <i>Stryphnodendron adstringens</i>		
Título em outra língua:	Oil resin of copaíba and extract barbatimão in the diet of laying hens infected with <i>Escherichia coli</i>		
Palavras-chave em outra língua:	Additives, <i>Copaífera</i> , phytogenics, hens, <i>Stryphnodendron adstringens</i>		
Área de concentração:	Produção Animal		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	17/04/2015		
Programa de Pós-Graduação:	Programa de Pós-Graduação em Zootecnia		
Orientador (a):	Nádja Susana Mogyca Leandro		
E-mail:	mogyca@ufg.br		
Co-orientador(a):*	Marcos Bardellos Café/Maria Auxiliadora Andrade		
E-mail:	mcafe@ufg.br/maa@ufg.br		

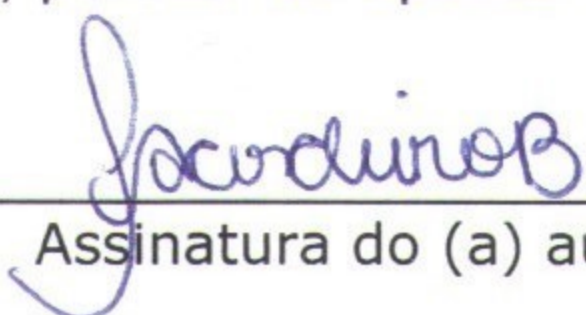
\*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

**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 ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.



Assinatura do (a) autor (a)

Data: 01 / 10 / 2018

<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.

ALEANE FRANCISCA CORDEIRO BARBOSA

**ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA E EXTRATO DE BARBATIMÃO NA  
DIETA DE POEDEIRAS COMERCIAIS INFECTADAS POR *Escherichia  
coli***

Dissertação apresentada para  
obtenção do título de Mestre em  
Zootecnia junto à Escola de  
Veterinária e Zootecnia da  
Universidade Federal de Goiás

**Área de Concentração:**

Produção Animal

**Orientadora:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nadja Susana Mogyca Leandro – EVZ/UFG

**Comitê de Orientação:**

Prof. Dr. Marcos Barcellos Café – EVZ/UFG

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Auxiliadora Andrade – EVZ/UFG

GOIÂNIA

2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Cordeiro Barbosa, Aleane Francisca  
Óleo-resina de copaíba e extrato de barbatimão na dieta de poedeiras  
comerciais infectadas por *Escherichia coli* [manuscrito] / Aleane  
Francisca Cordeiro Barbosa. - 2015.  
lxviii, 68 f.

Orientador: Profa. Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro; co  
orientador Marcos Barcellos Café; co-orientador Dr. Maria Auxiliadora  
Andrade.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, , Programa  
de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, 2015.

Bibliografia.

Inclui tabelas, lista de tabelas.

1. Aditivos. 2. Copaífera. 3. fitogênicos. 4. galinhas. 5.  
*Stryphnodendron adstringens*. I. Mogyca Leandro, Nadja Susana,  
orient. II. Barcellos Café, Marcos, co-orient. III. Título.

*A minha família, em especial a minha mãe Enide  
Cordeiro, por sempre me apoiar e acreditar nos meus  
sonhos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado as forças que precisava para dar continuidade a essa jornada.

A minha família, meus irmãos Alexandro e Arthur, em especial ao meu tio Raimundo Cordeiro e minha tia Socorro, obrigada pelo apoio, incentivo e carinho. Jamais esquecerei o que vocês fizeram por mim.

Aos meus queridos amigos Mariana Parente e Iberê Parente, sem vocês com certeza eu não estaria aqui. Obrigada meus amores, por sempre acreditarem em mim.

Ao meu namorado Jorge pela compreensão e paciência.

A minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Nadja Susana Mogyca Leandro, pela disponibilidade, lições profissionais e pessoais, paciência, incentivo e por se fazer presente em todos os momentos da realização deste trabalho. Muito obrigada por me tornar uma profissional melhor.

Aos meus co-orientadores Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Auxiliadora Andrade e Prof. Dr. Marcos Barcellos Café pela disponibilidade, apoio, dedicação e paciência.

Ao Prof. Dr. José Henrique Stringhini pelo incentivo, ensinamentos, carinho, disponibilidade e por contribuído na minha formação profissional.

Aos amigos da Pós-Graduação, Januária, Maria Juliana, Bruno Moreira, Janaina, Eduardo, Robson, Marta, Fabíola, Rayanne, Ana Flávia, Mariana, Leonardo, Maryelle, Bruno Borges pela ajuda no experimento e pelos momentos bons e ruins que vivemos juntos, mas que nos serviram de aprendizado. Em especial, a Raiana Noletto e Cristielle Nunes pelo apoio, dedicação e amizade.

A equipe do Laboratório de bacteriologia da Escola de Veterinária e Zootecnia, Samantha, Ana Maria, Dunya, Gisele, Edileuza pela ajuda, momentos de descontração e amizade.

Aos Alunos da Graduação Mayra, Leandro, Thaiane e Nicaele pela ajuda com os experimentos e pelas boas gargalhadas que demos juntos.

Aos funcionários da UFG que sempre se dispuseram a me ajudar, em especial ao Sr. Expedito, Reginaldo, Helio, Gerson, Sr. Germano, Felipe, Rose e Cícera.

Ao prof<sup>º</sup>. Dr. Edemilson Cardoso da Conceição e a Mythai Lima do Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás pela ajuda na obtenção dos produtos utilizados neste estudo.

A CAPES pelo apoio financeiro para realização da pesquisa e pela bolsa.

“Eu sou o que posso, na medida que me permitem.  
Quando posso, ultrapasso as fronteiras. Quando não  
posso, do meu limite, faço arte.  
Sou semelhante ao rio. Se me barram, eu aprofundo.”

Padre Fábio de Melo

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	12
1.1 Uso de aditivos fitogênicos na avicultura.....	13
1.2 Copaíba.....	16
1.3 Barbatimão .....	19
1.4 <i>Escherichia coli</i> .....	21
REFERÊNCIAS	23
CAPITULO 2. DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO DE BARBATIMÃO OU ÓLEO DE COPAÍBA E DESAFIADAS COM <i>Escherichia coli</i> .....	31
RESUMO.....	31
ABSTRACT.....	32
2.1 Introdução.....	33
2.2 Material e métodos .....	34
2.2.1 Local de realização do experimento .....	34
2.2.2 Alojamento das aves.....	35
2.2.3 Delineamento experimental.....	35
2.2.4 Manejo experimental .....	36
2.2.5 Preparação do inóculo de <i>Escherichia coli</i> e infecção experimental .....	37
2.2.6 Variáveis estudadas .....	37
2.2.7 Análise estatística .....	38
2.3. Resultados e discussão.....	39
2.3.1. Desempenho .....	39
2.3.2. Qualidade dos ovos.....	43
2.4 Conclusões.....	48
REFERÊNCIAS.....	49
CAPITULO 3. OCORRÊNCIA DE <i>Escherichia coli</i> EM OVOS, FOLÍCULOS OVARIANOS E OVIDUTO DE POEDEIRAS VERMELHAS DESAFIADAS COM <i>Escherichia coli</i> E ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO DE BARBATIMÃO E ÓLEO DE COPAÍBA.....	52

RESUMO.....	52
ABSTRACT.....	53
3.1 Introdução.....	54
3.2 Material e métodos .....	55
3.2.1 Local de realização do experimento .....	55
3.2.2 Alojamento das aves.....	55
3.2.3 Delineamento experimental.....	55
3.2.4 Preparação do inóculo de <i>Escherichia coli</i> e infecção experimental .....	56
3.2.5 Variáveis estudadas .....	57
3.2.6 Análise estatística .....	59
3.3. Resultados e discussão.....	59
3.3.1. Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> .....	59
3.4 Conclusões.....	65
REFERÊNCIAS.....	66
CAPÍTULO 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	68

**LISTA DE TABELAS****CAPITULO 2**

TABELA 1.	Composição centesimal e valor nutricional calculado da ração basal.....	36
TABELA 2.	Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 64 a 68 semanas de idade.....	39
TABELA 3.	Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 68 a 72 semanas.....	40
TABELA 4.	Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 72 a 76 semanas.....	41
TABELA 5	Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba no período total (64 a 76 semanas de idade).....	42
TABELA 6.	Qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 64 a 68 semanas.....	43
TABELA 7.	Qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 68 a 72 semanas.....	44
TABELA 8.	Qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 72 a 76 semanas.....	45
TABELA 9.	Qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou copaíba no período total (de 64 a 76 semanas).....	46

**CAPITULO 3**

TABELA 1.	Composição centesimal e valor nutricional calculado da ração basal.....	57
TABELA 2.	Frequência de isolamento de <i>Escherichia coli</i> em suabes intravaginal de poedeiras comerciais alimentadas com dietas contendo óleo de copaíba ou extrato de barbatimão antes e após o período experimental.....	60
TABELA 3.	Frequência de isolamento de <i>Escherichia coli</i> em folículos ovarianos e oviduto de poedeiras comerciais alimentadas com dietas contendo óleo de copaíba ou extrato de barbatimão, no final do período experimental.....	61
TABELA 4.	Frequência de isolamento de <i>Escherichia coli</i> em ovos de poedeiras comerciais alimentadas com dietas contendo óleo de copaíba ou extrato de barbatimão no período de 64 a 76 semanas.....	62

## RESUMO

### **Óleo-resina de copaíba e extrato de barbatimão na dieta de poedeiras comerciais infectadas por *Escherichia coli***

A realização do presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de óleo-resina de copaíba ou extrato de Barbatimão na ração de poedeiras comerciais desafiadas com *Escherichia coli*. Foram utilizadas 200 poedeiras comerciais da linhagem Isa Brow (64 a 76 semanas de idade) sendo todas as aves inoculadas via intravaginal (0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,85% contendo  $8,8 \times 10^9$  UFC/mL de *Escherichia coli*), alojadas em gaiolas e distribuídas em delineamento em blocos ao acaso (sendo o peso das aves blocado), com quatro tratamentos e cinco repetições de 10 aves. Os tratamentos foram: aves desafiadas recebendo: A – ração basal sem aditivos; B – ração basal + 30 mg/kg de antibiótico (halquinol); C – ração basal + 30 mg/kg de óleo-resina de copaíba; D – ração basal + 40 mg/kg de barbatimão. O experimento teve duração de três períodos de 28 dias. Ao final de cada período foi avaliado desempenho, qualidade externa e interna de ovos e pesquisa de *Escherichia coli* em ovos, e ao final do último período foi realizada pesquisa de *Escherichia coli* em folículos ovarianos e oviduto, e biometria de ovário e oviduto. Os dados de desempenho, qualidade externa e interna de ovos e biometria, foram submetidos a análise de variância e as médias, quando necessário, comparadas pelo teste de Tukey (5%). Para a pesquisa de *Escherichia coli* em ovos, folículos e oviduto foi aplicada análise descritiva (frequência absoluta e relativa). A inclusão de 40 mg/kg de ração, do extrato de barbatimão proporcionou pior conversão alimentar em relação ao tratamento controle e prejudicou a produção de ovos em relação ao tratamento com antibiótico. A adição de 30 mg/kg de ração, do óleo-resina de copaíba não influenciou no desempenho produtivo. A utilização do extrato de barbatimão proporcionou ovos mais pesados e pior espessura de casca e qualidade interna (UH) em relação ao tratamento com antibiótico. O peso do ovo, a porcentagem de albúmen e o índice de gema do tratamento com óleo-resina de copaíba se apresentaram melhores que o tratamento com antibiótico. No entanto a inclusão do óleo-resina de copaíba resultou em porcentagem de gema inferior em relação ao tratamento com antibiótico. Houve menor frequência de isolamento de *Escherichia coli* em amostras de suabes intravaginal do tratamento com copaíba. A inclusão do barbatimão ou da copaíba proporcionou menor frequência de isolamento de *E. coli* nos folículos ovarianos em relação ao tratamento com antibiótico. Houve menor frequência de isolamento de *E. coli* no oviduto com a adição do extrato de barbatimão em relação ao tratamento com antibiótico. Já o tratamento com óleo-resina de copaíba apresentou maior frequência de isolamento de *E. coli* no oviduto que os demais tratamentos. A utilização do óleo-resina de copaíba ou extrato de barbatimão resultou em menor frequência de isolamento de *Escherichia coli* nas amostras de casca, albúmen e gema que o tratamento com antibiótico. Rações contendo óleo-resina de copaíba ou barbatimão promoveram peso de ovário semelhante ao tratamento com antibiótico. O peso do oviduto do tratamento com copaíba foi superior ao tratamento com antibiótico. A inclusão de óleo-resina de copaíba ou extrato de -barbatimão pode ser alternativa ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho em dietas de poedeiras comerciais.

**Palavras-chave:** Aditivos, *Copaífera*, fitogênicos, galinhas, *Stryphnodendron adstringens*.

## ABSTRACT

### **Oil resin of copaíba and extract barbatimão in the diet of laying hens infected with *Escherichia coli***

The present study was performed to evaluate the supplementation of copaiba oleo resin or barbatimão extract in the diet of laying hens challenged with *Escherichia coli*. A total of 200 Isa Brown laying hens (64-76 weeks old) were used, and all the birds were intravaginally inoculated with 0.5 mL of 0.85% sterile saline solution containing  $8.8 \times 10^9$  CFU / mL of *Escherichia coli*. It was adopted the randomized complete block design (birds weight used as block criteria), with four treatments and five replicates of 10 birds. The treatments consisted of: basal diet without additives (control); basal diet + 30 mg / kg of antibiotic (halquinol); basal diet + 30 mg / kg of copaiba oleo resin and basal diet + 40 mg / kg barbatimão extract. The experiment lasted three periods of 28 days. At the end of each period, the performance and the external and internal egg quality were evaluated as the search for the presence of *Escherichia coli* in eggs; and at the end of the total period, the search for *Escherichia coli* in ovarian follicles and oviduct. Data were subjected to analysis of variance and means, when necessary, were compared by Tukey test (5%). For the *Escherichia coli* searching in eggs, follicles and oviduct, it was applied descriptive analysis (absolute and relative frequency). The inclusion of 40 mg / kg diet of barbatimão extract lead to worse feed conversion than the control treatment and decreased egg production compared to antibiotic treatment. The addition of 30 mg / kg diet of copaiba oleo resin did not influence the hens performance. The use of barbatimão extract lead to production of heavier eggs, and worse shell thickness and internal quality (UH) when compared to antibiotic treatment. Egg weight, the albumen percentage and the yolk index in the treatment with copaiba oleo resin were better than those of antibiotic treatment. However, the inclusion of copaiba oleo resin resulted in a lower yolk percentage when compared to antibiotic treatment. There was a lower frequency of isolation of *Escherichia coli* in intra-vaginal swabs samples from treatment with copaiba. The inclusion of barbatimão or copaiba provided lower frequency of isolation of *E. coli* in ovarian follicles in relation to antibiotic treatment. There was a lower frequency of isolation of *E. coli* in the oviduct with the addition of barbatimão extract when compared to antibiotic treatment. The treatment with copaiba oleo resin showed higher frequency of isolation of *E. coli* in the oviduct than the other treatments. The use of copaiba oleo resin or barbatimão extract resulted in lower frequency of isolation of *Escherichia coli* in the shell, albumen and yolk samples, in relation to antibiotic treatment. The inclusion of copaiba oleo resin may be an alternative to antibiotics in laying hens commercial diets.

**Keywords:** Additives, *Copaífera*, phytochemicals, hens, *Stryphnodendron adstringens*.

## CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os aditivos melhoradores de desempenho são utilizados na produção animal desde a década de 50. Na avicultura, são adicionados à ração, com o intuito de alcançar melhores índices zootécnicos, como menor conversão alimentar, e evitar a ocorrência de doenças<sup>1</sup>, reduzindo agentes patogênicos nos processos digestivo das aves, principalmente em ambientes com maior desafio microbiano. Os melhoradores de desempenho mais difundidos na produção animal são os antibióticos e os quimioterápicos.

Apesar de todos os benefícios conferidos com o uso dos antibióticos, melhoria do desempenho zootécnico, alguns mercados consumidores, como é o caso da União Européia, baniram sua utilização na alimentação animal, sendo admitido apenas com finalidade curativa<sup>2</sup>. As autoridades de saúde pública européia acreditam que o emprego contínuo de antibióticos na ração dos animais contribui para agravar a epidemia da resistência de cepas bacterianas<sup>3, 4</sup>, e ainda, que a utilização dos antibióticos possa deixar resíduos nos produtos de origem animal destinados ao consumo humano.

Assim, seguindo uma tendência mundial, os órgãos ligados a saúde pública no Brasil estão atentos ao uso de aditivos melhoradores de desempenho na alimentação animal, sendo observada uma crescente preocupação com o uso dos antibióticos<sup>5</sup>. No Brasil, a proibição do uso aos antibióticos conta com duas Instruções Normativas do Ministério da Agricultura e da Pecuária (MAPA), a IN 65 e IN 04.

Diante de tais pressões, existe a necessidade de que possam substituir os antibióticos utilizados como melhoradores de desempenho na avicultura industrial. Segundo Huyghebaert et al.<sup>6</sup>, os produtos alternativos devem proporcionar o mesmo efeito benéfico verificados nos AMDs (Antimicrobianos Melhoradores do Desempenho).

Em geral, os substitutos aos antibióticos adotados atualmente são os ácidos orgânicos, próbióticos, prebióticos, simbióticos, entre outros. Produtos extraídos de plantas como os extratos e óleos essenciais, vêm sendo bastante pesquisados e tem demonstrado ser um promissor substituto aos antimicrobianos sintéticos<sup>7, 8</sup>.

Os extratos vegetais possuem certa vantagem em relação aos antimicrobianos tradicionais, pois estes possuem apenas um princípio ativo, enquanto os extratos vegetais possuem uma série de princípios ativos que podem apresentar efeitos sinérgicos benéficos na melhoria do desempenho animal.

A grande diversidade do Bioma Cerrado apresenta grande quantidade de plantas que merecem destaque, por possuírem elementos químicos que agem como antimicrobianos;

outras espécies possuem elementos químicos como taninos, glucanos e outros compostos cuja utilidade em saúde pública é bastante apreciada quando em sistemas de produção orgânica e sustentável, e, como tal, deve ser sempre incentivada<sup>9-13</sup>. Carneiro<sup>14</sup> faz referência a plantas encontradas na região dos Cerrados e que apresentam efeito terapêutico comprovado, como o Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), a Pacari (*Lafoensia pacari*), o Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), a Alfavacão (*Ocimum gratissimum*), a Sucupira Branca (*Pterodonemarginatus*), e a Copaíba (*Copaifera spp.*). Dentre esses, podemos destacar o Barbatimão e a Copaíba.

O Barbatimão, popularmente chamado de casca da virgindade, é uma árvore típica do Cerrado. O uso da casca tem efeito considerado antimicrobiano<sup>15</sup>, anti-inflamatório, anti-hemorragico, ajuda no combate a diarreias, cicatrizante, antisséptico, e pode ser utilizado ainda no tratamento de problemas circulatórios, dor de garganta e gastrointestinais.

A copaíba também apresenta propriedade anti-inflamatória<sup>16,17</sup> comprovada, além de possuir atividade antimicrobiana<sup>18,19</sup>, e ser um excelente cicatrizante<sup>20</sup>.

Na produção de ovos, assim como na produção de frangos de corte, os antimicrobianos sintéticos são utilizados com finalidade terapêutica e também como aditivo zootécnico. Porém, o uso indiscriminado desses antibióticos, tem contribuído para o aparecimento de linhagens resistentes de bactérias, ocasionando sérios problemas para a avicultura industrial e para a saúde pública<sup>21</sup>.

Diante do exposto, e a partir das pesquisas *in vitro*<sup>22,18</sup>, as quais comprovam a atividade antimicrobiana de produtos extraídos de plantas, como a copaíba e o barbatimão, com esta pesquisa, objetivou-se estudar o potencial desses bioprodutos como substitutos aos antibióticos.

### **1.1 Uso de aditivos fitogênicos na avicultura**

Desde a antiguidade as plantas são conhecidas por suas propriedades medicinais. Ao longo dos anos, modernas tecnologias foram criadas, proporcionando novos conhecimentos, como por exemplo, o isolamento sistemático e caracterização dos princípios ativos das plantas medicinais<sup>23</sup>.

As funções farmacológicas e terapêuticas das plantas estão associadas aos seus princípios ativos, que são substâncias produzidas e armazenadas durante o crescimento da planta e estão presentes em toda a planta ou em partes específicas<sup>24</sup>. Em geral, os princípios ativos são produzidos como mecanismo de defesa da planta a agressões externas, como variações climáticas, falta de água, falta de nutrientes, predadores e patógenos<sup>25</sup>.

As plantas desenvolvem uma série de metabólitos com funções complementares na defesa contra pragas e doenças, o que lhes atribuem a presença de vários princípios ativos. Os metabólitos primários são responsáveis pelas funções orgânicas, enquanto os secundários atuam na proteção da planta contra herbívoros, micro-organismos e efeitos externos ambientais.

A classificação dos princípios ativos é feita de acordo com suas propriedades químicas, físicas e biológicas. Os grupos mais conhecidos são os alcalóides (álcoois, aldeídos, cetonas, éteres e ésteres), glucosídeos, compostos fenólicos, saponinas, mucilagens, flavonóides, terpenóides (monoterpenos, sesquiterpenos, di e triterpenos), taninos e óleos essenciais<sup>17, 8</sup>. Diversos fatores afetam a composição dos princípios ativos nas plantas, como: estação do ano, tipo de solo e ciclo vegetativo<sup>26</sup>.

Os princípios ativos são os responsáveis pelo efeito principal exercido pelos extratos vegetais nos organismos, existe o efeito sinérgico entre metabólitos secundários e primários das plantas, sendo os metabólitos secundários potencializadores dos compostos primários<sup>7</sup>. Apesar das plantas possuírem vários metabólitos secundários, apenas os presentes em maior concentração são isolados e posteriormente estudados.

Algumas plantas produzem substâncias com propriedades antimicrobianas. No entanto, os produtos derivados de plantas precisam ter seus efeitos avaliados e confirmados, assim como deve ser garantida que sua administração a organismos vivos ocorra sem riscos para sua saúde<sup>27</sup>.

Extratos e óleos vegetais adicionadas na alimentação animal com o intuito de melhorar o desempenho zootécnico, são denominados fitogênicos, e ainda possuem conhecimento limitado em relação a seus mecanismos de ação e sua aplicação<sup>28</sup>.

O efeito benéfico de extratos vegetais tem sido comprovado na alimentação de animais monogástricos. O mecanismo mais importante pelo qual os extratos vegetais beneficiam o desempenho animal esta associado às modificações na microbiota intestinal por meio do controle de agentes patogênicos, sendo a capacidade digestiva melhorada no intestino delgado, relacionada ao efeito colateral indireto dos fitogênicos que causam a estabilização da população microbiana no trato gastrointestinal<sup>29</sup>. Para Brugalli<sup>30</sup>, os principais efeitos de extratos vegetais são a atividade antioxidante; o aumento da palatabilidade da ração; o estímulo da secreção de enzimas endógenas; a melhoria na digestibilidade e absorção de nutrientes; a modificação da microbiota intestinal; a modificação morfo-histológica do trato gastrintestinal e melhora na resposta imune; e a ajuda na redução de infecções subclínicas.

Para Toledo et al.<sup>31</sup>, além da função antibacteriana conferida aos extratos vegetais, a melhoria no desempenho animal ocorre devido ao aumento da palatabilidade da ração, estímulo das secreções digestivas, estímulo da produção de enzimas digestivas e pancreáticas, aumentando a digestibilidade e a absorção de nutrientes, além de ajudar na redução de infecções subclínicas.

Estudando os efeitos dos extratos vegetais em dieta de poedeiras, Bonato et al.<sup>32</sup>, incluíram diferentes níveis de acidificante e extrato vegetal (mistura inespecífica de óleos essenciais e extratos de plantas contendo saponina) na ração de poedeiras, isolados ou em combinação, e observaram que a associação de 400 g/ton da mistura de ácidos orgânicos e 150 g/ton de extrato vegetal melhorou o desempenho das aves. Resultados insatisfatórios sobre o desempenho e na qualidade de ovos foi observado por Pinheiro et al.<sup>33</sup>, que avaliando a inclusão de , 0, 5, 10, 15 e 20% de torta de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) em rações de poedeiras comerciais, verificaram a influência negativa de todos os níveis de inclusão sobre o desempenho produtivo e as qualidades sensoriais dos ovos.

Em estudo com frango de corte, Toledo et al.<sup>31</sup> incluíram na ração antibiótico e/ou fitoterápico à base de orégano (carvacrol), canela (cinamaldeído), eucalipto (cineol), artemísia (artemisinina) e trevo (trifolina) na ração e, não observaram nenhum efeito da inclusão de antibiótico ou de fitoterápico sobre o desempenho.

Com relação à qualidade de carne, estudo comprova que a adição de aditivos fitogênicos em dietas de frangos de corte contribui na estabilidade oxidativa da carne, observando-se que os fitogênicos inibem a oxidação lipídica de ácidos graxos insaturados. Avaliando a inclusão de alecrim e sálvia em 500 ppm em dietas de frangos de corte, Lopez-bote et al.<sup>34</sup> observaram que os extratos melhoraram a estabilidade oxidativa da carne de peito e de coxa.

Em estudos com a utilização de extratos vegetais na digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte, verificou-se melhora da metabolizabilidade dos nutrientes, e que pode ser influenciada pelos princípios ativos dos extratos vegetais, podendo ocorrer por meio de dois mecanismos: estimulando o fígado a aumentar a secreção da biliar; estimulação para maior produção e atividade das enzimas pancreáticas e do intestino delgado<sup>35</sup>. Com isso o processo digestivo é acelerado e pode diminuir no tempo de trânsito intestinal.

Hernández et al.<sup>36</sup> avaliaram a metabolizabilidade de nutrientes da dieta de frangos de corte alimentados com rações contendo mistura de óleos essenciais (capsaicina, cinamaldeído e carvacrol) ou de extratos vegetais (sálvia, tomilho e alecrim) e observaram melhora na metabolizabilidade aparente da matéria seca (MS) e do extrato etéreo (EE) e na

metabolizabilidade ileal de MS e de amido na fase inicial, e da proteína bruta (PB) na fase final.

Ao incluir aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos, isolados ou em combinação, na alimentação de frangos de corte, Fascina<sup>8</sup> verificou que os aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos melhoraram a metabolizabilidade dos nutrientes nas fases inicial e de crescimento, e que o uso de ácidos orgânicos, isoladamente ou associados aos aditivos fitogênicos, melhoraram o desempenho das aves aos 42 dias de idade.

Em relação à presença de microorganismos patogênicos, avaliando a atividade antimicrobiana de vários extratos vegetais frente a bactérias resistentes a antimicrobianos, Nascimento et al.<sup>37</sup> observaram que dentre os extratos testados, o cravo apresentou alto potencial antimicrobiano. Verificaram ainda que a associação dos extratos com antibióticos sobre bactérias que já apresentavam resistência ao antimicrobiano utilizado melhorou na inibição desses patógenos. Bona et al.<sup>38</sup> observaram que óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta vermelha na dose de 100 ppm teve potencial inibidor de crescimento sobre o gênero *Clostridium perfringens*, no conteúdo do ceco de aves.

Avaliando a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a amostras de *Salmonella entérica*, Santurio et al.<sup>39</sup> verificaram que o óleo essencial de orégano apresentou forte atividade antibacteriana, seguido do tomilho com atividade moderada, sendo verificado menor atividade antibacteriana no óleo essencial de canela.

Apesar de todos os efeitos benéficos de extratos vegetais em dietas de monogástricos, o seu uso requer cautela e a realização de mais testes, visto que assim como os antibióticos, o uso contínuo de extratos vegetais de forma incorreta poderá acarretar em resistência por parte de determinadas bactérias patogênicas<sup>25</sup>. Além disso, mais estudos devem ser realizados a fim de comprovar o modo de ação, a toxicidade e eficácia zootécnica de extratos vegetais, levando sempre em consideração estudos realizados anteriormente, principalmente quanto às dosagens utilizadas. É importante também que haja a padronização química dos extratos vegetais, garantindo a eficácia do produto<sup>40</sup>.

## 1.2 Copaíba

Popularmente conhecida como copaibeiras, pertencem a família das *Leguminosae* e ao gênero *Copaífera*. São amplamente encontradas nas regiões amazônica e Centro-Oeste do Brasil<sup>41</sup>. As *Copaífera sp.* em geral são árvores de grande porte, chegando a medir até 36

metros de altura, são conhecidas mais de 25 espécies sendo a maioria encontrada na América do Sul<sup>42</sup>.

A copaíba é adaptada a uma grande variedade de ambientes. Ocorre em florestas de terras firmes, terras alagadas, margens de lagos e igarapés da Bacia Amazônia e nas matas do Cerrado do Brasil Central<sup>43</sup>.

Os índios chamavam as *Copaífera sp.* de copaíba do tupi “cupa-yba”: a árvore de depósito, ou que tem jazida, em alusão clara ao óleo que guarda em seu interior<sup>41,44</sup>. Quando os portugueses chegaram ao Brasil, os índios usavam bastante o óleo da copaíba para a cicatrização e no umbigo de recém-nascidos para evitar o “mal-dos-sete-dias”. Há indícios de que a utilização do óleo de copaíba começou após a observação do comportamento de animais, que quando apresentavam alguma ferida, esfregavam-se nos troncos das árvores de copaíba<sup>42, 45</sup>.

Para Veiga Junior & Pinto<sup>47</sup>, o termo adequado a ser designado ao óleo de copaíba é óleo-resina, visto que ele é composto por uma fração de ácidos resinosos e de compostos voláteis. O óleo-resina de copaíba é extraído do caule das copaibeiras adultas<sup>41, 46</sup> tem aspecto transparente de viscosidade variável, cheiro forte e coloração variando do amarelo ao marrom<sup>41</sup>. Existem vários métodos de extração, no entanto o método mais utilizado é o uso do trado como ferramenta de perfuração do tronco.

No Brasil o óleo-resina de copaíba é muito utilizado na medicina popular, administrado oralmente, no uso tópico do óleo *in natura*, ou como pomadas<sup>47</sup>. O óleo-resina de copaíba possui propriedades farmacológicas com atividades confirmadas, dentre elas podemos citar, ação anti-inflamatória, cicatrizante e antibacteriana<sup>48-50</sup>, cicatrizante<sup>46, 51</sup>, analgésico<sup>50</sup>, etc. Sendo as propriedades anti-inflamatória conhecidas desde a colonização do Brasil.

A constituição do óleo-resina de copaíba é majoritariamente de hidrocarbonetos sesquiterpênicos<sup>47,52</sup>, sendo observado também a presença de diterpenos, em menor proporção. Os sesquiterpenos representam mais de 90% da composição do óleo de copaíba e, sendo atribuído a este composto as propriedades terapêuticas do óleo, ou seja, os sesquiterpenos são os princípios ativos do óleo.

Os sesquiterpenos frequentemente encontrados no óleo-resina de copaíba são,  $\beta$  – cariofileno, óxido de cariofileno,  $\alpha$  – humuleno,  $\delta$  – cadineno,  $\alpha$  - cadinol,  $\alpha$  - cubebene,  $\alpha$  e  $\beta$  - selineno,  $\beta$  - elemeno,  $\alpha$  - copaeno, trans -  $\alpha$  - bergamoteno e  $\beta$  –bisaboleno<sup>52</sup>, já os diterpenos são, os caurano, labdano e cleorodano<sup>53</sup>.

Apesar de o óleo-resina ser o mais estudado, existem estudos também com o óleo essencial, muito utilizado na indústria de perfumes como excelente fixador de odores<sup>46</sup>. O óleo-resina é a parte bruta do óleo, aquela coletada diretamente do tronco das copaibeiras, e o óleo essencial é a parte pura, obtida por meio de processos físicos (destilação a vapor d'água, extração por solventes, CO<sub>2</sub> supercrítico, prensagem, turbodestilação e hidrodestilação)<sup>31</sup>.

O efeito antimicrobiano é uma das características mais explorada dos óleos de copaíba, apresentando bom potencial inibitório<sup>52</sup>. Mendonça e Onofre (2009) avaliaram o efeito antimicrobiano *in vitro* do óleo-resina de copaíba (*Copaifera multijuga*) sobre bactérias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os autores observaram que o óleo-resina de copaíba apresentou capacidade inibitória sobre o crescimento dos três tipos de microorganismos estudados.

Pieri et al.<sup>54</sup> avaliando a capacidade inibitória do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) no crescimento dos microorganismos *Streptococcus mutans in vitro*, observaram que a atividade antimicrobiana do óleo interferiu no crescimento dos microorganismos em todas as concentrações testadas até 0,78 mL / mL de solução a 10% de óleo de copaíba.

Investigando *in vitro* o potencial antimicrobiano do óleo-resina da *Copaifera reticulata* sobre isolados de *Staphylococcus coagulase* positiva, oriundos de casos de otite externa em cães, Ziech et al.<sup>18</sup> observaram que óleo-resina teve efeito bacteriostático e bactericida até mesmo em cepas resistentes de *Staphylococcus*. A atividade antimicrobiana e inibitória do óleo de copaíba também foi observada por Pieri et al.<sup>55</sup>, em estudo *in vitro*, no qual o óleo de copaíba foi capaz de inibir a aderência de bactérias (*Streptococcus mutans*) formadoras de placa dental em cães.

Avaliando a inclusão do óleo-resina de copaíba na alimentação de poedeiras sobre a qualidade física, composição e colesterol total de ovos frescos oriundos de poedeiras alimentadas com rações contendo 0,03 e 0,06% de óleo-resina de copaíba, Ribeiro<sup>56</sup> não observou efeito dos níveis estudados sobre as variáveis estudadas.

Ao incluir 0,2, 0,4 e 0,6% de óleo-resina de copaíba, em dietas de frangos de corte desafiados ou não por *Escherichia coli*, Guidotti<sup>57</sup> verificou que os diferentes níveis não apresentaram efeito sobre o desempenho das aves até os 28 dias de idade, no entanto o nível de 0,2% apresentou efeito aditivo sobre a resposta imune humoral das aves. Alguns estudos relataram os efeitos do óleo essencial de copaíba sobre o desempenho de frangos de corte. Souza<sup>58</sup>, estudando a inclusão de 0,15; 0,30; 0,45 e 0,60% de óleo essencial de copaíba na dieta de frangos de corte, verificou que a inclusão de 0,15% do óleo resultou em aves com desempenho semelhante às aves submetidas ao tratamento contendo antibiótico, aos 21 dias

de idade. Aguilar et al.<sup>59</sup>, ao incluírem 0,15, 0,30, 0,45 e 0,60 mL/kg de óleo essencial de copaíba em dietas de frangos de corte, observaram que quando incluído em baixas concentrações (0,15mL/kg), o óleo essencial de copaíba demonstrou ser um promissor melhorador de desempenho.

### 1.3 Barbatimão

O Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) é uma árvore típica do Cerrado, que tem ampla distribuição geográfica, podendo ocorrer em vários Estados, desde o Pará, atravessando o Planalto Central, até o Norte do Paraná<sup>60</sup>. É bastante utilizado na medicina popular. O uso da casca tem efeito considerado anti-inflamatório, anti-hemorragico, ajuda no combate a diarreias, cicatrizante, antisséptico<sup>61</sup>, antimicrobiano<sup>62</sup> e ainda no tratamento de problemas circulatórios, dor de garganta e gastrointestinais.

As cascas da *Stryphnodendron adstringens* são espessas, e apresentam propriedades adstringentes<sup>20</sup> (taninos) permitindo que proteínas se precipitem, formando um revestimento protetor contra a multiplicação bacteriana, promovendo uma ação anti-séptica<sup>61</sup>.

O barbatimão possui como metabólitos secundários alcalóides, flavonóides, terpenos, estilbenos, esteróides, inibidores de proteases e taninos<sup>63-64</sup>, sendo os taninos os componentes majoritários.

Estudos relataram a grande variação nos teores de taninos presentes na casca, Texeira et al.<sup>64</sup> encontrou de 10-37%; Lima et al.<sup>65</sup> encontraram teores até 50% de taninos. De acordo com Texeira et al.<sup>64</sup>, a variação dos teores depende diretamente do local de coleta do material, bem como a parte da planta estudada. Santos et al.<sup>66</sup>, avaliando três espécies de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*, *Stryphnodendron polyphyllum* e *Dimorphandra mollis*), observaram diferença significativa na composição química entre os gêneros *Stryphnodendron* e *Dimorphandra*.

Os taninos vegetais são distribuídos em dois grupos: hidrolisáveis e condensados<sup>67, 68</sup>. Os taninos hidrolisáveis estão presentes em menor quantidade e dividem-se em galotaninos e elagitaninos, que produzem respectivamente ácido gálico e ácido elágico após hidrólise, com ação anti-inflamatória e antioxidante<sup>69</sup>.

Os taninos condensados ou proantocianidinas compõe a classe mais importante de taninos<sup>70</sup>, são estruturalmente complexos e resistentes à hidrólise, porém, dependendo da estrutura do tanino, pode ser possível sua solubilidade em solventes orgânicos aquosos<sup>69</sup>. As propriedades farmacológicas do barbatimão estão relacionadas com os teores de taninos condensados presente na planta<sup>56, 71</sup>.

Existem três propriedades inerentes dos taninos que são responsáveis pela maior parte das suas atividades farmacológica: complexação com íons metálicos (ferro, alumínio, cálcio, cobre, etc), necessários ao metabolismo microbiano<sup>72, 73</sup>; atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e habilidade de formar complexo com outras moléculas, como por exemplo, proteínas e polissacarídeos<sup>73</sup>.

Soares et al.<sup>74</sup>, em estudos com camundongos, verificaram a ação do extrato etanólico de *Stryphnodendron adstringens* e *Caryocar brasiliensis* (pequi) sobre a parasitemia do *Trypanosoma cruzi*, e observou uma redução no número de parasitos no sangue. Em estudo da atividade antimicrobiana do extrato de barbatimão *in vitro*, Pinho et al.<sup>75</sup> observaram que as folhas de barbatimão tiveram efeitos inibitórios sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus*.

Em pesquisa com o objetivo de verificar o efeito do extrato de barbatimão como substituto aos antibióticos, Santana<sup>76</sup> testou a inclusão de 200, 400 e 600mg/kg de extrato de barbatimão na ração de frangos, e observou que a inclusão da dose de 600 mg/kg resultou em um peso médio das aves semelhante ao das alimentadas com rações contendo antibiótico, até os 21 dias de idade. A conversão alimentar das aves suplementadas com 400 mg/kg foi melhor que os demais tratamentos testados (controle, MOS, Avilamicina, 200 e 600 mg/kg de barbatimão), até os 21 dias de idades.

Nogueira<sup>77</sup> utilizou 1,5 e 3,0 ppm de extrato de barbatimão em dietas de frangos de corte infectados por *Eimeria maxima*, e não observou efeitos significativos no desempenho das aves. No entanto, a inclusão do extrato demonstrou ser efetivo no controle da coccidiose aviária, pois a suplementação de 1,5 ppm promoveu a redução de eliminação de oocistos nas fezes, e a inclusão de 3,0 ppm promoveu a redução de escore de lesão.

O extrato de barbatimão, também foi estudado em dietas de poedeiras por Ribeiro<sup>56</sup>, que avaliou a inclusão de 0,01 e 0,03% de extrato barbatimão em dietas de poedeiras comerciais, na qualidade física e química de ovos frescos, e observou que a inclusão do extrato não influenciou as características físicas do ovo. No entanto, as características químicas foram influenciadas, sendo que o teor de colesterol total das aves alimentadas com dietas contendo extrato de barbatimão foram superiores aos das aves dos demais tratamentos (controle e pacari).

#### 1.4 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é uma enterobactéria Gram-negativa, anaeróbica facultativa, não produz esporos e está presente na microflora intestinal da maioria dos animais e dos seres humanos. Crescem em temperaturas de 18 a 44°C sendo 37°C é a temperatura ideal<sup>78</sup>.

Durante muitos anos a *Escherichia coli* foi considerada uma bactéria não patogênica, isso por agir na microbiota intestinal prevenindo a ação de outros microorganismos patogênicos. No entanto, clones de *Escherichia coli* têm adquirido fatores de virulência, permitindo ocasionar várias infecções em seres humanos e animais<sup>79, 80</sup>. As linhagens de *Escherichia coli* patogênicas para as aves são denominadas Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC)<sup>79</sup>. APEC é vista como uma das principais causadoras de morbidade e mortalidade de aves, contribuindo com perdas econômicas na indústria avícola<sup>81</sup>. A *Escherichia coli* está inserida no grupo de coliformes fecais, assim pode ocorrer contaminação fecal nos ovos comerciais, o que pode prejudicar a qualidade dos ovos e ocasionar prejuízos na indústria avícola<sup>82</sup>.

Em aves a *Escherichia coli* pode ocasionar sérias complicações extra-intestinais que se manifestam na forma de infecções sistêmicas (colibacilose)<sup>83</sup>. As infecções ocasionadas pela presença da *Escherichia coli* têm resultado em grandes perdas econômicas na avicultura industrial. A frequência de colibacilose, bem como os prejuízos ocasionados pela sua presença na avicultura, tem incentivado estudos no intuito de investigar como a infecção se dá e seu agente etiológico<sup>83</sup>.

A colibacilose afeta aves jovens (4-9 semanas) e adultas, no entanto as primeiras são mais sensíveis a problemas respiratórios, e já nas segundas estão relacionadas a quadros de salpingites (infecção do oviduto) e infecções sistêmicas<sup>79</sup>. A contaminação por *Escherichia coli* em ovos não resulta em nenhuma característica visível, mas a bactéria se multiplica rapidamente por razão da alta concentração de nutrientes no ovo e das temperaturas ambientais favoráveis<sup>84</sup>. No entanto, a *Escherichia coli* é uma enterobactéria e possui atividade proteolítica capaz de destruir algumas estruturas da casca do ovo, o que acarretaria em maior risco de contaminação por outras bactérias, que poderia provocar a deterioração do ovo.

Além disso, os alimentos devem ser livres de patógenos e suas toxinas, tendo em vista que sua presença pode acarretar problemas à saúde humana. A ausência de patógenos nos alimentos é considerada uma exigência primária, garantindo que os alimentos não sejam vias de transmissão de enfermidades aos consumidores.

Outro fator importante ligado a resistência aos antimicrobianos, é a pouca disponibilidade de antimicrobianos para o tratamento de infecções ocasionadas por *Escherichia coli* disponíveis no mercado, o que contribui de maneira significativa para altos níveis de resistência<sup>85</sup>.

Assim, considerando as propriedades antimicrobiana do extrato de barbatimão e do óleo-resina de copaíba, realizou-se este estudo, para avaliar os efeitos da inclusão de óleo-resina de copaíba ou extrato de barbatimão em rações para poedeiras comerciais desafiadas com *Escherichia coli*, sobre o desempenho zootécnico, qualidade externa e interna de ovos e ocorrência de *Escherichia coli* em ovos, folículos ovarianos e oviduto.

## REFERÊNCIAS

1. Silva CR. Uso de probiótico em rações de frangos de corte: desempenho, digestibilidade energia metabolizável [Dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2008. [acesso 12 mai 2013]. Disponível em: [http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde\\_arquivos/2/TDE-2008-07-21T080840Z-1235/Publico/texto%20completo.pdf](http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_arquivos/2/TDE-2008-07-21T080840Z-1235/Publico/texto%20completo.pdf)
2. Castanon JIR. History of the use of antibiotic as growth promoters in european poultry feeds. *Poult Sci.* 2007; 86:2466-71.
3. Bellaver C. O uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. Congresso Mercosul de Producción Porcina; 2000; Buenos Aires, Argentina. [acesso: 2 de mai de 2013] Disponível em: [http://www.cnpsa.embrapa.br/abrades-sc/pdf/Memorias2000/6\\_Bellaver.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/abrades-sc/pdf/Memorias2000/6_Bellaver.pdf).
4. Oba, A., Pinheiro, J. W., Fabre, J. E. D., Borges, C. A. A., Ueno, F. Y., Silva, C. R. B., et al. Utilização de fitoterápicos na substituição de promotores de crescimento antibióticos em frangos de corte. In: *Zootec.* 2007, Londrina-PR. *Zootec.* 2007
5. Miltemburg G. Promotores e aditivos de crescimento em Avicultura. Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas: Anais...; 2000; Campinas. Campinas: FACTA; 2000. p. 204-15.
6. Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Vet J.* 2011; 187(2):182-8.
7. Kamel C. A novel look at a classic approach of plant extracts. *Feed Mix.* 2000;9(6):19-24.
8. Fascina VB. Aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos em dietas de frangos de corte [Tese]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2011.
9. Fenner R, Betti AH, Mentz LA, Rates SMK. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Rev Farm Bioquim Univ Sao Paulo.* 2006; 42(3):369-94.
10. Galdino PM, Honorio TCD, Paula MA, Matos LG, Paula JR, Costa EA. Espécies vegetais do Cerrado, avaliadas no Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais – ICB/UFG, quanto ao potencial neurofarmacológico de seus extratos. XV Semana Científica Farmacêutica: Anais...; 2007; Goiânia, Brasil. [acesso 20 mai 2013]. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/view/2764/2818>.
11. Telles VP. Manejo Tradicional No Cerrado Resumos do II Congresso Brasileiro de Agroecologia. *Rev Bras Agroecol* [online] 2007; 2(1):1704-7 [citado 15 mai 2013]. Disponível em: <http://www.aba-agroecologia.org.br/ojs2/index.php?journal=rbragroecologia&page=article&op=viewFile&path%5B%5D=6639&path%5B%5D=4944>. ISSN: 1980-9735

12. Mello JCP. Utilização de plantas da biodiversidade brasileira contendo taninos. 2008. [acesso 15 mai 2013] Disponível em: <http://cniia.inta.gov.ar/helminto/Congreso%20Brasil%202008/UTILIZA%C3%87%C3%83O%20DE%20PLANTAS%20DA%20BIODIVERSIDADE%20BRASILEIRA%20CONTENDO%20TANINOS.pdf>.
13. Oliveira DL, Rocha C. Alternativas sustentáveis para a merenda escolar com o uso de plantas do Cerrado, promovendo educação ambiental. Revista Eletrônica Mestrado em Educação Ambiental. 2008; 21:35-53 [citado 28 jun 2014]. Disponível em: <http://www.seer.furg.br/remea/article/view/3035>.
14. Carneiro MRB. A flora medicinal no Centro Oeste do Brasil: um estudo de caso com abordagem etnobotânica em campo limpo de Goiás [Dissertação]. Anapólis: UniEVANGÉLICA; 2009.
15. Benvindo SF, Palmeira JD, Souza JH, Almeida JM, Figueiredo MCP, Pequeno AS, et al. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcoólico de *Stryphnodendron adstringens*(Mart) Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. Rev bras anal clin. 2010; 42(1):27-31.
16. Cavalini MFGP, Resener MC, Alexandre RF, Zannin M, Simões CMO. Serviço de informações sobre plantas medicinais e Medicamentos fitoterápicos. Extensio - Revista Eletrônica de Extensão. 2005; 2(2):1-11.
17. Martins ER, Castro DM, Castellani DC, et al. Plantas medicinais. Viçosa (MG): Editora UFV; 2000.
18. Ziech RE, et al. Atividade antimicrobiana fazer óleo-resina de copaíba ( *Copaifera reticulata* ) frente a *Staphylococcus coagulase positiva* Isolados de casos de otite em cães . Pesq Vet Bras [online]. 2013; 33(7):909-13 [citado 04 mar 2014]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000700011>. ISSN 0100-736X
19. Braga MD, Silva CCM. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Copaifera langsdorff* Desf. Sobre *Staphylococcus aureus*. Rev Unim Cient. 2007; 9(1):91-7.
20. Eurides D, Mazzanti A, Gonçalves GF, Belleti ME, Silva LAF, Fioravanti MCS, et al. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba ( *Copaifera langsdorffii* ). Veterinária Notícias. 1998;4:77-82.
21. Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J. Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. J. Clin. Microbiol. 1997; 35:2184-5.
22. Bardal D. Atividade antimicrobiana de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville em agentes causadores da mastite [Dissertação]. Montes Claros : Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais; 2011.
23. Costa LB, TSE MLP, Miyada VS. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. R Bras Zootec [online]. 2007; 36(3):589-95. [citado 4 jun 2013]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982007000300011>. ISSN 1806-9290

24. Almeida E. Aditivos digestivos e equilibradores da microbiota intestinal para frangos de corte [Dissertação]. Diamantina: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; 2012.
25. Hauptli L. Extratos Vegetais para Porcas e Leitoas na Creche [Dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2006.
26. Faleiro ML, Miguel MG, Ladeiro F, Venancio F, Tavares R, Brito JC, et al. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of Thymus. *Lett Appl Microbiol*. 2003; 36(1):35-40.
27. Camurça-Vasconcelos ALF, Morais SM, Santos LFL, Rocha MFG, Bevilaqua CML. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. *Rev Bras Pl Med* [online]. 2005; 7(3):97106 [citado 12 set 2014]. Disponível em: [http://www.sbpmed.org.br/download/issn\\_05\\_3/artigo\\_revisao2.pdf](http://www.sbpmed.org.br/download/issn_05_3/artigo_revisao2.pdf). ISSN: 1516-0572
28. Windisch WM, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J Anim Sci*. 2008; 86:140-8.
29. Hashemi SR, Davoodi H. Herbal Plants as New Immuno-stimulator in Poultry Industry. *Asian Vet J Anim Adv* [online]. 2011;7:105-16 [cited 2013 mai 7]. Available from: <http://scialert.net/qredirect.php?doi=ajava.2012.105.116&linkid=pdf>. ISSN: 1996-3289
30. Brugalli I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos: Anais...; 2003; Campinas. Campinas: CBNA; 2003. p.167-82.
31. Toledo GSP, Costa PTC, Silva LP, Pinto D, Ferreira P, Poletto CJ. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. *Ciênc Rural* [online]. 2007; 37(6):1760-4 [citado 03 mar 2015]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000600040>. ISSN: 103-8478
32. Bonato MA, Sakomura NK, Piva GH, et al. Efeito de acidificantes e extratos vegetais sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais. *Ars Veterinária* [online]. 2008; 24(3):186-92 [citado 15 set 2014]. Disponível em: <http://www.arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/198>. ISSN: 2175-0106
33. Pinheiro JW, Fonseca NAN, Bridi AM, Silva CA, Oba A, Medeiros LG, et al. Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais leves submetidas a dietas contendo torta de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*). *Semina: Ciências Agrárias* [online]. 2012; 33(4):1555-64 [citado 8 fev 2015]. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/6024>. ISSN: 1676-546X. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n4p1555>
34. Lopez-Bote CJ, Gray JI, Gomaa EA, Flegal CJ. Effects of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *Br Poult Sci*. 1998; 39(2):235-40.
35. Platel K, Srinivasa NK. Stimulatory influence of select spices on bile secretion in rats. *Nutr Res*. 2000; 20(10):1493-503.

36. Hernández F, Madrid J, García V, Orengo J, Megías MD. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult Sci.* 2004; 83(2):169-74.
37. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extract and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Braz J Microbiol.* 2000; 31(4): 247-56.
38. Bona TDMM, Pickler L, Miglino LB, Kuritza LN, Vasconcelos SP, Santin E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. *Pesqui Vet Bras.* 2012; 32(5):411-8.
39. Santurio DF, Costa MM, Maboni G, Cavalheiro CP, Sá MF, Pozzo MD, et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escheria coli* isoladas de aves e bovinos. *Ciênc Rural.* 2011; 41(6):1051-6.
40. He JLJ, Li J, Zhang JH, Sun XM, Zeng CM. Dual effects of Ginkgo biloba leaf extract on human red blood cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2008; 104(2):138-44.
41. Biavatti MW, Dossin D, Deschamps FC, Lima MP. Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. *Rev Bras Farmacogn [online].* 2006; 16(2):230-5 [citado 15 jun 2014]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2006000200017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2006000200017). ISSN: 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2006000200017>
42. Mendonça DE, Onofre SB. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba – *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). *Rev Bras Farmacogn [online].* 2009; 19(2b):577-81 [citado 15 jun 2014]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2009000400012](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000400012). ISSN: 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400012>
43. Embrapa. *Copaíba: Ecologia e Produção de óleo-resina*. Rio Branco, AC. Centro de Pesquisa Agroflorestal do Acre, 2004. [Acesso em: 20 mai. 2013]. Disponível em: [www.cpafac.embrapa.br/pdf/doc91.pdf](http://www.cpafac.embrapa.br/pdf/doc91.pdf).
44. Braggio MM. *Plantas medicinais: noções básicas e aplicação na agropecuária*. Biol. 2003; 65(1/2):45-6.
45. Pinto AC, et al. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. *Quim Nova [online].* 2002; 25(1):45-61 [citado 02 mai 2013]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422002000800009&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422002000800009&script=sci_abstract&tlng=pt). ISSN: 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>
46. Veiga Junior VF, Pinto AC. O gênero *Copaifera* L. *Quim Nova [online].* 2002; 25(2): 273-86 [citado 02 mai 2013]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422002000200016&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422002000200016&script=sci_arttext). ISSN: 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000200016>
47. Veiga Junior VF, Patitucci ML, Pinto AC. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. *Quim Nova [online].* 1997; 20(6): 612-5 [citado 02 mai 2013]. Disponível em:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40421997000600007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421997000600007).  
ISSN: 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421997000600007>

48. Montes LV, Broseghini LP, Andreatta FS, Sant'anna ES, Neves VM, Silva AG. Evidências para o uso da óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. *Natureza online* [online]. 2009 [cited 2013 Dec 05]; 7(2):61-7. Available from:  
[http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/02\\_MontesLVetal\\_6167.pdf](http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/02_MontesLVetal_6167.pdf).  
ISSN 1806-7409
49. Cascon V, Gilbert B. Characterization of the chemical composition of oleo resins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. *Phytochemistry*. 2000; 55(7):773-8.
50. Pinto AC, Braga WF, Rezende CM, Garrido FMS, Veiga Júnior VF, Bergyer L, et al. Separation of acid diterpenes of *Copaifera cearensis* Huber ex Duke by flash chromatography using potassium hydroxide impregnated silica gel. *J Braz Chem Soc*. [online]. 2000 Jul [cited 2013 Jun 16]; 11(4): 355-60. Available from:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-50532000000400005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532000000400005).  
ISSN 0103-5053
51. Masson DS. Atividade cicatrizante e antimicrobiana do óleo-resina de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) em úlceras cutâneas [Tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo; 2011. [Acesso em: 08 out 2014]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17138/tde-12062012-133912/pt-br.php>.
52. Leandro LM, Vargas FS, Barbosa PCS, Neves JKO, Silva JA, Veiga-Junior VF. Chemistry and biological activities of terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) oleo resins. *Molecules* [Internet]. 2012; 17(4):3866-89 [cited 2014 Feb 02]. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/17/4/3866>. ISSN: 1420-3049. doi: [10.3390/molecules17043866](https://doi.org/10.3390/molecules17043866)
53. Castejon FV. Adição de óleos de copaíba (*copaiferasp.*) e sucupira (*pterodonsp.*) a rações de frangos de corte [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás. Goiânia; 2013. [acesso 18 mar 2015]. Disponível em: [http://bdtd.ufg.br/tesesimplificado/tde\\_arquivos/5/TDE-2013-07-05T195148Z-2821/Publico/adicao%20de%20oleos%20de%20copaiba%20copaifera%20sp.pdf](http://bdtd.ufg.br/tesesimplificado/tde_arquivos/5/TDE-2013-07-05T195148Z-2821/Publico/adicao%20de%20oleos%20de%20copaiba%20copaifera%20sp.pdf)
54. Pieri FA, Silva VO, Souza CF, Costa JCM, Santos LF, Moreira MAS. Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. *Arq Bras Med Vet Zootec* [Internet]. 2012; 64(1):241-4 [cited 2014 sept 12]. Available from:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352012000100037](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352012000100037).  
ISSN: 0102-0935. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352012000100037>
55. Pieri FA, José RM, Galvão NN, Nero LA, Moreira MAS. A atividade antimicrobiana do óleo de copaíba autoclavado e não autoclavado sobre *Listeria monocytogenes*. *Ciênc Rural* [online]. 2010; 40 (8):1797-801 [acesso 22 abr 2014]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782010000800020&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782010000800020&script=sci_arttext).  
ISSN: 0103-8478. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010000800020>.

56. Ribeiro LMCS. Qualidade física, composição e análise de colesterol total de ovos frescos de aves alimentadas com dietas contendo antioxidantes naturais [TCC]. Brasília:Universidade de Brasília; 2013.
57. Guidotti M. O efeito do óleo-resina de copaíba sobre o desempenho e imunidade de frangos desafiados com *Escherichia coli* patogênica [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2013.
58. Souza VP. Uso de óleo essencial de copaíba sobre o desempenho produtivo de frangos de corte [Dissertação]. Belém: Universidade Federal do Pará; 2010.
59. Aguilar CAL, Lima KRS, Manno MC, Tavares FB, Souza VP, Fernandes Neto DLF. Effect of copaíba essential oil on broiler chickens' performance. *Acta Scientiarum Animal Sciences* [Internet]. 2013; 35(2): 145-51 [cited 2014 jun 22]. Available from: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/15376>. ISSN: 1806-2636. doi: 10.4025/actascianimsci.v35i2.15376
60. Borges Filho HC, Felfili JM. Avaliação dos níveis de extrativismo da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (mart.) Coville] no Distrito Federal, Brasil. *R Árvore* [online]. 2003; 27(5):735-45 [citado 08 ago 2014]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622003000500016](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622003000500016). ISSN: 0100-6762. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622003000500016>
61. Costa AF. *Farmacognosia*. 3ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian; 1986
62. Souza TM, Severi JÁ, Silva VYA, Santos E, Pietro RCLR. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 2007; 28(2):221-26.
63. Silva MR, Silva MAAP. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. *Rev Nutr* [online]. 1999;12(1):5-19 [citado 06 jan 2015]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rn/v12n1/v12n1a02>. ISSN: 1415-5273. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52731999000100002>
64. Teixeira ML, Soares AR, Scolforo JRS. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* Mart. Coville) em 10 locais de Minas Gerais. *Cienc Prat.* 1990; 14:229-32.
65. Lima CRO, Souza LA, Helou JB, Silva J, Caetano LB. Caracterização dos metabólitos secundários do barbatimão. In: Silva LAF, Eurides D, Paula JR, Lima CRO, Moura MI. *Manual do barbatimão*. Goiânia: Kelps, 2010. p. 61-68.
66. Santos SC, Costa WF, Ribeiro JP, Guimarães DO, Ferri PH, Ferreira HD, et al. Tannin composition of barbatimão species. *Fitoterapia*. 2002; 73: 292-9. doi: 10.1016 / S0367-326X (02) 00081-3.
67. Soares SP, Vinholisa AHC, Casemiroa LA, Silva MLA, Cunha WR, Martins CHG. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcolico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. *Rev Odonto Cienc.* 2008; 23(2):141-4.
68. Queiroz CRAA, Morais SAL, Nascimento EA. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). *Rev Árvore* [online]. 2002; 26:485-92 [citado 24 fev

- 2015]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622002000400011](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622002000400011). ISSN: 0100-6762. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622002000400011>
69. Couto LC, Fortin Y, Doucet J, Riedl B, Couto L. Efeito da temperatura de extração no rendimento e no teor de taninos condensados da casca de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. Rev Árvore. 1999; 23(3):333-9.
  70. Moreira JS. Extratos de barbatimão (*stryphnodendron adstringens*) e pacari (*lafoensia pacari*) em rações de poedeiras comerciais [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2014.
  71. Fonseca P, Librandi APL. Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*). Rev Bras Cienc Farm [online]. 2008; 44(2):271-7 [citado 05 nov 2014]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-93322008000200012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322008000200012&lng=en&nrm=iso). ISSN: 1516-9332. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322008000200012>.
  72. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry. 1991; 30(12):3875-83. DOI: 10.1016/0031-9422(91)83426-L
  73. Haslam E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. J Nat Prod, Sheffield. 1996; 59(2):205-20. ISSN: 1520-6025
  74. Herzog-Soares JD, Alves RK, Isac E, Bezerra JCB, Gomes MH, Santos SC, et al. Atividade tripanocida in vivo de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão verdadeiro e *Carocar brasiliensis* (pequi). Rev Bras Farmacog. 2002; 2:1010.
  75. Pinho L, Souza PNS, Macedo Sobrinho E, Almeida AC, Martins ER. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. Ciênc Rural. 2011; 42(2):326-31. ISSN 0103-8478
  76. Santana RO. Extratos brutos de barbatimão e pacari na dieta como melhoradores de desempenho para frangos de corte. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2013.
  77. Nogueira FA. Efeito do barbatimão verdadeiro (*Stryphnodendron adstringens* mart.) coville, na dieta de frango de corte [Dissertação]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”; 2013.
  78. Ferreira AJP, Knöbl T. Colibacilose Aviária. In: Berchieri junior A, Macari M, editores. Doença das aves. Campinas: Facta; 2000. p.197-207
  79. Ferreira AJP, Knöbl T. Colibacilose Aviária. In: Berchieri junior A, Macari M, editores. Doença das aves. Campinas: Facta; 2000. p.197-207
  80. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat. Ver., Microbiol. 2004; 2:123-140.

81. Knöbl T, Gomes TAT, Vieira MAM, Bottino JA, Ferreira AJPF. Detection of pap, sfa, afa and fimadhesin-encoding operons in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Appl Res Vet Med*. 2004; 2(2):135-41.
82. Cardoso ALSP, Tessari ENC, Castro AGM, Kanashiro AMI, Gama NMSQ. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de Descalvado. *Arq Inst Biol (São Paulo)*. 2001; 68(1):19-22. ISSN: 1808-1657
83. Barbieri NL. Resistência a antibióticos, prevalência dos fatores associados à virulência, tipagem filogenética e perfil filogenético de isolados de *Escherichia coli* patogênica aviária (APEC). [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia; 2010.
84. Soares NM, Mesa DA. Manejo da água na produção de ovos. 2009 [hipertexto]. São Paulo: Infobibos, 2009. [acesso em: 12 mar 2014] Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_3/ovos/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/ovos/index.htm).
85. Singer RS, Hofracl CL. Potencial impacts of antibiotic use in poultry production. *Avian Diseases*. 2006; 50:161-72.

## CAPITULO 2. DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO DE BARBATIMÃO OU ÓLEO DE COPAÍBA E DESAFIADAS COM *Escherichia coli*

**RESUMO:** Objetivou-se com este estudo avaliar a adição do óleo-resina de copaíba ou extrato de Barbatimão como antimicrobiano na ração de poedeiras comerciais contaminadas com *Escherichia coli*. Foram utilizadas 200 poedeiras comerciais da linhagem Isa Brow (64 a 76 semanas de idade) sendo todas as aves inoculadas via intravaginal com 0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,85% contendo  $8,8 \times 10^9$  UFC/mL de *Escherichia coli*. O delineamento foi em blocos ao acaso (sendo o peso das aves bloqueado), com quatro tratamentos e cinco repetições de 10 aves. Os tratamentos foram: ração basal sem aditivos (controle); ração basal + 30 mg/kg de antibiótico (halquinol); ração basal + 30 mg/kg de óleo-resina de copaíba e ração basal + 40 mg/kg de barbatimão. O experimento teve duração de três períodos de 28 dias, sendo avaliado desempenho e qualidade externa e interna de ovos. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias, quando necessário, comparadas pelo teste de Tukey (5%). A conversão alimentar piorou com a inclusão de 40mg/kg do extrato de barbatimão em relação ao tratamento controle, embora tenha sido semelhante ao tratamento com antibiótico. A adição do extrato de barbatimão na ração prejudicou a produção de ovos em relação ao tratamento com antibiótico. A adição de 30 mg/kg de ração, do óleo-resina de copaíba não influenciou no desempenho produtivo. A utilização do extrato de barbatimão proporcionou ovos mais pesados em relação ao tratamento com antibiótico, no entanto, apresentou pior espessura de casca e qualidade interna (UH) que o tratamento controle. A adição do óleo-resina de copaíba resultou em melhor peso de ovo, porcentagem de albúmen e índice de gema em relação ao tratamento com antibiótico. No entanto, a inclusão do óleo-resina de copaíba resultou em porcentagem de gema inferior em relação ao tratamento com antibiótico. É recomendada a inclusão do óleo-resina de copaíba em rações de poedeiras comerciais, em substituição aos aditivos melhoradores de desempenho.

**Palavras-chave:** Aditivos, *Copaífera*, desempenho, poedeiras comerciais, qualidade de ovos, *Stryphnodendron adstringens*

## CHAPTER 2. PERFORMANCE AND EGG QUALITY OF LAYING HENS FED DIETS CONTAINING BARBATIMÃO EXTRACT AND COPAIBA OIL AND CHALLENGED WITH *Escherichia coli*

**ABSTRACT:** It was aimed to evaluate the addition of copaiba oleo resin or barbatimão extract as antimicrobial in the diet of laying hens infected with *Escherichia coli*. A total of 200 Isa Brown commercial laying hens (64-76 weeks old) were intravaginally inoculated with 0.5 ml of 0.85% sterile saline solution containing  $8.8 \times 10^9$  CFU / mL of *Escherichia coli*. It was adopted a randomized block design (birds weight used as block criteria), with four treatments and five replicates of 10 birds. The treatments consisted of: basal diet without additives (control); basal diet + 30 mg / kg of antibiotic (halquinol); basal diet + 30 mg / kg of copaiba oleo resin and basal diet + 40 mg / kg barbatimão extract. The experiment lasted three periods of 28 days, in order to evaluate performance and external and internal egg quality. Data were subjected to analysis of variance and means, when necessary, were compared by Tukey test (5%). Feed conversion decreased with the addition of 40 mg / kg of barbatimão extract compared to the control treatment, although it was similar to antibiotic treatment. The addition of barbatimão extract in the diet decreased egg production, when compared to antibiotic treatment. The addition of 30 mg / kg diet of copaiba oleo resin had no effect on growth performance. The use of barbatimão extract lead to production of heavier eggs, in relation to antibiotic treatment, however, they presented lower shell thickness and a worse internal quality (UH) than the control diet. The addition of copaiba oleo resin resulted in improved egg weight, albumen percentage and yolk index, in relation to antibiotic treatment. However, the inclusion of copaiba oil resin resulted in a lower yolk percentage, when compared to antibiotic treatment. The inclusion of copaiba oleo resin in the diet of laying hens, in order to replace performance enhancing additives, is recommended.

**Keywords:** Additives, *Copaífera*, egg quality, laying hens, performance, *Stryphnodendronadstringens*.

## 2.1 Introdução

O uso de aditivos melhoradores de desempenho na produção animal é realizado desde a década de 50 com objetivo de alcançar melhores índices zootécnicos, acelerar o crescimento e com finalidade terapêutica no tratamento de infecções<sup>1</sup>.

No entanto, as restrições ao uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho (AMD) vêm ocorrendo de maneira crescente, visto que o uso contínuo ou dosagens subterapêuticas pode ocasionar resistência de cepas bacterianas. Assim, impulsionados por essa problemática, pesquisadores se empenharam em encontrar substitutos ao uso dos antibióticos melhoradores de desempenho. De acordo com Huyghebaert et al.<sup>2</sup>, os substitutos devem proporcionar o mesmo efeito benéfico dos aditivos melhoradores de desempenho.

Produtos extraídos de plantas (extratos vegetais e óleos) têm sido estudados e demonstram serem promissores substitutos aos aditivos sintéticos. O uso dos extratos resulta em melhora da digestibilidade e absorção de nutrientes, na propriedade antisséptica, na atividade antioxidante, e na melhora da resposta imunológica<sup>3</sup>.

O Cerrado brasileiro é rico em variedades de plantas com propriedades farmacológicas, e isso se deve a presença de compostos químicos, taninos, terpenos, glucanos e outros compostos, que agem como antimicrobianos. Dentre essas plantas podemos destacar a copaíba e o barbatimão.

A copaíba (*Copaifera sp*) possui propriedades farmacológicas, com ação anti-inflamatória, cicatrizante e antibacteriana<sup>4,5,6</sup>, analgésico<sup>6</sup>, entre outras.

O óleo-resina de copaíba é constituído majoritariamente de hidrocarbonetos sesquiterpênicos, sendo observada também a presença de diterpenos. No entanto, os sesquiterpenos representam 90% da composição do óleo e a eles são atribuídos as propriedades terapêuticas do óleo. Os sesquiterpenos frequentemente encontrados no óleo-resina de copaíba são,  $\beta$ -cariofileno, óxido de cariofileno,  $\alpha$ -humuleno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -cadinol,  $\alpha$ -cubebene,  $\alpha$  e  $\beta$ -selineno,  $\beta$ -elemeno,  $\alpha$ -copaeno, trans- $\alpha$ -bergamoteno e  $\beta$ -bisaboleno<sup>7</sup>.

Avaliando a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo-resina de copaíba (*Copaifera multijuga*) sobre bactérias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, Mendonça & Onofre<sup>8</sup> observaram que o óleo-resina de copaíba teve capacidade inibitória sobre o crescimento dos três tipos de microorganismos estudados.

O barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) possui propriedades adstringentes e medicamentosas, sendo considerado como anti-inflamatório, anti-hemorragico, ajuda no combate a diarreias, cicatrizante, antisséptico<sup>9</sup>, e ainda no tratamento de problemas

circulatórios, dor de garganta e gastrointestinais, e essas propriedades são atribuídas a presença dos metabólitos secundários do barbatimão, alcalóides, flavonóides, terpenos, estilbenos, esteróides, inibidores de proteases e taninos<sup>10-12</sup>, sendo os taninos os componentes majoritários.

As propriedades farmacológicas do barbatimão estão relacionadas com os teores de taninos condensados presente na planta<sup>13, 14</sup>. Os taninos possuem a capacidade de se complexar com íons metálicos, como ferro, alumínio, cálcio e cobre, necessários ao metabolismo microbiano<sup>15, 16</sup>; atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e habilidade de formar complexo com outras moléculas, como por exemplo, proteínas e polissacarídeos<sup>16</sup>.

Soares et al.<sup>17</sup> testaram a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato hidroalcoólico de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei*. Os autores verificaram que o extrato teve capacidade inibitória frente às cepas de *Streptococcus mitis* e *Lactobacillus casei*, e Concentração Inibitória Mínima variando de 350 a >400 µg/mL.

Diante do exposto, é possível que a capacidade do óleo-resina de copaíba (*Copaifera sp.*) e do extrato de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) sejam prováveis substitutos aos antimicrobianos melhoradores de desempenho (AMD) na produção de aves. Assim, objetivou-se com a realização desse trabalho elucidar os efeitos da inclusão do óleo-resina de copaíba e do extrato de barbatimão no desempenho e na qualidade de ovos de poedeiras comerciais desafiadas com *Escherichia coli*.

## **2.2 Material e métodos**

### **2.2.1 Local de realização do experimento**

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Todos os procedimentos nesse estudo foram realizados em acordo com Protocolo Registro CEUA/UFG 52/14 pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Goiás.

### 2.2.2 Alojamento das aves

As aves foram alojadas em galpão de postura de alvenaria, coberto com telhas de barro e telado nas laterais. Permanecendo aos pares em gaiolas de arame galvanizado de dimensões 25x40x45cm e equipadas com comedouro lineares de alumínio e bebedouro tipo “nipple”.

### 2.2.3 Delineamento experimental

Foram utilizadas 200 poedeiras comerciais da linhagem Isa Brown com 64 semanas de idade e produção de 85%, distribuídas em delineamento em blocos ao acaso (sendo todas as aves pesadas e separadas em: B1 – aves de 1,776-2,077 kg; B2 – Aves de 1,474-1,775 kg), com quatro tratamentos e cinco repetições de dez aves cada. Todas as aves foram desafiadas com *Escherichia coli*.

Foram estudados quatro tratamentos, sendo um controle negativo, ou seja, aves desafiadas com *Escherichia coli* e alimentadas com dietas sem aditivos (antibiótico, copaíba ou barbatimão); aves desafiadas com *Escherichia coli* e alimentadas com rações contendo 30mg/kg de antibiótico (halquinol); aves desafiadas com *Escherichia coli* e alimentadas com rações contendo 30mg/kg de óleo-resina de copaíba; e aves desafiadas com *Escherichia coli* e alimentadas com rações contendo 40 mg/kg de extrato concentrado de barbatimão.

O óleo-resina de copaíba foi adquirido de uma empresa comercial. O extrato concentrado de barbatimão foi preparado e analisado no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia – UFG. Foi realizado o doseamento de taninos do extrato concentrado de barbatimão e doseamento dos teores de  $\beta$ -cariofileno do óleo bruto de copaíba por meio do método de cromatografia líquida, validada pelo Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais (LPPN), demonstrando um teor de 0,433mg/mL de taninos totais do extrato concentrado de barbatimão e 213,1mg/mL de  $\beta$ -cariofileno do óleo de copaíba.

As rações experimentais utilizadas foram fareladas, isonutritivas e a base de milho e farelo de soja, formuladas de acordo com a composição dos nutrientes dos alimentos e das exigências propostas pelas tabelas brasileiras para aves e suínos<sup>18</sup> (Tabela 1). O halquinol, o óleo-resina de copaíba, e o extrato de barbatimão foram adicionados na ração basal em substituição ao amido. Para realizar a melhor homogeneização o óleo de copaíba foi inicialmente misturado ao óleo de soja e depois adicionado na mistura. O extrato concentrado de barbatimão foi adicionado primeiramente na mistura dos micronutrientes e depois à ração.

O demarcar do experimento foi de 99 dias, sendo 15 dias de adaptação das aves às condições experimentais, e 84 dias divididos em três períodos de 28 dias cada. Ao final de

cada ciclo foram determinadas as variáveis de desempenho zootécnico e qualidade interna e externa de ovos.

TABELA 1 – Composição centesimal e valor nutricional calculado da ração basal

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Milho grão	65,82
Farelo de soja 45%	20,79
Óleo de soja	1,50
Calcário calcítico	9,16
Fosfato bicálcico	0,99
Amido	0,50
Sal comum	0,45
DL-Metionina	0,25
L-Lisina HCL	0,25
L-Treonina	0,14
Vitini-ave*	0,10
Min-aves**	0,05
<b>Total</b>	<b>100</b>
<b>Nutrientes</b>	<b>Composição calculada</b>
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.900
Proteína bruta (%)	15,6
Cálcio (%)	3,85
Fósforo disponível (%)	0,27
Lisina digestível (%)	0,85
Metionina + Cistina (%)	0,69
Metionina digestível (%)	0,47
Treonina digestível (%)	0,63
Sódio (%)	0,21

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico para poedeiras (composição/kg do produto): vitamina A 8.000,00 MUI, vitamina E 15.000,00 mg, vitamina D3 2.300,00 MUI, vitamina K3 1.000 mg, vitamina B1 200,00 mg, vitamina B2 3.000 mg, vitamina B6 1.700,00 mg, vitamina B12 10.000,00 mcg, niacina 20.000,00 mg, ácido fólico 500,00 mg, Pant.Cálcio 9.600,00 mg, biotina 15,00 mg. <sup>2</sup>Suplemento mineral para poedeiras (composição/kg do produto): manganês 120.000,00 mg, zinco 120.000,00 mg, ferro 60.000,00 mg, cobre 18.000,00 mg, iodo 2.000,00 mg.

#### 2.2.4 Manejo experimental

Durante todo o período experimental, as galinhas receberam ração e água à vontade, sendo os comedouros abastecidos duas vezes ao dia. O programa de luz utilizado foi de 17 horas de fotoperíodo, controlado por relógio automático, em conformidade com as recomendações do manual da linhagem. A temperatura e umidade do ar foram registradas diariamente.

### 2.2.5 Preparação do inóculo de *Escherichia coli* e infecção experimental

O inóculo foi preparado com *Escherichia coli* isoladas de amostra de campo obtidas de coração de frangos de corte, cedidas pelo Laboratório de Bacteriologia da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

A cepa foi repicada em tubos de ensaio contendo 5 mL de caldo de cérebro e coração (BHI) e incubada a 37°C por 18-24 horas. Em seguida as culturas foram suspensas em solução salina tamponada esterilizada em diluições seriadas e sucessivas para se obter a concentração de  $8,8 \times 10^9$  UFC/mL com auxílio da escala de Mac-Farland. As concentrações foram confirmadas por plaqueamento das diluições seriadas em Ágar Maconkey.

Os isolados de *E.coli* padronizadas na concentração de  $8,8 \times 10^9$  UFC/mL foram inoculados nas aves com auxílio de pipetas e seringas esterilizadas, via intravaginal, na proporção de 0,1 mL/ave. No dia da inoculação as aves foram submetidas a situações de estresse passando por um período de seis horas de jejum alimentar e expostas a temperatura ambiental de aproximadamente de 35 C.

### 2.2.6 Variáveis estudadas

Ao final de cada ciclo de 28 dias, foi avaliado o desempenho das poedeiras por meio das variáveis:

- **Consumo alimentar:** No final de cada período de 28 dias foram pesadas as sobras de ração. A diferença da quantidade de ração fornecida no início do período pela quantidade de sobras resultou na quantidade de ração consumida em cada unidade experimental. A mortalidade das aves era considerada como critério de correção nos valores de consumo.
- **Peso médio dos ovos:** Nos três últimos dias de cada ciclo foram coletados todos os ovos íntegros. A média do peso dos ovos foi obtida pela divisão do peso total dos ovos coletados pelo número de ovos coletados, por unidade experimental.
- **Conversão alimentar:** A conversão alimentar calculada em dúzias de ovos (kg/dz) foi obtida pela divisão do consumo de ração pela produção de ovos. A conversão alimentar calculada pela massa de ovos (kg/kg), foi obtida pela divisão do consumo de ração pela produção de ovos vezes o peso médio dos ovos de cada unidade experimental.
- **Produção de ovos:** A produção de ovos foi anotada diariamente, sendo duas coletas diárias realizadas às 11:00 e 17:00 horas, sendo calculado em função das aves.
- **Mortalidade:** Quando observada a mortalidade, as aves e as sobras do cocho eram pesadas e os valores anotados em planilhas para posterior correção do consumo.

As análises de qualidade interna e externa dos ovos foram realizadas nos três últimos dias de cada ciclo, sendo utilizados três ovos por unidade experimental, coletados no dia da análise. As variáveis analisadas foram:

- **Gravidade específica:** foi realizada pelo método de imersão do ovo em solução salina com densidades variando de 1,065 a 1,110 e intervalos de 0,005.
- **Porcentagem de gema, albúmen e casca (%):** foram determinados os pesos de cada uma das partes em balança digital, sendo esses valores divididos pelo peso do ovo e multiplicados por 100. O peso da casca foi obtido após secagem.
- **Altura e diâmetro de gema e albúmen (mm):** os ovos de cada unidade experimental foram pesados e quebrados em superfície plana para serem realizadas as medidas de altura e diâmetro de albúmen e gema, realizadas com auxílio de um micrometro tripé e de um paquímetro.
- **Índice de gema:** foi obtido pela divisão da altura da gema e do seu respectivo diâmetro.
- **Índice do albúmen:** foi obtido pela divisão da altura da gema e do seu respectivo diâmetro.
- **Espessura de casca(mm):** Após secagem em temperatura ambiente por 72 horas, as medidas de espessura de casca foi coletada com o auxílio de um paquímetro.
- **Unidade Haugh (UH):** para determinar a qualidade interna dos ovos, expressos em unidades Haugh (UH), levou-se em consideração a relação logarítmica entre altura do albúmen denso (mm) e o peso dos ovos (g). Os valores foram aplicados na fórmula (BARNT et al., 1951):

$$UH= 100 \log. (H + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$$

Em que:

H= altura do albúmen (mm)

W= peso do ovo (g).

### 2.2.7 Análise estatística

Os dados de desempenho e qualidade dos ovos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias, quando necessário, foram comparadas pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Foi utilizado o programa SAS 9.2<sup>19</sup>.

## 2.3. Resultados e discussão

### 2.3.1. Desempenho

Os dados de desempenho de poedeiras comerciais semi-pesadas alimentadas com rações contendo copaíba ou barbatimão (Tabelas 2, 3, e 4) mostraram que, no primeiro e no segundo período de produção houve efeito ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos sobre a conversão alimentar (kg/dz) e produção de ovos. Rações contendo extrato de barbatimão proporcionaram pior conversão alimentar em relação ao tratamento controle ( $p < 0,05$ ). No entanto, Moreira<sup>20</sup>, estudando a inclusão do extrato de barbatimão em três concentrações, 1000, 2000 e 3000 mg/kg, em dietas de poedeiras comerciais, não observou efeito da inclusão do extrato para nenhuma das variáveis de desempenho estudadas no período de 24 a 40 semanas. As aves utilizadas neste estudo tinham idade superior (64 a 76 semanas) as das aves estudadas por Moreira<sup>20</sup> (24 a 40 semanas), e foram submetidas ao desafio com *Escherichia coli*, o que pode ter influenciado os resultados.

TABELA 2 – Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 64 a 68 semanas de idade

Tratamentos	CR (g/ave/dia)	Produção (%)	MO (g/ave/dia)	CA (kg/dz)	CA (kg/kg)
Controle	85,79	86,68	53,05	1,193b	1,618
Halquinol	89,12	81,68	49,31	1,293a	1,783
Copaíba	85,72	85,24	54,40	1,213ab	1,593
Barbatimão	88,17	82,46	50,63	1,289a	1,681
Valor de P					
Tratamento	0,232	0,101	0,365	0,050	0,200
Bloco	0,160	0,606	0,526	0,067	0,311
CV%	3,38	3,74	9,16	4,85	8,46

CR= Consumo de ração, Produção= Produção de Ovos, MO= Massa de Ovos, PO= Peso do Ovo, CA= Conversão Alimentar. Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

C.V%: coeficiente de variação

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Student's ( $P < 0,05$ ).

A pior conversão aves alimentadas com rações contendo extrato de barbatimão em relação ao tratamento controle, pode estar relacionada aos efeitos antinutricionais dos taninos, composto majoritário desse produto, embora não tenha se observado efeito sobre o consumo de ração. Warreham et al.<sup>21</sup> relataram que os taninos condensados presentes em dietas de monogástricos, formam complexos com proteínas, carboidratos, íons divalente de metais e outros nutrientes, inibindo a atividade de várias enzimas digestivas, e ainda diminuindo a

absorção de outros nutrientes através da parede celular. Assuena et al.<sup>22</sup> não encontraram efeito prejudicial do tanino quando substituiu milho pelo sorgo baixo tanino em diversos níveis (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) em dietas de poedeiras.

Com relação ao tratamento com óleo-resina de copaíba (Tabela 2), pode-se observar que a conversão alimentar (kg/dz) das aves foi semelhante aos tratamentos controle (sem aditivos) e com antibiótico. A conversão alimentar das aves alimentadas com rações contendo óleo-resina de copaíba foi semelhante aos relatos de Noletto<sup>23</sup>, em estudo com frango de corte. O autor avaliou a inclusão de 2g/kg de óleo-resina de copaíba na dieta de frangos de corte, na fase inicial, e verificou que a conversão alimentar das aves alimentadas com rações contendo óleo-resina de copaíba também foi igual ao das aves do tratamento com antibiótico (avilamicina) e controle (sem aditivos).

Do mesmo modo, Castejon<sup>24</sup>, estudando a inclusão do óleo de copaíba, nos níveis de 100, 500, 900 e 1300 mg/kg, em dietas de frangos de corte na fase inicial, pré-inicial e de crescimento, não observou diferença na conversão alimentar das aves dos tratamentos com copaíba em relação as dos tratamentos controle e com avilamicina. Os dados de conversão alimentar deste estudo mostraram que o grupo com antibiótico apresentou pior conversão alimentar (kg/dz) ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo controle. Os resultados sugerem que nas condições do experimento, com poedeiras desafiadas com *Escherichia coli*, o antibiótico apresentou pior conversão alimentar em relação ao grupo controle e o mesmo não foi observado para a copaíba.

Considerando o segundo período de produção (Tabela 3), pode-se observar que a produção de ovos foi influenciada ( $p < 0,05$ ) pelos tratamentos.

TABELA 3 – Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 68 a 72 semanas

Tratamentos	CR (g/ave/dia)	Produção (%)	MO (g/ave/dia)	CA (kg/dz)	CA (kg/kg)
Controle	85,72	84,72ab	50,09	1,273	1,797
Halquinol	81,95	86,17a	51,64	1,176	1,633
Copaíba	84,30	85,37a	50,71	1,258	1,698
Barbatimão	83,46	79,58b	50,91	1,402	1,819
Valor de P					
Tratamento	0,600	0,099	0,710	0,198	0,277
Bloco	0,904	0,453	0,925	0,263	0,193
CV%	4,96	4,97	3,89	12,43	9,28

CR= Consumo de ração, Produção= Produção de Ovos, MO= Massa de Ovos, PO= Peso do Ovo, CA= Conversão Alimentar. Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

C.V%: coeficiente de variação

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Student's ( $P < 0,05$ ).

O barbatimão prejudicou ( $p < 0,05$ ) a produção de ovos em relação ao grupo com antibiótico. Ao avaliar a inclusão do sorgo baixo tanino em substituição ao milho nos níveis de 50% e 100%, Moreno et al.<sup>25</sup> também observaram que a utilização de 100% de sorgo na ração resultou em queda na produção de ovos de poedeiras comerciais leve.

As aves suplementadas com óleo-resina de copaíba apresentaram produção de ovos (%) semelhante ( $p > 0,05$ ) ao das aves do tratamento com antibiótico e do grupo controle (sem aditivos). Do mesmo modo, o grupo com antibiótico foi semelhante ao grupo controle (sem aditivos).

Considerando os resultados de desempenho, pode-se concluir que o desafio submetido às aves (*Escherichia coli*) pode não ter sido suficiente para que os aditivos utilizados demonstrassem seus efeitos, visto que o tratamento controle (sem antibióticos) apresentou resultados semelhantes ( $p > 0,05$ ) aos tratamentos com os aditivos. Esses resultados sugerem que o desafio no galpão experimental foi baixo. Condições sanitárias adversas são necessárias para que os aditivos melhoradores de desempenho sejam mais expressivos<sup>26</sup>.

A *Escherichia coli* faz parte da microbiota entérica de mamíferos e aves, e, embora sempre presente nos ambientes de criação, tem ocasionado perdas econômicas na avicultura industrial, uma vez que ocasiona infecções intestinais e extra-intestinais conhecidas por colibacilose. Nas aves de postura a *Escherichia coli* é responsável por quadros de Salpingite (infecção do oviduto) e pode resultar em morte das aves. No entanto, aves adultas são menos susceptíveis a infecções ocasionadas por *Escherichia coli*, sendo observado em maior frequência em aves jovens.

Em relação ao terceiro período de produção, de 72 a 76 semanas de idade, não houve efeito entre os tratamentos para todas as variáveis de desempenho ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4).

TABELA 4 – Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 72 a 76 semanas

Tratamentos	CR (g/ave/dia)	Produção (%)	MO (g/ave/dia)	CA (kg/dz)	CA (kg/kg)
Controle	89,79	79,99	51,04	1,467	1,928
Halquinol	84,52	71,76	48,57	1,324	1,789
Copaíba	86,94	81,36	52,99	1,344	1,728
Barbatimão	87,73	80,28	49,96	1,424	1,909
Valor de P					
Tratamento	0,501	0,879	0,514	0,267	0,289
Bloco	0,988	0,427	0,391	0,851	0,904
CV(%)	5,83	6,34	9,26	8,52	9,64

CR= Consumo de ração, Produção= Produção de Ovos, MO= Massa de Ovos, PO= Peso do Ovo, CA= Conversão Alimentar. Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

C.V%: coeficiente de variação

Assim como no terceiro período de produção, no período total (64 a 76 semanas de idade) (Tabela 5), não foram observadas diferenças entre os tratamentos para nenhuma das variáveis de desempenho estudadas ( $p>0,05$ ). Os resultados negativos do barbatimão observados nos primeiro e segundo períodos não foram observados no período final de produção, assim como no período total de produção. Moura et al.<sup>27</sup>, em estudo com codornas japonesas na fase de postura, avaliaram a utilização do sorgo baixo tanino sobre o desempenho e qualidade de ovos e não observaram influência dos possíveis efeitos antinutricionais dos taninos sobre o peso, produção de ovos, peso dos ovos, massa de ovos e conversão alimentar (g/g e g/dz) das aves.

TABELA 5 – Desempenho de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba no período total (64 a 76 semanas de idade)

Tratamentos	CR (g/ave/dia)	Produção (%)	MO (g/ave/dia)	CA (kg/dz)	CA (kg/kg)
Controle	87,10	83,79	51,39	1,311	1,639
Halquinol	85,19	82,20	49,84	1,264	1,571
Copaíba	85,65	83,99	52,70	1,272	1,546
Barbatimão	86,45	80,77	50,49	1,372	1,672
Valor de P					
Tratamento	0,778	0,426	0,452	0,274	0,282
Bloco	0,585	0,941	0,889	0,256	0,350
CV%	3,43	4,02	5,61	7,07	6,81

CR= Consumo de ração, Produção= Produção de Ovos, MO= Massa de Ovos, PO= Peso do Ovo, CA= Conversão Alimentar. Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

C.V%: coeficiente de variação

Poucas pesquisas esclarecem os efeitos antinutricionais dos taninos, metabólitos secundários majoritários do extrato de barbatimão, sobre o desempenho de poedeiras. Além disso, temos a escassez de informações sobre o uso do extrato de barbatimão na alimentação de poedeiras, além da ausência de padronização da utilização deste extrato. No entanto, com os resultados encontrados neste ensaio, podemos supor que a utilização do extrato de barbatimão não prejudicou o desempenho das aves, já que as variáveis de produção de ovos e conversão alimentar, das aves alimentadas com rações contendo o extrato, apresentaram resultados semelhantes ao das aves alimentadas com rações sem antibióticos ou fitogênicos.

Do mesmo modo Moreira<sup>20</sup>, estudando a inclusão do extrato de barbatimão em três concentrações, 1000, 2000 e 3000 mg/kg, em dietas de poedeiras comerciais (24 a 40 semanas de idade), não desafiadas, não observou efeito da inclusão do extrato sobre o desempenho.

### 2.3.2. Qualidade dos ovos

Na avaliação de qualidade interna e externa de ovos, as variáveis foram influenciadas ( $p < 0,05$ ) pelo uso do antibiótico, copaíba, e barbatimão em todos os períodos de produção (Tabelas 6, 7, 8 e 9).

No primeiro período de produção, o peso do ovo, a porcentagem de casca, a espessura da casca e a porcentagem de gema e albúmen apresentaram alterações significativas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 6). A inclusão do óleo-resina de copaíba resultou em ovos mais pesados que os ovos do tratamento com antibiótico, e semelhante ao tratamento controle. O peso do ovo do tratamento com barbatimão foi semelhante ao dos tratamentos controle (sem aditivo) e com antibiótico.

A porcentagem e espessura de casca do tratamento com copaíba foram semelhantes ao tratamento com antibiótico, embora tenha sido inferior ao tratamento controle (sem aditivo). Com relação ao tratamento com barbatimão, a porcentagem e espessura de casca apresentaram-se semelhantes aos tratamentos com antibiótico ou controle ( $p > 0,05$ ). A porcentagem de casca do tratamento com antibiótico não diferiu dos demais tratamentos, com relação à espessura de casca apresentou-se inferior em relação ao tratamento controle.

TABELA 6 – Qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 64 a 68 semanas

Tratamentos	PO (g)	C (%)	EC (mm)	G (%)	IG	A (%)	UH	GE
Controle	61,74ab	13,46a	0,45a	25,89a	0,43	60,65b	85,76	1,103
Halquinol	60,66b	13,02ab	0,41bc	25,85a	0,43	61,14b	90,73	1,101
Copaíba	64,76a	12,39b	0,40c	24,26b	0,44	63,35a	89,69	1,099
Barbatimão	64,12ab	12,95ab	0,43ab	24,66ab	0,44	62,39ab	88,63	1,102
Valor de P								
Tratamento	0,010	0,022	0,0002	0,013	0,125	0,005	0,148	0,132
Bloco	0,695	0,871	0,902	0,029	0,050	0,085	0,288	0,808
CV%	5,82	6,66	6,46	6,28	4,48	3,35	6,31	0,43

PO= Peso do Ovo, C= Porcentagem de casca, EP= Espessura de Casca, G= Porcentagem de gema, IG= Índice de Gema, A= Porcentagem de Albume, U= Unidade Haugh, GE= Gravidade Específica. Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

C.V%: coeficiente de variação

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

A porcentagem e a espessura de casca estão relacionadas com a deposição de carbonato de cálcio. Com o avançar do período de produção, o peso do ovo aumenta, e a poedeira não consegue secretar carbonato de cálcio suficiente para envolver o conteúdo do ovo, resultando em ovos com espessura de casca reduzida<sup>28</sup>.

Embora a espessura da casca tenha sido inferior para o tratamento com óleo-resina de copaíba, a gravidade específica dos ovos não diferiu dos outros tratamentos ( $p>0,05$ ). Este resultado não era esperado, visto que a gravidade específica está relacionada com a espessura da casca<sup>29</sup>, quanto maior a gravidade específica, maior a espessura da casca<sup>30</sup>.

Considerando os resultados do extrato de barbatimão sobre a qualidade de casa, pode-se concluir que embora os taninos, presentes no extrato, tenham a capacidade de se complexar com íons metálicos<sup>16,21</sup>, não influenciaram na deposição de cálcio na casca.

A porcentagem de gema dos ovos do tratamento com copaíba foi inferior ( $p<0,05$ ) ao dos tratamentos com antibiótico ou controle (sem aditivo). Entretanto, a porcentagem de albúmen dos ovos do tratamento contendo copaíba foi melhor em relação aos tratamentos com antibiótico e controle. A utilização do extrato de barbatimão resultou em ovos com porcentagem de gema e albúmen semelhante aos demais tratamentos ( $p>0,05$ ). Moreira<sup>20</sup>, avaliando a qualidade interna e externa de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo diferentes níveis de extrato de barbatimão (1.000, 2.000 e 3.000 mg/kg).

Resultado parcialmente semelhante a este estudo fora observado por Ribeiro<sup>13</sup>, quando estudou a inclusão de óleo de copaíba em dois níveis, 0,03 e 0,06%, na dieta de poedeiras comerciais, e não observou efeito da inclusão do óleo para nenhuma das variáveis de qualidade interna.

Em relação ao segundo período de produção, as variáveis de peso do ovo, espessura da casca e índice de gema foram influenciadas ( $p<0,05$ ) pelos tratamentos (Tabela 7).

TABELA 7 – Qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 68 a 72 semanas

Tratamentos	PO (g)	C (%)	EC (mm)	G (%)	IG	A (%)	UH	GE
Controle	59,98b	13,68	0,37b	26,05	0,42b	60,27	89,45	1,099
Halquinol	59,77b	13,58	0,41a	25,36	0,43a	61,05	88,59	1,096
Copaíba	62,09ab	13,60	0,40a	25,26	0,44a	61,13	88,56	1,097
Barbatimão	64,03a	13,02	0,37b	25,17	0,43ab	61,73	88,61	1,094
Valor de P								
Tratamento	0,008	0,516	0,0001	0,33	0,004	0,219	0,967	0,164
Bloco	0,994	0,638	0,264	0,04	0,077	0,014	0,908	0,581
CV%	5,94	8,66	5,73	5,15	3,72	2,88	5,89	0,47

PO= Peso do Ovo, C= Porcentagem de casca, EP= Espessura de Casca, G= Porcentagem de gema, IG= Índice de Gema, A= Porcentagem de Albúmen, U= Unidade Haugh, GE= Gravidade Específica. Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

C.V%: coeficiente de variação

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

O tratamento com copaíba resultou em ovos com peso semelhante ( $p>0,05$ ) aos ovos do ao grupo com antibiótico ou controle. A utilização do antibiótico resultou em ovos de peso semelhante aos do tratamento controle. Com relação ao extrato de barbatimão, o peso do ovo foi superior ao dos tratamentos com antibiótico ou controle (sem aditivo).

A inclusão do óleo-resina de copaíba resultou em ovos com espessura de casca semelhante ( $p>0,05$ ) ao tratamento com antibiótico e superior ao tratamento controle. Os ovos do tratamento com barbatimão apresentaram espessura de casca inferior ao tratamento com antibiótico e semelhante ao grupo controle. A menor espessura de casca do tratamento com barbatimão em relação ao tratamento com antibiótico pode está relacionada a complexação dos íons Ca pelos taninos<sup>15</sup>, no entanto quando comparado ao tratamento controle esse efeito não foi observado. Oliveira<sup>31</sup>, avaliando os efeitos da inclusão de extrato de barbatimão em dois níveis, 0,1 e 0,3%, sobre a qualidade física de ovos, não observou efeito negativo com a utilização do extrato de barbatimão sobre a qualidade de casca de poedeiras comerciais leves de 24 a 40 semanas.

O índice de gema do tratamento com copaíba foi semelhante ao tratamento com antibiótico ( $p>0,05$ ) e superior ao tratamento controle. Com relação ao tratamento com barbatimão, o índice de gema não diferiu dos demais tratamentos ( $p>0,05$ ).

No terceiro período de produção, houve efeito dos tratamentos sobre o índice de gema e a unidade Haugh ( $p<0,05$ ) (Tabela 8). O índice de gema dos tratamentos com copaíba ou com barbatimão foi semelhante ao grupo com antibiótico. Entretanto, o índice de gema dos ovos do tratamento com copaíba foi superior ao do tratamento controle, enquanto o tratamento com barbatimão apresentou-se semelhante ao grupo controle.

TABELA 8 – Qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou óleo de copaíba, no período de 72 a 76 semanas

Tratamentos	PO (g)	C (%)	EC (mm)	G (%)	IG	A (%)	UH	GE
Controle	63,95	13,28	0,40	26,29	0,44b	60,42	90,58b	1,099
Halquinol	61,95	13,09	0,41	25,76	0,44ab	61,15	93,11a	1,097
Copaíba	64,25	12,75	0,40	25,68	0,45a	61,57	91,93ab	1,097
Barbatimão	63,33	12,86	0,40	26,05	0,45ab	61,08	88,66b	1,096
Valor de P								
Tratamento	0,286	0,36	0,259	0,60	0,064	0,41	0,096	0,454
Bloco	0,328	0,061	0,435	0,002	0,110	0,137	0,816	0,110
CV%	5,45	6,31	4,52	5,00	3,90	2,82	5,42	0,44

PO= Peso do Ovo, C= Porcentagem de casca, EP= Espessura de Casca, G= Porcentagem de gema, IG= Índice de Gema, A= Porcentagem de Albumo, U= Unidade Haugh, GE= Gravidade Específica. Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

C.V%: coeficiente de variação

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Student's ( $P<0,05$ ).

Em relação a qualidade interna de ovos (UH), o tratamento com copaíba apresentou resultado semelhante ( $p>0,05$ ) ao tratamento com antibiótico e controle. Aves alimentadas com rações contendo extrato de barbatimão apresentaram pior qualidade interna de ovos (UH) em relação ao tratamento contendo antibiótico.

Considerando o período total de produção (64 a 76 semanas), o peso do ovo, a porcentagem de gema, o índice de gema e a porcentagem de albúmen foram influenciados ( $p<0,05$ ) pelos fitoterápicos (Tabela 9). O peso do ovo das aves suplementadas com rações contendo óleo-resina de copaíba ou extrato de barbatimão foi superior ( $p<0,05$ ) ao grupo com antibiótico, embora tenha sido semelhante ao tratamento controle (sem aditivo). Esses resultados mostram os efeitos positivos do óleo-resina de copaíba e do extrato de barbatimão em relação ao antibiótico. O peso do ovo do grupo controle não diferiu ( $p>0,05$ ) dos demais tratamentos.

Ovos oriundos de aves alimentadas com rações contendo copaíba apresentaram porcentagem de gema semelhante ao grupo com antibiótico, e inferior ao tratamento controle. Entretanto, o índice de gema do tratamento com copaíba foi superior ao dos tratamentos controle ou com antibiótico. Com relação ao tratamento com barbatimão, a porcentagem de gema apresentou-se semelhante aos demais tratamentos, e o índice de gema apresentou-se semelhante ao tratamento com antibiótico e superior ao tratamento controle.

Tabela 9 – Qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com ração contendo extrato de barbatimão ou copaíba no período total (de 64 a 76 semanas)

Tratamentos	PO (g)	C (%)	EC (mm)	G (%)	IG	A (%)	UH	GE
Controle	61,89ab	13,47	0,40	26,07a	0,42c	60,44b	88,59	1,100
Halquinol	60,79b	13,47	0,41	25,65ab	0,43bc	61,11ab	90,81	1,098
Copaíba	63,70a	12,91	0,40	25,06b	0,44a	62,01a	90,05	1,098
Barbatimão	63,82a	12,96	0,39	25,29ab	0,43ab	61,73a	88,63	1,097
Valor de P								
Tratamento	0,002	0,106	0,238	0,017	0,0004	0,007	0,121	0,100
Bloco	0,785	0,646	0,437	<0,0001	0,0004	0,004	0,373	0,301
CV%	3,76	4,85	4,50	3,27	2,24	1,96	3,22	0,27

PO= Peso do Ovo, C= Porcentagem de casca, EP= Espessura de Casca, G= Porcentagem de gema, IG= Índice de Gema, A= Porcentagem de Albúmen, U= Unidade Haugh, GE= Gravidade Específica. Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

C.V%: coeficiente de variação

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

A porcentagem de albúmen dos ovos dos tratamentos com copaíba ou com barbatimão foi semelhante ao tratamento com antibiótico e superior ao tratamento controle

( $p < 0,05$ ). Esse resultado está relacionado com o aumento da porcentagem de gema dos tratamentos. Esse resultado pode mostrar um efeito negativo dos extratos sobre a gema.

Embora a utilização do óleo-resina de copaíba melhorou o índice de gema. Os valores médios de índice de gema para ovos frescos estão entre 0,40 e 0,42<sup>32</sup>. Compostos, ainda não elucidados, presente na copaíba pode ter contribuído com essa melhoria, uma vez que as propriedades terapêuticas do óleo ainda são as mais exploradas. Oliveira<sup>31</sup>, estudando a inclusão de óleo de copaíba em três níveis, 0,03, 0,06 e 0,09%, na dieta de poedeiras comerciais e sem efeitos na qualidade física de ovos, não observou efeito da adição do óleo sobre o índice de gema de ovos frescos em relação aos demais tratamentos.

## 2.4 Conclusões

É recomendada a inclusão de 0,03 g/kg de óleo-resina de copaíba em substituição aos aditivos melhoradores de desempenho, nas rações de poedeiras comerciais (de 64 a 76 semanas) desafiadas com *Escherichia coli*, sem prejudicar o desempenho e qualidade de ovos das aves.

A inclusão de 0,04 g/kg de extrato de barbatimão em dietas de poedeiras comerciais (de 64 a 76 semanas) nas condições experimentais testadas (desafio com *Escherichia coli*) é recomendada, uma vez que não prejudicou o desempenho e qualidade de ovos das aves e ainda proporcionou ovos com melhor espessura de casca que o tratamento com antibiótico.

## REFERÊNCIAS

1. Silva CR. Uso de probiótico em rações de frangos de corte: desempenho, digestibilidade energia metabolizável [Dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2008. [acesso 12 mai 2013]. Disponível em: [http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde\\_arquivos/2/TDE-2008-07-21T080840Z-1235/Publico/texto%20completo.pdf](http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_arquivos/2/TDE-2008-07-21T080840Z-1235/Publico/texto%20completo.pdf)
2. Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Vet J.* 2011; 187(2):182-8
3. MARTINS ER, Castro DM, Castellani DC, et al. Plantas medicinais. Viçosa (MG): Editora UFV; 2000.
4. Montes LV, Broseghini LP, Andreatta FS, Sant'anna ES, Neves VM, Silva AG. Evidências para o uso da óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. *Natureza online* [online]. 2009 [cited 2013 Dec 05]; 7(2):61-7. Available from: [http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/02\\_MontesLVetal\\_6167.pdf](http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/02_MontesLVetal_6167.pdf). ISSN 1806-7409
5. Cascon V, Gilbert B. Characterization of the chemical composition of oleo resins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. *Phytochemistry.* 2000; 55(7):773-8.
6. Pinto AC, Braga WF, Rezende CM, Garrido FMS, Veiga Júnior VF, Bergyer L, et al. Separation of acid diterpenes of *Copaifera cearensis* Huber ex Duke by flash chromatography using potassium hydroxide impregnated silica gel. *J Braz Chem Soc.* [online]. 2000 Jul [cited 2013 Jun 16]; 11(4): 355-60. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-50532000000400005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532000000400005). ISSN 0103-5053
7. Leandro LM, Vargas FS, Barbosa PCS, Neves JKO, Silva JA, Veiga-Junior VF. Chemistry and biological activities of terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) oleo resins. *Molecules* [Internet]. 2012; 17(4):3866-89 [cited 2014 Feb 02]. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/17/4/3866>. ISSN: 1420-3049. doi: [10.3390/molecules17043866](https://doi.org/10.3390/molecules17043866)
8. Mendonça DE, Onofre SB. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba – *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). *Rev Bras Farmacogn* [online]. 2009; 19(2b):577-81 [citado 15 jun 2014]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2009000400012](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000400012). ISSN: 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400012>
9. Costa AF. Farmacognosia. 3ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian; 1986
10. Vasconcelos MCA, Rodvalho NCM, Pott VJ, Ferreira AMT, Arruda ALA, Marques MCS, Castilho RO, Bueno NR. Avaliação de atividade biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum* Benth (Leguminosae). *Rev Bras Farmacogn.* 2004; 14:121-7.

11. Silva MR, Silva MAAP. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. Rev Nutr [online]. 1999;12(1):5-19 [citado 06 jan 2015]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rn/v12n1/v12n1a02>. ISSN: 1415-5273. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52731999000100002>
12. Lima CRO, Souza LA, Helou JB, Silva J, Caetano LB. Caracterização dos metabólitos secundários do barbatimão. In: Silva LAF, Eurides D, Paula JR, Lima CRO, Moura MI. Manual do barbatimão. Goiânia: Kelps, 2010. p. 61-68.
13. Ribeiro LMCS. Qualidade física, composição e análise de colesterol total de ovos frescos de aves alimentadas com dietas contendo antioxidantes naturais [TCC]. Brasília:Universidade de Brasília; 2013.
14. Fonseca P, Librandi APL. Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*). Rev Bras Cienc Farm [online]. 2008; 44(2):271-7 [citado 05 nov 2014].Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-93322008000200012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322008000200012&lng=en&nrm=iso). ISSN: 1516-9332. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322008000200012>.
15. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry. 1991; 30(12):3875-83. DOI: 10.1016/0031-9422(91)83426-L
16. Haslam E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. J Nat Prod,Sheffield. 1996; 59(2):205-20. ISSN: 1520-6025
17. Soares SP, Vinholisa AHC, Casemiroa LA, Silva MLA, Cunha WR, Martins CHG. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. Rev Odonto Cienc. 2008; 23(2):141-4.
18. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira R F, Lopes DC, et al. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais de Aves e Suínos (Tabelas Brasileiras). Viçosa: UFV - Imprensa Universitária; 2011.
19. Statistical Analysis System - SAS<sup>®</sup> user's guide: statistics. Cary: SAS Institute, 2009
20. Moreira JS. Extratos de barbatimão (*stryphnodendron adstringens*) e pacari (*lafoensia pacari*) em rações de poedeiras comerciais [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2014.
21. Warreham CN, Wiseman J, Cole DJA. Processing and antinutritive factors in feedstuffs. In: Cole DJA, Varley MA. Principles of pig sciences. Nottingham, 1994. 427p.
22. Assuena V, Filardi RS, Junqueira OM, Casartelli EM, Laurentiz AC, Duarte KF. Substituição do milho pelo sorgo em rações para poedeiras comerciais formuladas com diferentes critérios de atendimento das exigências em aminoácidos. Ciênc Anim Bras. 2008; 9: 93-9 [citado 02 mar 2015]. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/3667>. ISSN: 1809-6891.
23. Noleto RA. Desempenho e parâmetros intestinais de frangos de corte alimentados com rações contendo óleos de copaíba e sucupira [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2014.

24. Castejon FV. Adição de óleos de copaíba (*Copaifera* sp.) e sucupira (*Pterodon* sp.) a rações de frangos de corte [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás. Goiânia; 2013. [acesso 18 mar 2015]. Disponível em: [http://bdtd.ufg.br/tesesimplificado/tde\\_arquivos/5/TDE-2013-07-05T195148Z-2821/Publico/adicao%20de%20oleos%20de%20copaiba%20copaifera%20sp.pdf](http://bdtd.ufg.br/tesesimplificado/tde_arquivos/5/TDE-2013-07-05T195148Z-2821/Publico/adicao%20de%20oleos%20de%20copaiba%20copaifera%20sp.pdf)
25. Moreno JO, Espíndola GB, Santos MSV, Freitas ER, Gadelha AC. Desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais, alimentadas com dietas contendo sorgo e páprica em substituição ao milho. *Acta Scientiarum Anim Scienc* [online]. 2007; 29:159-63 [citado 10 fev 2015]. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/220>. ISSN: 1807-8672. DOI: 10.4025/actascianimsci.v29i2.220
26. Brugalli I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos: Anais...; 2003; Campinas. Campinas: CBNA; 2003. p.167-82.
27. Moura AMA, et al . Desempenho e qualidade do ovo de codornas japonesas alimentadas com rações contendo sorgo. *R. Bras. Zootec.*, Viçosa [online]. 2010; 39(12):2697-2702 [citado 15 mar 2015]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982010001200021&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982010001200021&lng=en&nrm=iso). ISSN: 1806-9290. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010001200021>.
28. Rutz F, Xavier EG, Anciuti MA, Roll VFB, Rossi P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. *Rev Bras Reprod Anim*. 2007; 31(3):307-17.
29. Baião NC, Cançado SV. Fatores que afetam a qualidade da casca do ovo. *Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG*, n.21. Belo Horizonte; 1997.
30. Hamilton RMG. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. *Poult Scienc*. 1982; 61:2022-039.
31. Oliveira GR. Adição de extratos e óleos vegetais na alimentação de poedeiras: oxidação lipídica e qualidade física de ovos armazenados em diferentes temperaturas [Dissertação]. Brasília: Universidade de Brasília; 2014.
32. Card LE, Nesheim MC. *Produccion Avícola*. Traduzido por Maluenda PD, Lorenzo PL. Zaragoza (Espanha): Acribia; 1968.

### **CAPITULO 3. OCORRÊNCIA DE *Escherchia coli* EM OVOS, FOLÍCULOS OVARIANOS E OVIDUTO DE POEDEIRAS VERMELHAS DESAFIADAS COM *Escherichia coli* E ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO EXTRATO DE BARBATIMÃO E ÓLEO DE COPAÍBA**

**RESUMO:** A realização deste estudo teve como objetivo avaliar a inclusão do óleo-resina de copaíba ou extrato de Barbatimão na ração de poedeiras comerciais desafiadas com *Escherichia coli* sobre a frequência de isolados de *Escherichia coli* em ovos, folículos ovarianos e oviduto. Foram utilizadas 200 poedeiras comerciais da linhagem Isa Brow (64 a 76 semanas de idade) sendo todas as aves inoculadas via intravaginal com 0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,85% contendo  $8,8 \times 10^9$  UFC/mL de *Escherichia coli*. O delineamento foi em blocos ao acaso (sendo o peso das aves bloqueado), com quatro tratamentos e cinco repetições de 10 aves. Os tratamentos foram: ração basal sem aditivos (controle); ração basal + 30 mg/kg de antibiótico (halquinol); ração basal + 30 mg/kg de óleo-resina de copaíba e ração basal + 40 mg/kg de barbatimão. O experimento teve duração de três períodos de 28 dias e em cada período foi realizada pesquisa de *Escherichia coli* em ovos e ao final do experimento pesquisa de *Escherichia coli* em folículos ovarianos e oviduto. Houve menor frequência de isolamento de *Escherichia coli* em amostras de suabes intravaginal do tratamento com copaíba. A inclusão do barbatimão ou da copaíba proporcionou menor frequência de isolamento de *E. coli* nos folículos ovarianos em relação ao tratamento com antibiótico. O barbatimão proporcionou menor ocorrência de *Escherichia coli* no oviduto em relação ao tratamento com antibiótico. Já o tratamento com óleo-resina de copaíba apresentou maior frequência de isolamento de *E. coli* no oviduto que os demais tratamentos. A utilização do óleo-resina de copaíba ou extrato de barbatimão resultou em menor frequência de isolamento de *Escherichia coli* nas amostras de casca, albúmen e gema que o tratamento com antibiótico. A inclusão de óleo-resina de copaíba foi satisfatória na substituição ao antibiótico em dietas de poedeiras comerciais.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos, bacteriologia convencional, *E. coli*, fitogênicos, poedeiras comerciais.

### **CHAPTER 3. OCCURRENCE OF *Escherichia coli* IN EGGS, OVARIAN FOLLICLES AND OVIDUCT OF RED LAYING HENS CHALLENGED WITH *Escherichia coli* AND FED DIETS CONTAINING BARBATIMÃO EXTRACT AND COPAIBA OIL**

**ABSTRACT:** This study was performed aiming the evaluation of the inclusion of copaiba oleo resin or barbatimão extract in the diet of laying hens challenged with *Escherichia coli* on the frequency of isolates of *Escherichia coli* in eggs, ovarian follicles and oviduct. A total of 200 Isa Brown commercial laying hens (64-76 weeks old) were intravaginally inoculated with 0.5 ml of 0.85% sterile saline solution containing  $8.8 \times 10^9$  CFU / mL of *Escherichia coli*. It was adopted a randomized block design (birds weight used as block criteria), with four treatments and five replicates of 10 birds. The treatments consisted of: basal diet without additives (control); basal diet + 30 mg / kg of antibiotic (halquinol); basal diet + 30 mg / kg of copaiba oleo resin and basal diet + 40 mg / kg barbatimão extract. The experiment lasted three periods of 28 days, and in each period it was performed the search for *Escherichia coli* in eggs; and at the end of the total period, the search for *Escherichia coli* in ovarian follicles and oviduct. There was a lower frequency of isolation of *Escherichia coli* in intra-vaginal swabs samples from treatment with copaiba oilresin. The inclusion of barbatimão or copaiba provided lower frequency of *E. coli* isolation in ovarian follicles, when compared to antibiotic treatment. Barbatimão provided lower occurrence of *Escherichia coli* in the oviduct, in relation to antibiotic treatment. The treatment with oleo resin copaiba showed higher frequency of isolation of *E. coli* in the oviduct than the other treatments. The use of copaiba oleo resin or barbatimão extract resulted in lower frequency of isolation of *Escherichia coli* in the shell, albumen and yolk samples, in relation to antibiotic treatment. The inclusion of copaiba oleo resin was satisfactory in substitution to the antibiotic in laying hens commercial diets.

**Keywords:** Antimicrobial, conventional bacteriology, laying hens, *E. coli*, phytogetic.

### 3.1 Introdução

A utilização dos antimicrobianos na avicultura vem sendo realizado com o intuito de alcançar melhores índices zootécnicos, prevenir doenças e também como terapêuticos<sup>1</sup>. Porém, o uso indiscriminado desses aditivos tem contribuído para o aparecimento de bactérias multiresistentes, ocasionando sérios problemas para a avicultura industrial e para a saúde pública<sup>2</sup>.

A preocupação com o aparecimento de bactérias resistentes ocasionou a restrição do uso dos aditivos melhoradores de desempenho (AMD) na produção animal, impulsionando assim o desenvolvimento de pesquisas em busca de possíveis substitutos dos AMD's.

Estudos realizados com extratos e óleos vegetais têm revelado o grande potencial desses produtos como antimicrobianos, além de melhorar a absorção dos nutrientes e apresentar atividade antioxidante<sup>3,4</sup>. Plantas do Cerrado brasileiro estão sendo alvo de estudos e suas propriedades medicinais têm sido comprovadas, sendo os seus efeitos benéficos associados aos seus diferentes princípios ativos<sup>5</sup>. A copaíba (*Copaífera* sp) e o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) são exemplos de plantas do Cerrado com propriedades comprovadas.

A copaíba possui ação analgésica, anti-inflamatória, cicatrizante e antibacteriana<sup>6,7</sup>. Suas propriedades medicinais são associadas aos sesquiterpenos, componente majoritário do óleo. Os principais sesquiterpenos encontrados no óleo são  $\beta$  - cariofileno, óxido de cariofileno,  $\alpha$  - humuleno,  $\delta$  - cadineno,  $\alpha$  - cadinol,  $\alpha$  - cubebene,  $\alpha$  e  $\beta$  - selineno,  $\beta$  - elemeno,  $\alpha$  - copaeno, trans -  $\alpha$  - bergamoteno e  $\beta$  - bisaboleno<sup>8</sup>.

Assim como a copaíba, o barbatimão possui propriedades medicinais, dentre as quais estão seus efeitos anti-inflamatório, cicatrizante<sup>9</sup>, antimicrobiano<sup>10</sup>, além de apresentar propriedades adstringente<sup>11</sup> e antioxidante<sup>12</sup>. Os efeitos farmacológicos do barbatimão estão relacionados aos teores de taninos condensados presente na planta, sendo atribuído a esse composto a capacidade de se complexar com proteínas e íons metálicos, prejudicando a digestão de nutrientes e a absorção de íons de cálcio, ferro e cobre<sup>13</sup>.

Na avicultura, a ocorrência de infecções ocasionadas por *Escherichia coli* é comum e são denominadas colibacilose. As colibaciloses são responsáveis por quadros como septicemia, peritonite, pneumonia, aerossaculite, pericardite, onfalite e salpingite<sup>14</sup>. Na avicultura de postura, a *Escherichia coli* é responsável principalmente por desencadear inflamação do oviduto das aves (salpingite), e por afetar a qualidade dos ovos comerciais<sup>15</sup>.

A copaíba e o barbatimão possuem atividade antimicrobiana e, portanto podem ser uma alternativa em rações de aves. No entanto, ainda é necessário determinar a dosagem

desses fitogênicos para poedeiras comerciais com intuito de melhorar a qualidade microbiológica dos ovos. Assim, ainda é necessário determinar sua realização deste trabalho teve como objetivo elucidar os efeitos da inclusão do óleo-resina de copaíba e do extrato de barbatimão sobre a qualidade do ovo e da saúde do aparelho reprodutor de poedeiras comerciais vermelhas desafiadas com *Escherichia coli*.

## **3.2 Material e métodos**

### **3.2.1 Local de realização do experimento**

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Produção Animal e no Laboratório de Bacteriologia do setor de Medicina Preventiva da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Todos os procedimentos nesse estudo foram realizados em acordo com Protocolo Registro CEUA/UFG 52/14 pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Goiás.

### **3.2.2 Alojamento das aves**

As aves foram alojadas em galpão de postura de alvenaria, coberto com telhas de barro e telado nas laterais. Permanecendo aos pares em gaiolas de arame galvanizado de dimensões 25x40x45cm e equipadas com comedouro lineares de alumínio e bebedouro tipo “nipple”.

### **3.2.3 Delineamento experimental**

Foram utilizadas 200 poedeiras comerciais da linhagem Isa Brown com 64 semanas de idade e produção de 85%, distribuídas em delineamento em blocos ao acaso (sendo todas as aves pesadas e separadas em: B1 – aves de 1,776-2,077 kg; B2 – Aves de 1,474-1,775 kg), com quatro tratamentos e cinco repetições de dez aves cada. Todas as aves foram desafiadas com *Escherichia coli*.

Foram estudados quatro tratamentos, sendo um controle negativo, ou seja, aves desafiadas com *Escherichia coli* e alimentadas com dietas sem aditivos (antibiótico, copaíba ou barbatimão); aves desafiadas com *Escherichia coli* e alimentadas com rações contendo 30mg/kg de antibiótico (halquinol); aves desafiadas com *Escherichia coli* e alimentadas com rações contendo 30mg/kg de óleo-resina de copaíba; e aves desafiadas com *Escherichia coli* e alimentadas com rações contendo 40 mg/kg de extrato concentrado de barbatimão.

O óleo-resina de copaíba foi adquirido de uma empresa comercial. O extrato concentrado de barbatimão foi preparado e analisado no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia – UFG. Foi realizado o doseamento de taninos do extrato concentrado de barbatimão e doseamento dos teores de  $\beta$ -cariofileno do óleo bruto de copaíba por meio do método de cromatografia líquida, validada pelo Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais (LPPN), demonstrando um teor de 0,433mg/mL de taninos totais do extrato concentrado de barbatimão e 213,1mg/mL de  $\beta$ -cariofileno do óleo de copaíba.

As rações experimentais utilizadas foram fareladas, isonutritivas e a base de milho e farelo de soja, formuladas de acordo com a composição dos nutrientes dos alimentos e das exigências propostas pelas tabelas brasileiras para aves e suínos<sup>16</sup> (Tabela 1). O halquinol, o óleo-resina de copaíba, e o extrato de barbatimão foram adicionados na ração basal em substituição ao amido. Para realizar a melhor homogeneização o óleo de copaíba foi inicialmente misturado ao óleo de soja e depois adicionado na mistura. O extrato concentrado de barbatimão foi adicionado primeiramente na mistura dos micronutrientes e depois à ração.

A duração do experimento foi de 99 dias, sendo 15 dias de adaptação das aves às condições experimentais, e 84 dias divididos em três períodos de 28 dias cada. Ao final de cada ciclo foram avaliados parâmetros de desempenho zootécnico e qualidade interna e externa de ovos.

### **3.2.4 Preparação do inóculo de *Escherichia coli* e infecção experimental**

O inóculo foi preparado com *Escherichia coli* isoladas de amostra de campo obtidas de coração de frangos de corte, cedidas pelo Laboratório de Bacteriologia da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

A cepa foi repicada em tubos de ensaio contendo 5 mL de caldo de cérebro e coração (BHI) e incubada a 37°C por 18-24 horas. Em seguida as culturas foram suspensas em solução salina tamponada esterilizada em diluições seriadas e sucessivas para se obter a concentração de  $8,8 \times 10^9$  UFC/mL com auxílio da escala de Mac-Farland. As concentrações foram confirmadas por plaqueamento das diluições seriadas em Ágar Macconkey.

Os isolados de *E.coli* padronizadas na concentração de  $8,8 \times 10^9$  UFC/mL foram inoculados nas aves com auxílio de pipetas e seringas esterilizadas, via intravaginal, na proporção de 0,1 mL/ave. No dia da inoculação as aves foram submetidas a situações de estresse passando por um período de seis horas de jejum alimentar e expostas a temperatura ambiental de aproximadamente de 35 C.

TABELA 1 – Composição centesimal e valor nutricional calculado da ração basal

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Milho grão	65,82
Farelo de soja 45%	20,79
Óleo de soja	1,50
Calcário calcítico	9,16
Fosfato bicálcico	0,99
Amido	0,50
Sal comum	0,45
DL-Metionina	0,25
L-Lisina HCL	0,25
L-Treonina	0,14
Vitini-ave*	0,10
Min-aves**	0,05
<b>Total</b>	<b>100</b>
<b>Nutrientes</b>	<b>Composição calculada</b>
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.900
Proteína bruta (%)	15,6
Cálcio (%)	3,85
Fósforo disponível (%)	0,27
Lisina digestível (%)	0,85
Metionina + Cistina (%)	0,69
Metionina digestível (%)	0,47
Treonina digestível (%)	0,63
Sódio (%)	0,21

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico para poedeiras (composição/kg do produto): vitamina A 8.000,00 MUI, vitamina E 15.000,00 mg, vitamina D3 2.300,00 MUI, vitamina K3 1.000 mg, vitamina B1 200,00 mg, vitamina B2 3.000 mg, vitamina B6 1.700,00 mg, vitamina B12 10.000,00 mcg, niacina 20.000,00 mg, ácido fólico 500,00 mg, Pant.Cálcio 9.600,00 mg, biotina 15,00 mg. <sup>2</sup>Suplemento mineral para poedeiras (composição/kg do produto): manganês 120.000,00 mg, zinco 120.000,00 mg, ferro 60.000,00 mg, cobre 18.000,00 mg, iodo 2.000,00 mg.

### 3.2.5 Variáveis estudadas

As variáveis estudadas foram pesquisa de *E.coli* em ovos e órgãos reprodutivos (folículos ovarianos e oviduto). Além disso, foi realizada também análise bacteriológica de suabes intravaginal colhidas no início do primeiro ciclo e no final do último ciclo.

Foram realizados suabes intravaginais em todas as aves antes da inoculação e no final do período experimental, com o objetivo de avaliar a presença da *Escherichia coli* nesses dois momentos. As amostras foram compostas por “pools” de dez suabes para cada repetição, sendo 5 amostras por tratamento, totalizando 20 amostras de suabes intravaginal em cada período de coleta. Os suabes foram transferidos para bolsas de coleta esterilizadas (stomacher) contendo 10 mL de solução salina peptonada 0,1% e incubadas a 37°C por 18-24

horas. Após esse período, 1 mL de cada amostra foi transferido para meio de enriquecimento Tryptic soy Broth (TSB) e incubados a 37° C por 24 horas.

Posteriormente, a solução foi estriada em placas contendo ágar MacConkey e incubada a 37°C por 24 horas. Após esse período, quatro colônias com características sugestivas de *Escherichia coli* foram transferidas para tubos contendo ágar Tríplice açúcar e ferro (TSI) e incubados a 37°C por 24 horas. Os tubos com TSI foram selecionados de acordo com as características de crescimento e submetidos às provas bioquímicas: uréia, indol, vermelho-metila e citrato. Foram consideradas amostras positivas aquelas que apresentaram perfil bioquímico de *Escherichia coli*.

Na pesquisa de *E. coli* em ovos, as amostras de ovos foram coletadas no final de cada período de produção, totalizando três coletas. Após as coletas dos ovos, realizadas de maneira asséptica, os ovos foram identificados, encaminhados diretamente ao laboratório e processados.

No laboratório separou-se quatro ovos, de cada repetição, que após assepsia com álcool iodado a 2% na extremidade de menor diâmetro, foram quebrados e aquelas porções da casca, que foram sanitizadas com álcool iodado a 2%, foram descartadas e o restante das cascas, albumens e gemas foram separados. As frações separadas das amostras foram colocadas em recipiente esterilizado.

Cada repetição originou três amostras: *pool* de 4 cascas, *pool* de 4 albumens e *pool* de 4 gemas. As amostras foram homogeneizadas e 25g da casca, 25mL do albúmen e 25mL da gema foram colocados em bolsas de coleta esterilizadas (*stomacher*) contendo 225mL de solução salina peptonada a 1% e incubadas a 37°C/18-20h. Após esse período, foram homogeneizadas e 1mL foi transferido para 9mL de caldo Trypticase Soy Broth (TSB) seguindo-se a incubação a 37°C/24h.

Após esse período, com auxílio de uma alça de níquel-cromo, alíquotas foram plaqueadas por esgotamento em superfície para o ágar McConkey e novamente incubado a 37°C/24h. Unidades Formadoras de Colônias (UFC) com características morfológicas de *Escherichia coli* foram selecionadas e quatro UFC por placa foram transferidas para tubos contendo tríplice açúcar ferro (TSI) e incubados a 37°C/24h. As culturas em TSI com crescimento sugestivo de *Escherichia coli* foram submetidos ao teste de urease, produção de indol, vermelho metila, motilidade e teste do citrato de Simmons. Quando as provas bioquímicas eram compatíveis com *Escherichia coli* as amostras foram consideradas positivas.

Foram coletadas amostras de ovário e oviduto de três aves por unidade experimental. As aves foram eutanasiadas por deslocamento cervical e foram coletados ovário e oviduto.

Em condições assépticas, foram pesados 2,5g de oviduto, e coletados quatro a cinco folículos ovarianos, obedecendo à ordem hierárquica de ovulação. As amostras foram transferidas para bolsas de coleta contendo 22,5 mL de solução salina peptonada, foram homogeneizadas e incubadas a 37°C por 24 horas.

Passado este período, 1 mL das amostras foram repicadas no meio de enriquecimento TSA (trypticase soy agar) e incubados a 37° C por 18-24 horas. Após a incubação, a alíquota dos caldos seletiva foi estriada em placas contendo ágar MacConkey e incubada a 37°C por 24 horas. Transcorrido esse tempo, quatro colônias com as mesmas características morfológicas foram transferidas para tubos contendo ágar TSI (tríplice açúcar e ferro) e foram incubados a 37°C por 18-24 horas. Os tubos com TSI foram selecionados de acordo com as características de crescimento e submetidos às provas: uréia, indol, vermelho-metila e citrato. Foram selecionados os tubos que apresentaram perfil bioquímico de *Escherichia coli*.

### **3.2.6 Análise estatística**

Para interpretação dos resultados encontrados, os dados foram submetidos a análise descritiva, com ênfase à distribuição de frequências absoluta e relativa dos resultados.

## **3.3. Resultados e discussão**

### **3.3.1. Pesquisa de *Escherichia coli***

A frequência de *Escherichia coli* obtida de suabes intravaginal de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo copaíba ou barbatimão, está demonstrada na Tabela 2. Antes da inoculação experimental foram realizados suabes intravaginal e pode-se verificar que as aves já estavam contaminadas com a *Escherichia coli*. Isso pode ser explicado baseado no fato dessa bactéria fazer parte da microbiota intestinal da ave, no entanto, a inoculação foi realizada para aumentar o desafio de campo. No final do período experimental, quando aves já haviam sido alimentadas durante 12 semanas com rações contendo ou não os aditivos verificou-se a presença da *Escherichia coli*, nos suabes intravaginal, de todos os tratamentos.

Tabela 2 – Frequência de isolamento de *Escherichia coli* em suabes intravaginais de poedeiras comerciais alimentadas com dietas contendo óleo de copaíba ou extrato de barbatimão antes e após o período experimental

Período	Controle	Halquinol	Copaíba	Barbatimão
<b>Antes</b>	(2 <sup>*</sup> /5)** 40%	(3/5) 60%	(3/5) 60%	(2/5) 40%
<b>Final do exp.</b>	(2/5) 40%	(1/5) 20%	(1/5) 20%	(2/5) 40%

Antibiótico (Halquinol)= 0,04g/kg de ração, Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

\* Uma Amostra corresponde a um “pool” de 10 suabes.

\*\* Número de isolamentos positivos/ número de amostras analisadas.

No tratamento controle, no qual as aves foram alimentadas com rações sem aditivos antimicrobianos, a frequência de isolamentos de *Escherichia coli* nos suabes intravaginal permaneceu estável, ou seja, não houve redução da frequência da bactéria. No entanto, a frequência da presença de *Escherichia coli*, nos suabes intravaginal, reduziu para os tratamentos com antibiótico ou com o óleo-resina de copaíba após as aves serem alimentadas por um período de 12 semanas. Os tratamentos com antibiótico ou com óleo-resina de copaíba apresentaram menor presença dessa bactéria em relação ao tratamento controle (sem aditivos), 20% (1/5). Os resultados sugerem que a inclusão dos aditivos, antibiótico ou óleo-resina de copaíba nas rações experimentais podem ter contribuído para a redução da frequência de isolados de *Escherichia coli* nas amostras.

O tratamento com barbatimão apresentou presença de *Escherichia coli* em suabes intravaginal semelhante ao tratamento controle, em que a bactéria foi isolada em duas das cinco amostras analisadas 40% (2/5), em amostras coletadas antes da inoculação experimental. No entanto, após as aves serem alimentadas com ração com extrato de barbatimão, a frequência do isolamento da *Escherichia coli* se manteve estável, ou seja, não houve efeito benéfico do extrato de barbatimão para a redução da presença dessa bactéria em suabes intravaginal. Esse resultado sugere que a dose de barbatimão incluída na ração pode não ter sido suficiente para resultar em redução ou evitar a colonização da *Escherichia coli*. Desse modo, a capacidade dos taninos presente no barbatimão em alterar o metabolismo das membranas celulares de micro-organismos e formar complexos com íons metálicos, necessários ao metabolismo microbiano<sup>17</sup>, não foi observado nesta análise. O nível de extrato de barbatimão estudado nesta pesquisa foi baseado nos resultados obtidos por Moreira<sup>18</sup>, sendo que esse nível (178,4% tanino na ração) não influenciou o desempenho das aves.

Os resultados de pesquisa de *Escherichia coli* em amostras de folículos ovarianos e oviduto, no final do período experimental, estão apresentados na Tabela 3. Foi observado nos folículos ovarianos do tratamento com óleo-resina de copaíba, que a frequência

de isolados de *Escherichia coli* foi semelhante ao tratamento controle (sem aditivos) com 6,7% (1/15). Esses dados sugerem que o óleo-resina de copaíba não reduziu a contaminação dessa bactéria nos folículos, embora tenha reduzido nos suabes intravaginal.

Tabela 3 – Frequência de isolamento de *Escherichia coli* em folículos ovarianos e oviduto de poedeiras comerciais alimentadas com dietas contendo óleo de copaíba ou extrato de barbatimão, no final do período experimental

Tratamentos	Estrutura reprodutiva	
	Folículos	Oviduto
<b>Controle</b>	(1/15)** 6,7%	(1/15) 6,7%
<b>Antibiótico</b>	(2/15) 13,3%	(3/15) 20,0%
<b>Copaíba</b>	(1/15) 6,7%	(4/15) 26,7%
<b>Barbatimão</b>	(0/15) 0%	(2/15) 13,3%

Antibiótico (Halquinol)= 0,04g/kg de ração, Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração.

\*\* Número de isolamentos positivos/ número de amostras analisadas

Nas aves do grupo alimentadas com rações contendo antibiótico foi verificada a maior frequência da *Escherichia coli*, 13,3% (2/15) nos folículos ovarianos. No entanto, para as aves do tratamento com extrato de barbatimão não houve, em nenhuma das amostras, presença da *Escherichia coli* (0%).

Com relação ao estudo da presença de *Escherichia coli* no oviduto, todos os tratamentos apresentaram amostras positivas. O tratamento com óleo-resina de copaíba apresentou maior número de amostras positivas 26,7% (4/15) em relação ao tratamento controle 6,7% (1/15) ou com antibiótico 20,0% (3/15).

Com relação ao tratamento com barbatimão, foi observada menor quantidade de amostras positivas para *Escherichia coli* em relação ao tratamento com antibiótico, em que os tratamentos com barbatimão e com antibiótico, 13,33%(2/15) e 20%(3/15), respectivamente, das amostras de oviduto foram positivas para *Escherichia coli*. Assim, o tratamento com barbatimão demonstrou-se mais eficiente, quanto a sua ação antimicrobiana, em relação ao tratamento com antibiótico.

Nas condições experimentais proposta, aves velhas (64-76 semanas de idade) e desafiadas com *Escherichia coli*, a ocorrência da bactéria foi relativamente baixa quando se considera a quantidade de amostras analisadas. Porém, vale ressaltar que aves mais velhas são menos susceptíveis a contaminações, visto que possuem uma microbiota mais madura e um sistema imunológico mais eficiente<sup>19</sup>.

Em relação à frequência de isolamento de *Escherichia coli* nas diferentes estruturas dos ovos (Tabela 4), pode-se observar que a frequência de contaminação da

bactéria na casca foi maior, seguida da contaminação da gema, a qual foi maior do que do albúmen.

Tabela 4 – Frequência de isolamento de *Escherichia coli* em ovos de poedeiras comerciais alimentadas com dietas contendo óleo de copaíba ou extrato de barbatimão no período de 64 a 76 semanas

Período de produção	Controle	Halquinol	Copaíba	Barbatimão
<b>Casca*</b>				
1º período	(1/5)** 20%	(2/5) 40%	(0/5)	(0/5)
2º período	(1/5) 20%	(1/5) 20%	(0/5)	(1/5) 20%
3º período	(0/5)	(1/5) 20%	(0/5)	(0/5)
<b>Albúmen*</b>				
1º período	(0/5)	(1/5) 20%	(0/5)	(0/5)
2º período	(0/5)	(1/5) 20 %	(2/5) 40%	(0/5)
3º período	(0/5)	(0/5)	(0/5)	(0/5)
<b>Gema*</b>				
1º período	(0/5)	(1/5) 20%	(0/5)	(0/5)
2º período	(1/5) 20%	(1/5) 20%	(1/5) 20%	(1/5) 20%
3º período	(0/5)	(0/5)	(0/5)	(0/5)

Antibiótico (Halquinol)= 0,04g/kg de ração, Copaíba= 0,03g/kg de ração, Barbatimão= 0,04g/kg de ração, 1º período= 64 a 68 semanas, 2º período= 68 a 72 semanas, 3º período= 72 a 76 semanas.

\*Amostra corresponde a um “pool” de 4 ovos.

\*\* Número de isolamentos positivos/ número de amostras analisadas.

Esse resultado já era esperado, visto que ocorre maior incidência de contaminação na casca do ovo. A contaminação da casca do ovo pela bactéria pode ocorrer por via horizontal, com o contato do ovo com as fezes no momento da passagem do ovo pela cloaca<sup>20</sup> ou logo após a ovoposição, pois nos primeiros minutos a cutícula ainda é imatura e permite a penetração da *Escherichia coli*. No entanto, para que o agente permaneça na casca e migre para o conteúdo, ele deve vencer as barreiras intrínsecas, como a cutícula, membranas da casca e uma camada formada de material denso que delimita a membrana da casca e o albúmen. A bactéria também pode se alojar nas membranas e ser impedida de penetrar no conteúdo, pois as membranas da casca servem como filtros e retêm os microrganismos<sup>21</sup>. Provavelmente, estas barreiras intrínsecas contribuíram para menores índices de contaminação no conteúdo dos ovos quando comparado à frequência de detecção de *Escherichia coli* nas cascas.

Foi constatada a presença de *E.coli* na casca nos tratamentos controle, nos dois primeiros períodos, 20% (1/5), sendo que no terceiro período não foi encontrado a presença da bactéria. As cascas dos ovos das aves alimentadas com rações contendo antibiótico apresentaram maior frequência da bactéria no primeiro período, 40% (2/5), havendo redução

da frequência no segundo e no terceiro período, 20% (1/5). No entanto, os tratamentos com rações contendo óleo-resina de copaíba ou extrato de barbatimão eliminaram ou reduziram a presença da bactéria na casca dos ovos. Esses resultados sugerem que o antibiótico apresentou efeito positivo, provocando redução da presença da bactéria na casca e o óleo-resina de copaíba e o extrato barbatimão mostraram maior capacidade em reduzir a quantidade de bactérias em cascas de ovos.

Não foi observada contaminação do albúmen pela *Escherichia coli* nos tratamentos controle, ou com barbatimão no primeiro, segundo e terceiro período de produção. As amostras de albúmen do tratamento com óleo-resina de copaíba apresentaram-se positivas para a presença de *Escherichia coli* em 40% (2/5) das amostras apenas no segundo período de produção. Já nas amostras de albúmen do tratamento com antibiótico 20% (1/5) apresentaram positividade para a *Escherichia coli* no primeiro e segundo período de produção, não sendo verificada a ocorrência da bactéria no terceiro período de produção. Assim, foi observado que, embora as amostras de albúmen do tratamento com óleo-resina de copaíba tenham apresentado maior frequência de *Escherichia coli* em relação ao tratamento com antibiótico no segundo período de produção, os resultados mostram que a copaíba obteve resultados semelhantes ao antibiótico no último período estudado.

Pela análise dos resultados, houve menor número de isolados em amostras de albúmen, em relação às amostras de casca, ou gema. A baixa frequência de isolados em albúmen pode estar relacionada à atividade antimicrobiana de algumas proteínas encontradas no albúmen, como por exemplo, a lisozima, a ovotransferrina, ovomucina, dentre outras<sup>19</sup>.

A contaminação do albúmen pode ter ocorrido via oviduto, uma vez que foi observada a presença de *Escherichia coli* nessa estrutura, mesmo que em baixa frequência, e que a infecção na porção do oviduto pode levar a deposição do microorganismo no albúmen<sup>22</sup>. No entanto, vale ressaltar que a contaminação do albúmen via oviduto não é a principal via de contaminação no albúmen, sendo considerados fatores, como temperatura e armazenamento, os principais responsáveis pela contaminação<sup>23</sup>.

As amostras de gema apresentaram frequência de isolamento de *Escherichia coli* em todos os tratamentos em pelo menos um dos três períodos de produção estudados. Foi verificada a presença da bactéria em 20% (1/5) na gema e, apenas no segundo período de produção, nos tratamentos controle, com copaíba, ou com barbatimão. As amostras de gema do tratamento com antibiótico apresentaram positividade para *Escherichia coli* em 20% (1/5) no primeiro e segundo período de produção, e no último período de produção os resultados

foram semelhantes aos demais tratamentos, em que não foi observada a ocorrência de *Escherichia coli*.

Com esses resultados é possível sugerir que a contaminação observada em folículos pode não resultar em ovos com gemas contaminadas por *Escherichia coli*, visto que a frequência de isolamento da bactéria foi baixa nas amostras analisadas de gema. A gema constitui-se em um substrato adequado para a multiplicação bacteriana e, diferente das outras estruturas do ovo, não contém mecanismos que impeçam o desenvolvimento de bactérias<sup>24</sup>. Isso permite inferir que a contaminação pode ser oriunda do folículo ovariano infectado de aves portadoras inaparentes.

A contaminação do albúmen e da gema pode não estar relacionada à contaminação da casca, visto que a penetração de microorganismos via casca ocorre em maior frequência com o maior período de armazenamento. Os ovos utilizados para realização deste estudo foram coletados após a postura e mantidos em temperatura de aproximadamente 28°C por aproximadamente 24 horas. Assim, provavelmente, não houve tempo para que ocorressem alterações na membrana vitelínica, devido a liquefação do albúmen, que facilitaria a perda de íons de ferro e de nutrientes da gema para o albúmen, e com isso, atrair microorganismos<sup>25</sup>. Por outro lado, a contaminação da gema e do albúmen do ovo pode ter ocorrido no momento da formação do ovo. De acordo com Oliveira<sup>19</sup>, o contato das estruturas do ovo com patógenos pode ocorrer ainda no ovário ou no oviduto da ave (via transovariana/contaminação vertical), ou por relação direta com contaminantes fecais (via contaminação da casca/ contaminação horizontal).

### 3.4 Conclusões

A inclusão de 0,03 g/kg de ração de óleo-resina de copaíba em rações de poedeiras comerciais é recomendada, uma vez que a adição desse produto contribuiu para diminuir a frequência de isolados dessa bactéria nos folículos ovarianos e nos ovos.

É recomendada a inclusão de 0,04 g/kg de extrato de barbatimão em rações de poedeiras comerciais, para reduzir a contaminação de *Escherichia coli* nos folículos ovarianos, oviduto e ovos.

O uso do óleo-resina de copaíba ou do extrato de barbatimão reduziu a ocorrência de *Escherichia coli*, podendo substituir o antibiótico.

## REFERÊNCIAS

1. Aerts MML, Hogenboom AC, Brinkman UAT. Analytical strategies for the screening of veterinary drugs and their residues in edible products. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 1995; 667: 1-40.
2. Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J. Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:2184-5.
3. Hashemi SR, Davoodi H. Herbal Plants as New Immuno-stimulator in Poultry Industry. *Asian Vet J Anim Adv* [online]. 2011;7:105-16 [cited 2013 mai 7]. Available from: <http://scialert.net/qredirect.php?doi=ajava.2012.105.116&linkid=pdf>. ISSN: 1996-3289
4. Martins ER, Castro DM, Castellani DC, et al. Plantas medicinais. Viçosa: Editora UFV; 2000.
5. Toledo R S, Rocha AG, Farias RC. Uso de aditivos na produção avícola da teoria a prática. Simpósio Brasil Sul de Avicultura e Brasil Sul Poultry Fair: Anais do X Simpósio Brasil Sul de Avicultura e I Brasil Sul Poultry Fair; 2009; Chapecó. p. 15-31.
6. Pinto AC, Braga WF, Rezende CM, Garrido FMS, Veiga Júnior VF, Bergyer L, et al. Separation of acid diterpenes of *Copaifera cearensis* Huber ex Duke by flash chromatography using potassium hydroxide impregnated silica gel. *J Braz Chem Soc.* [Internet]. 2000 Jul [cited 2013 Jun 16]; 11(4): 355-60. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-5053200000400005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-5053200000400005). ISSN 0103-5053
7. Montes LV, Broseghini LP, Andreatta FS, Sant'anna ES, Neves VM, Silva AG. Evidências para o uso da óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. *Natureza online* [online]. 2009 [cited 2013 Dec 05]; 7(2):61-7. Available from: [http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/02\\_MontesLVetal\\_6167.pdf](http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/02_MontesLVetal_6167.pdf). ISSN 1806-7409
8. Veiga Júnior VF, Pinto AC. O gênero *Copaifera* L. *Quim Nova* [Internet]. 2002 Apr [cited 2013 Aug 22]; 25(2):273-86. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000200016>. ISSN 0100-4042
9. Costa AF. *Farmacognosia*. 3ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian; 1986.
10. Hernandez L, Pereira LMS, Palazzo F, Mello JCP. Wound-healing evolution of ointment from *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) in rat skin. *Braz J Pharma Science.* 2010; 46(3):431-7.
11. Brandão MGL, Zanetti NNS, Oliveira P, Graef CFF, Santos ACP, Monte Mór RLM. Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the Official Pharmacopoeia. *J Ethnopharmacol.* 2008;120:141–8.

12. Souza TM, Moreira RRD, Pietro RCLR, Isaac VLB. Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. Rev Bras Farmacogn. 2007; 17(1):71-5.
13. Haslam E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. J Nat Prod, Sheffield. 1996; 59(2):205-20. ISSN: 1520-6025
14. Ferreira AJP, Knöbl T. Colibacilose Aviária. In: Berchieri junior A, Macari M, editores. Doença das aves. Campinas: Facta; 2000. p.197-207
15. Cardoso ALSP, Tessari ENC, Castro AGM, Kanashiro AMI, Gama NMSQ. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de Descalvado. Arq Inst Biol (São Paulo). 2001; 68(1):19-22. ISSN: 1808-1657
16. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira R F, Lopes DC, et al. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais de Aves e Suínos (Tabelas Brasileiras). Viçosa: UFV - Imprensa Universitária; 2011.
17. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry. 1991; 30(12):3875-83. DOI: 10.1016/0031-9422(91)83426-L
18. Moreira JS. Extratos de barbatimão (*stryphnodendron adstringens*) e pacari (*lafoensia pacari*) em rações de poedeiras comerciais [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2014.
19. Oliveira BL. Qualidade e tecnologia de ovos. Lavras: Ed. UFLA; 2013.
20. Soares NM, Mesa DA. Manejo da água na produção de ovos. 2009 [hipertexto]. São Paulo: Infobibos, 2009. [acesso em: 12 mar 2014] Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_3/ovos/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/ovos/index.htm).
21. Ruiz J, Lunam CA. Ultrastructural analysis of the eggshell: contribution of the individual calcified layers and the cuticle to hatchability and egg viability in broiler breeders. Br Poult Sci. 2002; 41:584-92.
22. Leal D. Práticas adotadas pelo consumidor na compra e utilização do ovo na alimentação [Dissertação]. Piracicaba: Universidade de São Paulo; 2011.
23. Freitas LW, Paz ICLA, Garcia RG, Caldara FR, Seno LO, Felix GA, et al. Aspectos qualitativos de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento. Rev Agrarian. 2011; 4(11):66-72. ISSN: 1984-2538
24. Tranter HS, Board RG. The inhibition of vegetative cell outgrowth and division from spores of *Bacillus cereus* T by hen egg albumen. J Appl Bacteriol. 1982; 52:67-74. 1982.
25. Gantois I, Eeckhaut V, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R, Van Immerseel FA. Comparative study on the pathogenesis of egg contamination by different serotypes of *Salmonella*. Avian Pathol. 2008; 37(4):399-406.

## **CAPÍTULO 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A realização deste trabalho é fundamentada na crescente preocupação em realizar a substituição dos antibióticos na avicultura de postura, sem que haja prejuízo ao desempenho animal e ainda não represente risco a saúde humana.

Produtos extraídos de plantas, como o óleo-resina de copaíba e o extrato de barbatimão, tem se revelado excelentes alternativos ao uso dos antibióticos, devido aos seus vários efeitos positivos. Os efeitos desses fitogênicos são atribuídos aos diversos compostos, que agem individualmente ou em conjunto, presentes em suas estruturas.

Na avicultura de postura, o óleo-resina de copaíba e o extrato de barbatimão, têm sido testados quanto ao seu potencial antimicrobiano, além de seus efeitos como antioxidante. No entanto, existe uma grande variação nos resultados encontrados, sugerindo a realização de mais estudos para melhor elucidar os efeitos desses fitogênicos. A grande variação dos resultados encontrados estão relacionados com o modo de ação das substâncias presentes nas diferentes formas disponíveis de copaíba e de barbatimão, além da ausência de metodologias mais eficientes e padronizadas, dificultando com isso o aproveitamento adequado desses fitogênicos.

A utilização do óleo-resina de copaíba e do extrato de barbatimão proporcionou alterações em algumas variáveis utilizadas para testar o potencial antimicrobiano desses fitogênicos, sugerindo a utilização desses em substituição aos antibióticos utilizados na alimentação de poedeiras comerciais.