

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

RENATA GOMES DA SILVEIRA DEMINICIS

**ÓLEOS ESSENCIAIS COMO ALTERNATIVAS AOS ANTIMICROBIANOS MELHORADORES DE
DESEMPENHO PARA CODORNAS DE CORTE**

ILHÉUS – BAHIA

2021

RENATA GOMES DA SILVEIRA DEMINICIS

**ÓLEOS ESSENCIAIS COMO ALTERNATIVAS AOS ANTIMICROBIANOS MELHORADORES DE
DESEMPENHO PARA CODORNAS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal, Área de Conhecimento Clínica e Sanidade Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Bianca Mendes Maciel

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Meneghetti

**ILHÉUS – BAHIA
JUNHO DE 2021**

D381

Deminicis, Renata Gomes da Silveira.

Óleos essenciais como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho para codornas de corte / Renata Gomes da Silveira Deminicis. – Ilhéus, BA: UESC, 2021. 140 f. : il.; anexos.

Orientador: Bianca Mendes Maciel.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Inclui referências.

1. Codornas – Criação. 2. Menta (Planta). 3. Agentes anti-infecciosos. 4. Óleo de melaleuca. I. Título.

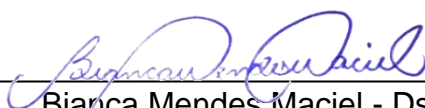
CDD 636.59

RESERVADO PARA A FICHA CATALOGRÁFICA

RENATA GOMES DA SILVEIRA DEMINICIS

ÓLEOS ESSENCIAIS COMO ALTERNATIVAS AOS ANTIMICROBIANOS MELHORADORES DE DESEMPENHO PARA CODORNAS DE CORTE

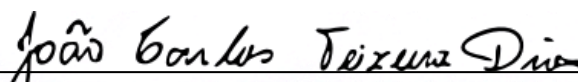
ILHÉUS-BA, 22/06/2021



Bianca Mendes Maciel - Dsc
UESC/ DCB
(Orientadora)



Camila Meneghetti - Dsc
UESC/ DCAA
(Coorientadora)



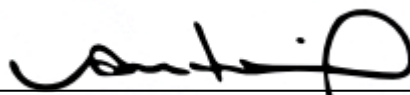
João Carlos Teixeira Dias - Dsc
UESC/DCB



Antônio Amandio Pinto Garcia Júnior - Dsc
UESB/DTRA



Franz Dias Gois - Dsc
A Rambo Integradora



Adolpho Marlon Antoniol de Moura - Dsc
Bio-Manguinhos/Fiocruz

“O reconhecimento é a melhor forma de estimular alguém”.

Mario Sergio Cortella

À minha Mãe e ao meu Pai,

A minha irmã,

Ao meu marido e a minha filha,

com muito amor e carinho

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por nunca faltar em minha vida.

Aos meus pais, que desde o meu primeiro suspiro nunca deixaram de acreditar que eu seria uma pessoa vitoriosa, e mesmo distantes, por que eu moro longe, sempre encontraram meios de poderem participar e contribuir à minha vida acadêmica, proporcionando conhecimentos práticos de suas vivências no meio rural. Sou eternamente grata. Amo vocês!

À cidade de Ilhéus, por sua história e receptividade, onde as belezas de sua natureza me trouxeram inspiração e coragem para encarar o dia-a-dia com leveza e alegria.

À Universidade Estadual de Santa Cruz, pela oportunidade de realização do curso e por ter me recebido de portas abertas.

À minha Orientadora Prof^a. Dr^a. Bianca Mendes Maciel, pela amizade, pelos ensinamentos e pelo acolhimento permitindo que eu pudesse concluir essa jornada com sucesso. Agradeço por seu carinho, atenção e conselhos, aos quais levarei para minha vida. Minha trajetória foi sinuosa, mas você me deu a mão e me mostrou que era possível acreditar em meus objetivos. Você reacendeu a luz da esperança que em mim havia se apagado e deixou o caminho mais brilhante, mostrando que é possível acreditar.

À minha Coorientadora Prof^a. Dr^a. Camila Meneghetti, por estar ao meu lado desde o início dessa trajetória, onde nas horas mais desgastantes, suas palavras sempre me restabeleceram a paz. Seu incentivo e reconhecimento foram essenciais para que eu conseguisse seguir no desenvolvimento deste estudo, sou grata pelo apoio, pela amizade, pelas sugestões, pela orientação e por ter confiado no meu trabalho, se cheguei até aqui, foi porque tive você com quem contar.

Ao Prof. Dr. Antônio Amândio Pinto Garcia Júnior, pela amizade, cuidado, paciência, incentivo e atuação na concretização dos trabalhos, sua disposição em ajudar foi fundamental para a concretização desta tese.

Ao Prof. Ronaldo Vasconcelos Farias Filho, pelos ensinamentos aos quais foram cruciais para o desenvolvimento desta pesquisa, pela disponibilidade de ajudar sempre, paciência, amizade,

e por ter confiado em meu trabalho e aberto as portas das instalações do Laboratório Experimental de Avicultura da UESB, em Itapetinga, para a plena realização deste estudo.

Aos amigos Gilmara, Elizângela, Gabriel, Franz, Ivanildo, Hortência, Rafaela (s), Miriam, Thaíse, Maria Aparecida, Eliege e Hackson, pela amizade durante essa jornada, onde o companheirismo e a vontade de ajudar fizeram com que os dias se tornassem mais leves.

A meu esposo Bruno, por todo o seu amor, carinho, entusiasmo, e pela presença incansável com que me apoiou ao longo do período de elaboração desta tese. Eu te agradeço também pela concretização de um sonho - nossa filha, ela que desde o ventre, sem saber, me acompanhou e ajudou na realização deste trabalho.

A minha irmã Carla que desde que me entendo por gente, sempre esteve junto comigo. Amiga, conselheira, cuidadora, parceira de todas as horas que sempre se fez presente mesmo estando a quilômetros de distância. Obrigada pelo seu carinho, pelo seu bom humor, pelo seu ombro amigo. Obrigada Mana!

Aos alunos de Iniciação Científica Sarah, Andreia e Salvador, por estarem sempre dispostos a aprender e a atender as demandas que surgiam (que não foram poucas), agradeço a vocês imensamente pela amizade, pela disposição, pela atenção na condução dos experimentos seguindo sempre à risca o que lhes foram solicitados, sem a participação de vocês as coisas teriam sido muito difíceis, talvez eu nem pudesse ter escrito esta tese.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA - UESC), em especial ao servidor Eduardo Viana Góes por sua cortesia e disponibilidade, e aos professores que por meio de seus ensinamentos, conduziram ao meu progresso na formação acadêmica e profissional.

Aos colegas, funcionários e responsáveis dos laboratórios de Bactérias Anaeróbicas, Microbiologia, Histopatologia Veterinária, Microscopia Eletrônica e Análises Clínicas, em especial aos Professores Fabiana Lessa, Juneo Silva, Eduardo Gross e Alexandre Munhoz, aos funcionários Fabiana, Ivo, Lorena e Gabriela e as colegas de doutoramento Aisla e Hllytchaikra. A todos meus sinceros agradecimentos.

Aos funcionários e estagiários da UESB, *campus* Itapetinga, do Laboratório Experimental de Avicultura, em especial ao Reginaldo, Priscila e Roberto. À Unidade Experimental de Caprino e Ovinos, em especial a Prof.^a Dr.^a Cristiane Leal dos Santos Cruz.

Aos membros componentes da banca examinadora, pela avaliação do trabalho, e sugestões fornecidas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos, Código de Financiamento 001.

E a todos aqueles que não foram citados, mas que direta ou indiretamente contribuíram na realização desse trabalho.

Muito obrigada

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	8
Figure 1. Carcass characteristic of broilers in different studies comparing the use of control diets (CON.), phytogetic feed additives (PHY) and antibiotics (ANTI).	18
Figure 2. Bacteria present in the intestine of broilers in different studies comparing the use of control diets, phytogetic feed additives and antibiotics.	19
CAPÍTULO II	25
Figura 1. Cromatograma de óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> realizado usando um cromatograma de gás espectrometria de massa Agilent 7820A equipado com uma coluna Supelcowax 10-15m x 0,2mm x 0,2 µm (Supelco). 1. α-pineno; 2. β-pineno; 3. limoneno; 4. 1,8-cineol; 5. mentona; 6. mentofurano; 7. isomentona; 8. acetato de mentila; 9. Isopulegol; 10. neo-isomentol; 11. pulegona; 12. mentol; 13. piperitona.	33
Figura 2. Cromatograma de óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> realizado usando um cromatograma de gás espectrometria de massa Agilent 7820A equipado com uma coluna Supelcowax 10-15m x 0,2mm x 0,2 µm (Supelco). 1. α-tujeno; 2. α-pineno; 3. canfeno; 4. β-pineno; 5. mirceno; 6. α-felandreno; 7. α-terpineno; 8. p-cimeno; 9. limoneno; 10. 1,8-cineol; 11. γ-terpineno; 12. terpinoleno; 13. terpinen-4-ol; 14. α-terpineol; 15. β-gurjuneno; 16. viridiflorino; 17. cis-calameno	34
Figura 3. Cromatograma de óleo essencial de <i>Baccharis trimera</i> realizado usando um cromatograma de gás espectrometria de massa Agilent 7820A equipado com uma coluna Supelcowax 10-15m x 0,2mm x 0,2 µm (Supelco). 1. sabineno; 2. β-pineno; 3. mirceno; 4. eucaliptol; 5. limoneno; 6. E-β-ocimeno; 7. carquejol; 8. acetato de carquejila; 9. β-elemeno; 10. germacreno; 11. δ-cadineno; 12. biciclogermacreno; 13. elemol; 14. ledol; 15. espatulenol; 16. epiglobulol; 17. oxido de humuleno; 18. β-eudesmol.	35
Figura 4. Cromatograma de óleo essencial de <i>Citrus bergamia</i> realizado usando um cromatograma de gás espectrometria de massa Agilent 7820A equipado com uma coluna Supelcowax 10-15m x 0,2 mm x 0,2 µm (Supelco). 1. α-pineno; 2. sabineno; 3. β-pineno; 4. mirceno; 5. p-cimeno; 6. limoneno; 7. γ-terpineno; 8. linalol; 9. nerol; 10. acetato de linalila; 11. acetato geranila; 12. β-bourboneno; 13. α-bergamoteno.	37
Figura 5. Placas de noventa e seis poços com a técnica de microdiluição em caldo após adição de resazurina sódica para determinar a concentração inibitória mínima dos óleos essenciais de <i>M. piperita</i> (MP), <i>M. alternifolia</i> (MA), <i>B. trimera</i> (BT) e <i>C. bergamia</i> (CB) em concentrações de 50; 25; 12.5; 6.25; 3.12; e 1.56 (mg/mL), nas cepas de (A) <i>E. coli</i> , (B) <i>S. aureus</i> and (C) <i>S. Enteritidis</i>	41

CAPÍTULO IV 72

Figura 1. Alterações dos Filos. a) Abundância relativa (%) de todos os filios das bactérias de acordo com o tratamento, b) Abundância relativa (%) de Firmicutes e Actinobactéria (%). As amostras estão apresentadas como média, n = 4, p <0,05. 81

Figura 2. Alterações de Gênero. a) Todos os gêneros de acordo com o tratamento. b) Abundância relativa (%) de *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Streptococcus* (%) e de *Bifidobacterium* (%). As amostras estão apresentadas como média, n = 4, p <0,05. Outros*. Correspondem aos gêneros *Aerococcus*, *Agrobacterium*, *Anaerotruncus*, *Arthrobacter*, *Bacteroides*, *Barnesiella*, *Blautia*, *Bosea*, *Butyricicoccus*, *Clostridium*, *Dietzia*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Faecalicoccus*, *Fusobacterium*, *Globicatella*, *Helicobacter*, *Jeotgalicoccus*, *Kurthia*, *Lachnoclostridium*, *Lactococcus*, *Luteimonas*, *Methanobrevibacter*, *Ochrobactrum*, *Paracoccus*, *Pseudoclavibacter*, *Ralstonia*, *Rothia*, *Ruminiclostridium*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* e *Weissella*. 83

Figura 3. Alterações de Espécies. a) Todas as Espécies Patogênicas em trato gastrointestinal de codornas de corte alimentadas com rações contendo diferentes aditivos antimicrobianos (controle, Bacitracina de zinco, e os OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*). b) Abundância relativa (%) de *Enterococcus cecorum*, *Enterococcus faecalis* e *Corynebacterium stationis* (%). Tabela contendo Espécies com abundância relativa > 0,05. Outros*: correspondem as espécies patogênicas *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus gallolyticus*, *Bosea thiooxidans*, *Fusobacterium mortiferum*, *Pseudoclavibacter faecalis*, *Staphylococcus lentus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus pluranimalium*, [*Clostridium*] *clostridioforme*, *Aerococcus viridans*, *Rothia nasimurium*, *Corynebacterium terpenotabidum*, *Streptococcus infantarius*, *Methanobrevibacter woesei*, *Corynebacterium falsenii*, *Dietzia maris*, *Enterobacter cloacae*, *Corynebacterium variabile*, *Anaerotruncus colihominis*, *Ralstonia pickettii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Ochrobactrum anthropi*, *Globicatella sanguinis*, *Brevibacterium senegalense*, *Enterococcus avium*, *Enterobacter hormaechei*, *Streptococcus hyovaginalis*, *Helicobacter pullorum* e *Enterococcus casseliflavus*. 85

Figura 4. Alterações de Espécies. a) Todas as Espécies Não – Patogênicas em trato gastrointestinal de codornas de corte alimentadas com rações contendo diferentes aditivos antimicrobianos (controle, Bacitracina de zinco, e os OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*). b) Abundância relativa (%) de *Lactobacillus aviarius*, *Lactobacillus agilis*, *Streptococcus macedonicus* e *Bifidobacterium saeculare*. Tabela contendo Espécies com abundância relativa (%) > 0,05. Outros*: correspondem as bactérias não- patogênicas *Lactobacillus reuteri*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Kurthia zopfii*, *Butyricicoccus pullicaecorum*, *Lactococcus lactis*, *Bacteroides coprophilus*, *Arthrobacter protophormiae*, *Bacteroides*

salanitronis, *Corynebacterium freneyi*, *Paracoccus thiocyanatus*, *Bacteroides coprocola*, *Barnesiella intestinihominis*, *Bifidobacterium gallinarum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Enterococcus mundtii*, *Jeotgalicoccus huakuii*, *Lactobacillus vaginalis*, *Bacteroides uniformis*, [*Clostridium*] *leptum*, *Lactobacillus ingluviei*, *Blautia glucerosea*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus equinus*, *Bacteroides barnesiae*, *Clostridium ruminantium*, *Bacteroides plebeius*, *Weissella thailandensis*, *Weissella paramesenteroides* e *Corynebacterium nuruki*. 86

Figura 5. Fotomicrografias do duodeno (A), jejuno (B) e íleo (C) dos tratamentos a – controle, b- bacitracina, c- *M. piperita* e d- *M. alternifolia* utilizadas para tomada de medidas para análise histomorfométrica identificadas por técnica de PAS..... 88

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I	8
Table 1. Plant species used as an alternative to antibiotics performance enhancers in broiler nutrition.	12
Table 2. Histomorphology of the intestinal wall of broilers in different studies comparing the use of control diets, phytogetic feed additives and antibiotics.	15
Table 3. Biochemical profile of the blood of broilers in different studies comparing the use of control diets, phytogetic feed additives and antibiotics.....	17
CAPÍTULO II	25
Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais de <i>Mentha piperita</i> , <i>Melaleuca alternifolia</i> , <i>Baccharis trimera</i> e <i>Citrus bergamia</i>	39
Tabela 2. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos* das cepas de <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. Enteritidis</i>	40
Tabela 3. Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) em mg / mL dos óleos essenciais de <i>M. piperita</i> , <i>M. alternifolia</i> , <i>B. trimera</i> e <i>C.bergamia</i> contra cepas de <i>E. coli</i> , <i>S. Enteritidis</i> e <i>S. aureus</i>	42
Tabela 4. Concentrações bactericidas mínimas (CBM) dos óleos essenciais de <i>Mentha piperita</i> , <i>Melaleuca alternifolia</i> , <i>Baccharis trimera</i> e <i>Citrus bergamia</i> contra cepas de <i>E. coli</i> , <i>S. Enteritidis</i> e <i>S. aureus</i>	45
CAPÍTULO III	57
Tabela 1. Padrões de resistência a antibióticos de oito sorovares de <i>Salmonella</i> spp.	64
Tabela 2. Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) e Concentrações Bactericidas Mínimas (CBM) em mg/mL do óleo essencial de <i>M. piperita</i> , frente a cepas de <i>Salmonella</i> spp.	65
CAPÍTULO IV	72
Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais*	77
Tabela 2. Área das vilosidades, altura das vilosidades, profundidade da cripta, relação de criptas por vilosidade, relação de largura x altura das vilosidades e altura da musculatura intestinal em codornas de corte aos 42 dias de idade, alimentadas com dietas contendo OLES. .	89
CAPÍTULO V	102
Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais*	107
Tabela 2. Ganho de peso médio diário (GPD) nas fases de criação (1 a 21; 22 a 42) e no período total de crescimento (1 a 42 dias) de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de <i>M. piperita</i> e de <i>M. alternifolia</i>	110
Tabela 3. Consumo total de ração (CR) nas fases de criação e no período total de crescimento (1 a 42 dias) de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de <i>M. piperita</i> e de <i>M. alternifolia</i>	111

Tabela 4. Conversão alimentar (CA) nas fases de criação e índice de eficiência produtiva (IEP) no período total de crescimento (1 a 42 dias) e de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de <i>M. piperita</i> e de <i>M. alternifolia</i>	112
Tabela 5. Rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça resfriada (RCF) e peso relativo de órgãos de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de <i>M. piperita</i> e de <i>M. alternifolia</i>	113
Tabela 6. Médias do pH, capacidade de retenção de água (CRA), perda de peso por cozimento (PPC), luminosidade (L*), faixa de cor para o vermelho (a*) e faixa de cor para o amarelo (b*) no peito de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de <i>M. piperita</i> e de <i>M. alternifolia</i>	114
Tabela 7. Valores médios obtidos para colesterol total (CT), HDL e triglicérides (TG) no sangue de codornas submetidas a diferentes dietas contendo OLES.	116

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	5
2. OBJETIVOS	7
2.1. Objetivo geral	7
2.2. Objetivos específicos.....	7
3. CAPÍTULO I.....	8
SYSTEMATIC REVIEW OF THE USE OF PHYTOBIOTICS IN THE POULTRY NUTRITION	8
ABSTRACT	9
RESUMO.....	9
INTRODUCTION.....	10
MATERIAL AND METHODS	11
RESULTS AND DISCUSSION	11
CONCLUSIONS	20
ACKNOWLEDGMENT.....	20
REFERENCES	20
4. CAPÍTULO II.....	25
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AÇÃO ANTIBACTERIANA DE QUATRO ÓLEOS ESSENCIAIS DIANTE DE CEPAS BACTERIANAS PATOGÊNICAS	25
RESUMO.....	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	27
MATERIAL E MÉTODOS	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
CONCLUSÃO.....	47
AGRADECIMENTOS	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
5. CAPÍTULO III.....	57
TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE BACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Mentha piperita</i> FRENTE A SOROVARES DE <i>Salmonella</i> spp.....	57
RESUMO.....	58
ABSTRACT	59
INTRODUÇÃO	60
MATERIAL E MÉTODOS	61
RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
CONCLUSÃO.....	66

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
6. CAPÍTULO IV	72
COMPOSIÇÃO, DIVERSIDADE DO MICROBIOMA E MORFOMETRIA INTESTINAL DE CODORNAS ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS	72
RESUMO.....	73
ABSTRACT	74
INTRODUÇÃO	75
MATERIAL E MÉTODOS	76
RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
CONCLUSÃO.....	92
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
7. CAPÍTULO V	102
DESEMPENHO, QUALIDADE DA CARNE E LIPIDEMIA DE CODORNAS DE CORTE ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS.....	102
RESUMO.....	103
ABSTRACT	104
INTRODUÇÃO	105
MATERIAL E MÉTODOS	106
RESULTADOS E DISCUSSÃO	110
CONCLUSÃO.....	118
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
8. CONCLUSÃO GERAL.....	123
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS – GERAL.....	124
ANEXO A	140

RESUMO

DEMINICIS, Renata Gomes da Silveira. **Óleos essenciais como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho para codornas de corte.** Ilhéus, BA: UESC, 2021. Tese. (Doutorado em Ciência Animal). *

As recentes mudanças de paradigma sobre a eficiência na produção de alimentos têm aumentado a preocupação com o desenvolvimento de microrganismos patogênicos resistentes aos antimicrobianos em humanos. Assim, pesquisas para alternativas efetivas ao uso de antibióticos na produção avícola têm sido realizadas para melhorar a saúde e o bem-estar animal, provocando grande interesse tanto econômico quanto para a Saúde Pública, devido à capacidade desses compostos de melhorar o desempenho zootécnico mantendo um ambiente intestinal saudável e livre do uso de antibióticos. Para o Brasil, pesquisas neste tema são de grande importância, uma vez que é um país líder em exportação de carne de aves. Esta tese está dividida em cinco estudos, no primeiro foi realizado levantamento bibliográfico utilizando as palavras-chave: “eubióticos”, “fitobióticos”, “óleos essenciais”, “extratos fitogênicos”, frango de corte e suas correspondentes em inglês. Após comparações de diversos parâmetros sobre o uso ou não uso de fitogênicos, verificou-se que a substituição dos antibióticos pelos fitogênicos pode ser considerada positiva para o desempenho, histomorfologia da parede intestinal, perfil bioquímico do sangue, característica de carcaça e número de bactérias encontradas no intestino. No segundo estudo foram identificados os compostos químicos dos OLES de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia*, e foi avaliada a ação antimicrobiana destes OLES e de 16 antibióticos comercializados no Brasil, sobre cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *S. Enteritidis*. Os compostos majoritários de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia*, foram respectivamente: mentol (45%); terpinen-4-ol (42,5%) e acetato de carquejila (62,9%), acetato de linalila (40,6%). Para *E. coli* a concentração inibitória mínima (CIM) observada foi 6,25; 25; 50 e 12,5, para *S. aureus*, a CIM observada foi 3,12; 6,25; 50 e 12,5; para *S. Enteritidis* a CIM observada foi 6,25; 12,5; 12,5 e 25 mg/mL para *M. piperita*; *M. alternifolia*; *B. trimera*; *C. bergamia*, respectivamente. Para *E. coli* a CBM observada foi 6,25; 25; 50 e 12,5, para *S. aureus* a CBM observada foi 12,50; 50; 50; 50, para *S. Enteritidis* a concentração bactericida mínima (CBM) observada foi 6,25; 12,5; 12,5 e 25 mg/mL para *M. piperita*; *M. alternifolia*; *B. trimera*; *C. bergamia*, respectivamente. No terceiro estudo, foi analisada a susceptibilidade bacteriana de *Salmonella* spp., compreendendo oito sorovares; sendo determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *M. piperita*. A susceptibilidade aos antibióticos (antibiograma) foi determinada pelo método de disco-difusão em ágar Mueller-Hinton. A atividade antimicrobiana do óleo essencial foi avaliada pela determinação da CIM e pela CBM. 50% dos sorovares de *Salmonella* apresentaram resistência à 66,66% dos antibióticos utilizados. Verificou-se que 62,5% dos sorovares sofreram efeito bacteriostático e 37,5% dos sorovares sofreram efeito bactericida à concentração de 1,56 mg/mL de óleo essencial de *M. piperita*. No quarto estudo, foi analisado o efeito do uso dos OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* sobre morfometria e o microbioma intestinal de codornas de corte, sob condições normais de alimentação. Para o estudo da morfometria intestinal foi utilizado o delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial: quatro rações experimentais x três segmentos do intestino (4x3), com cinco repetições. Para o estudo do microbioma foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo 4 tratamentos (controle, bacitracina de zinco e OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*), com 8

repetições de 7 aves totalizando 224 aves na fase de 1 a 42 dias. O uso de *M. alternifolia* (50 mg/kg de ração) na dieta das codornas de corte promoveu melhores resultados para morfometria intestinal se equivalendo ao uso de Bacitracina de zinco. O uso de *M. piperita* e *M. alternifolia* alterou o microbioma gastrointestinal das codornas de corte e reduziu a diversidade bacteriana patogênica em relação ao controle. No quinto estudo, objetivou-se avaliar o efeito do uso dos OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* sobre desempenho, qualidade da carne e lipidemia de codornas de corte. Para o estudo do desempenho e qualidade da carne foi utilizado DIC sendo 4 tratamentos com 8 repetições de 7 aves. Para o estudo da lipidemia utilizou-se o DIC em esquema fatorial: 4x2, sendo quatro tratamentos (Controle, Bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia*), e duas condições de coleta (com e sem jejum de 12 horas), com oito repetições, sendo uma ave por repetição. O uso de aditivos fitogênicos à base de OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* na dieta de codornas de corte, pode proporcionar desempenhos zootécnicos, rendimentos de carcaça quente e resfriada, pesos relativos dos órgãos, bem como características de qualidade da carne comparáveis ao uso de antibióticos promotores de crescimento. A Bacitracina de zinco e os OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* não alteraram o nível sérico de colesterol total, triglicerídeos e o peso das aves. Houve redução no HDL nas aves tratadas com Bacitracina de zinco e com os OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*, em 8,12; 16,52 e 3,36% respectivamente. O uso da Bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia* associado às diferentes condições de coleta não aumentaram os valores séricos de LDL e VLDL. Os coeficientes de variação da condição “após 12 horas de jejum” apresentaram-se 86% inferiores à condição “sem jejum”. O uso de OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* na dieta de codornas de corte, pode proporcionar desempenhos zootécnicos, rendimentos de carcaça quente e resfriada, pesos relativos dos órgãos, bem como características de qualidade da carne equivalentes ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho.

Palavras-chave: *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera* e *Citrus bergamia*.

ABSTRACT

DEMINICIS, Renata Gomes da Silveira. **Essential oils as alternatives to performance-enhancing antimicrobials for meat quail.** Ilhéus, BA: UESC, 2021. Thesis. (Doctorate in Animal Science). *

Recent paradigm shifts about efficiency in food production have increased the concern with the development of antimicrobial-resistant pathogenic microorganisms in humans. Thus, research for effective alternatives to the use of antibiotics in poultry production has been carried out to improve animal health and welfare, causing great interest both economic and for Public Health, due to the ability of these compounds to improve zootechnical performance while maintaining a healthy and antibiotic-free intestinal environment. For Brazil, research on this topic is of great importance, since it is a leading country in poultry meat exports. This thesis divided into five studies, in the first one a bibliographic survey carried out using the keywords: “eubiotics”, “phytobiotics”, “essential oils”, “phytogenic extracts”, broiler chicken and their English counterparts. After comparing several parameters on the use or not use of phytochemicals, it found that the replacement of antibiotics by phytochemicals considered positive for performance, histomorphology of the intestinal wall, biochemical profile of the blood, carcass characteristic and number of bacteria found in the intestine. In the second study, the chemical compounds of the ESOL of *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimeria* and *C. bergamia* identified, and the antimicrobial action of these ESOL and 16 antibiotics commercialized in Brazil on *E. coli* strains evaluated. *S. aureus* and *S. Enteritidis*. The major compounds of *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimeria* and *C. bergamia*, were respectively: menthol (45%), terpinen-4-ol (42.5%) and carquejila acetate (62.9%), linalyl acetate (40.6%). For *E. coli* the minimum inhibitory concentration (MIC) was 6.25; 25; 50 and 12.5, for *S. aureus*, the MIC observed was 3.12; 6.25; 50 and 12.5; for *S. Enteritidis* the MIC observed was 6.25; 12.5; 12.5 and 25 mg / mL for *M. piperita*; *M. alternifolia*; *B. trimeria*; *C. bergamia*, respectively. For *E. coli* the observed MBC was 6.25; 25; 50 and 12.5, for *S. aureus* the observed MBC was 12.50; 50; 50; 50, for *S. Enteritidis* the observed minimal bactericidal concentration (MBC) was 6.25; 12.5; 12.5 and 25 mg / mL for *M. piperita*; *M. alternifolia*; *B. trimeria*; *C. bergamia*, respectively. The antibiotics tested showed 80% efficiency, 20% showed intermediate efficiency and none were resistant against the *S. Enteritidis* strain. For *E. coli*, 66.67% of the tested antibiotics showed efficiency, 13.33% showed intermediate efficiency and 20% were resistant. For *S. aureus*, 40% of the tested antibiotics were efficient, 33.33% had intermediate efficiency and 26.67% were resistant. In the third study, the bacterial susceptibility of *Salmonella* spp. analyzed, comprising eight serovars; being determined the MIC and MBC of the ESOL of *M. piperita*. The susceptibility to antibiotics (antibiogram) determined by the disk-diffusion method on Mueller-Hinton agar. The antimicrobial activity of the essential oil assessed by the determination of MIC and MBC. *Salmonella* serovars showed 50% of resistance to 66.66% of the antibiotics used. It found that 62.5% of serovars suffered a bacteriostatic effect and 37.5% of serovars suffered a bactericidal effect at the concentration of 1.56 mg / mL of essential oil of *M. piperita*. In the fourth study, the effect of using ESOL of *M. piperita* and *M. alternifolia* on intestinal morphometry and microbiome of meat quails analyzed, under normal feeding conditions. For the study of intestinal morphometry, a completely randomized design used, in a factorial scheme: four experimental diets x three segments of the intestine (4x3), with five repetitions. For the study of the microbiome, a completely randomized design (CRD) used, with four treatments (control, zinc bacitracin and ESOL of *M. piperita* and *M. alternifolia*), with eight replications of seven

birds totaling 224 birds in the phase from one to 42 days. The use of *M. alternifolia* (50 mg / kg of feed) in the diet of broiler quail promoted better results for intestinal morphometry, equivalent to the use of zinc bacitracin. The use of *M. piperita* and *M. alternifolia* altered the gastrointestinal microbiome of the cut quails in a negative way in relation to the pathogenic bacteria, but reduced the pathogenic bacterial diversity in relation to the control. In the fifth study, this study aimed to evaluate the effect of using ESOL of *M. piperita* and *M. alternifolia* on performance, meat quality and lipidemia of meat quails. For the study of performance and meat quality, CRD used, with four treatments with eight repetitions of seven birds. For the study of lipidemia, the CRD was used in a factorial scheme: 4x2, with four treatments (Control, Zinc Bacitracin, *M. piperita* and *M. alternifolia*), and two collection conditions (with and without a 12-hour fast), with eight repetitions, one bird per repetition. The use of phytogetic additives based on ESOL of *M. piperita* and *M. alternifolia* in the diet of meat quails, can provide zootechnical performances, hot and cooled carcass yields, relative weights of the organs, as well as meat quality characteristics comparable to use of growth-promoting antibiotics. The zinc bacitracin and the ESOL of *M. piperita* and *M. alternifolia* did not alter the serum level of total cholesterol, triglycerides and the weight of the birds. There was a reduction in HDL in birds treated with zinc bacitracin and with ESOL of *M. piperita* and *M. alternifolia*, in 8.12, 16.52 and 3.36% respectively. The use of zinc Bacitracin, *M. piperita* and *M. alternifolia* associated with different collection conditions did not increase serum LDL and VLDL values. The coefficients of variation of the condition "after 12 hours of fasting" were 86% lower than the condition "without fasting". The use of ESOL from *M. piperita* and *M. alternifolia* in the diet of beef quails can provide zootechnical performance, hot and cooled carcass yields, relative organ weights, as well as meat quality characteristics equivalent to the use of antibiotics that improve meat performance.

Key words: *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera* e *Citrus bergamia*.

1. INTRODUÇÃO

O uso excessivo e indiscriminado dos antibióticos na alimentação animal, associado às recentes mudanças de paradigma sobre a eficiência na produção de alimentos, têm aumentado a preocupação com o desenvolvimento de microrganismos patogênicos resistentes aos antimicrobianos em humanos (STANTON, 2013).

Desta forma, houve proibição da utilização de antibióticos como melhorador de desempenho na União Europeia e na América do Norte, conseqüentemente substâncias não-antibióticas com potencial de promoção do crescimento começaram a receber mais atenção. Pesquisas para alternativas efetivas, com antimicrobianos alimentares diretos; probióticos; ácidos orgânicos; enzimas e aditivos fitogênicos, têm sido realizadas (HASSAN et al. 2015; PARASKEUAS et al. 2017)

Os benefícios dos aditivos fitogênicos para os animais podem estar relacionados ao aumento das secreções digestivas, melhora da digestibilidade e absorção dos nutrientes, modificação do microbioma intestinal, estimulação do sistema imune e atividades antibacterianas, coccidiostáticas, antihelmínticas, anti-viral ou anti-inflamatória e propriedades antioxidantes (COSTA et al. 2011).

Na nutrição animal os aditivos fitogênicos se transformaram numa forma útil para melhorar a saúde e o bem-estar dos animais e tem provocado um grande interesse devido à sua capacidade de melhorar o desempenho, mantendo um ambiente intestinal saudável (PUVAČA et al. 2013; MURUGESAN et al. 2015). Esses aditivos têm efeitos constantes sobre o desempenho de aves, principalmente devido a diferenças em sua origem botânica, processamento e composição. Ervas, especiarias, extratos de plantas e OLES contêm uma grande variedade de substâncias químicas (HAFEEZ et al. 2016).

Os OLES são considerados antimicrobianos naturais, e são isolados de fontes vegetais que têm o potencial de combater diversos patógenos de origem alimentar e também outros organismos que podem ser prejudiciais à saúde (RAO, et al. 2019). Dentre os OLES com potencial antimicrobiano, as plantas de hortelã-pimenta, árvore-de-chá, carqueja-amarga e bergamota, tem alcançado respostas antimicrobianas promissoras, porém ainda são poucos dados sobre a atividade dessas plantas frente as bactérias *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Enteritidis (*S. Enteritidis*) e *Stafylococcus aureus* (SCHMIDT, et al. 2008; SINGH et al. 2015; OLIVEIRA et al. 2011; LV, et al. 2011).

A utilização de plantas na forma de OLES pode ser explorada na alimentação animal, uma vez que apresentam propriedades *in vitro*, que podem exercer um efeito benéfico em testes *in vivo*, além de, modular o microbioma intestinal, uma vez que o trato digestório dos animais contém grande número e alta diversidade de microrganismos.

Assim, com estudos genômicos do conteúdo intestinal é possível descobrir a composição da microbiota e a identificação de novos microrganismos. Utilizando a abordagem metagenômica para a compreensão do microbioma intestinal das aves, é possível distinguir as comunidades de microrganismos existentes e fornecer informações para o desenvolvimento de ferramentas, com o intuito de aumentar a eficiência produtiva na avicultura e ainda permitir o não uso de antibióticos melhoradores de desempenho (LU et al. 2007; KIM e MUNDT, 2011; ZSAK, et al. 2011), fator esse que é de grande importância para o Brasil que é líder em exportação de carne de aves e se encontra entre os três principais produtores mundiais de proteína procedente de aves (ABPA, 2021).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliação do microbioma e do desempenho de codornas de corte submetidas a dietas contendo OLES como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar um estudo meta-analítico para resumir e analisar dados sobre o uso de fitogênicos na nutrição de aves;
- Identificar a composição química dos OLES das plantas;
- Identificar a susceptibilidade antimicrobiana de 16 antibióticos comercializados no Brasil;
- Determinar a atividade antimicrobiana de quatro OLES: *M. piperita*, *M. alternifolia*, *Baccharis trimera* e *Citrus bergamia* frente a isolados de cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* Enteritidis;
- Testar a susceptibilidade bacteriana dos OLES frente a sorotipos de *Salmonella* spp.
- Correlacionar o desempenho zootécnico dos animais promovidos pela adição de OLES;
- Avaliar morfometria e a histologia do epitélio intestinal;
- Avaliar o microbioma intestinal, por meio da porcentagem em abundância relativa e identificação da população microbiana;
- Avaliar as características de rendimento e qualidade de carcaça;
- Avaliar o perfil lipídico sanguíneo;
- Avaliar o peso relativo dos órgãos.

3. CAPÍTULO I

SYSTEMATIC REVIEW OF THE USE OF PHYTOBIOTICS IN THE POULTRY NUTRITION

Este capítulo será apresentado em formato de artigo científico, publicado no Journal of Agroveterinary Sciences, ISSN: 2238-1171.

DA SILVEIRA DEMINICIS, R. G., MENEGHETTI, C., DE OLIVEIRA, E. B., JÚNIOR, A. A. P. G., FARIAS FILHO, R. V., & DEMINICIS, B. B. Systematic review of the use of phytobiotics in broiler nutrition. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 20(1), 098-106, (2021). DOI: <https://doi.org/10.5965/223811712012021098>

Systematic review of the use of phytobiotics in broiler nutrition

Revisão sistemática do uso de fitobióticos na nutrição de frangos de corte

ABSTRACT

The objective of this study was to conduct a systematic review of the literature on the use of phytochemicals in broiler nutrition. A bibliographic survey was conducted for the years between 2009 and 2019, using the keywords “eubiotics,” “phytobiotics,” “essential oils,” “phytochemical extracts,” and corresponding words associated with the terms “broiler” and “poultry.” The selected articles were grouped into the categories: animal performance, histomorphology of the intestinal wall, biochemical profile, carcass characteristics, and the effect on bacteria found in the intestine. After comparisons of several parameters on the use or non-use of phytochemicals, it was found that replacing antibiotics with phytochemicals contributes positively to performance, the histomorphology of the intestinal wall, the biochemical profile, carcass characteristics, and the number of bacteria found in the gut. In conclusion, based on several studies found in the literature, replacing antibiotics with phytochemical additives in broiler nutrition may be viable due to their lower residual impact on the final product, in addition to their positive effect on the parameters of animal production.

KEYWORDS: essential oils, phytochemical extracts, phytochemical additives, plant extracts, broiler.

RESUMO

Objetivou-se realizar uma revisão sistemática da literatura sobre o uso de fitogênicos na nutrição de frangos de corte. Foi realizado levantamento bibliográfico do período de 2009 a 2019. Foram utilizadas as palavras-chave utilizadas foram “eubióticos”, “fitobióticos”, “óleos essenciais” e “extratos fitogênicos” e suas correspondentes em inglês, “eubiotics” e “phytobiotics”, “essential oils” e “phytochemical extracts” associada a palavra “frango de corte”, e “poultry” em inglês. Os artigos selecionados foram agrupados nas categorias: desempenho zootécnico, histomorfologia da parede intestinal, perfil bioquímico do sangue, característica de carcaça e o efeito nas bactérias encontradas no intestino. Após comparações de diversos parâmetros sobre o uso ou não uso de fitogênicos, percebeu-se que a substituição dos antibióticos pelos fitogênicos pode ser considerado positiva para o desempenho,

histomorfologia da parede intestinal, perfil bioquímico do sangue, característica de carcaça e número de bactérias encontradas no intestino. Sendo assim, foi concluído com base nos diversos trabalhos encontrados na literatura que a substituição dos antibióticos pelos aditivos fitogênicos na nutrição de frangos de corte pode ser viável, devido ao seu menor impacto residual no produto final, além de influenciar positivamente nos parâmetros de produção animal.

PALAVRAS-CHAVE: óleos essenciais, extratos fitogênicos, aditivos fitogênicos, extratos de plantas, frango de corte.

INTRODUCTION

In recent years, antibiotic additives as performance enhancers have been incorporated into broiler diets. However, following the ban on the use of antibiotics as performance enhancers in the European Union in 2006 and recently in North America, non-antibiotic substances with the potential to promote growth have instigated research for effective alternatives such as probiotics, organic substances, enzymes, and phytogetic feed additives, which have received more attention (PARASKEUAS et al. 2017).

Phytogetic feed additives are plant-based feed additives, natural substances used in animal nutrition, and they derive from herbs, spices, other plants and their extracts, and essential oils. Phytogetic feed additives have constant effects on poultry performance, mainly due to differences in origin, processing, and botanical composition. Herbs, spices, essential oils, and plant extracts contain a wide variety of chemical substances (HAFEEZ et al. 2016).

There is considerable interest in phytogetic feed additives for animal feed because of their ability to improve performance while maintaining a healthy intestinal environment. PhytoGENICS used as natural growth promoters in animal nutrition proved to provide a return on investment. They also proved to reduce ammonia, methane, and other greenhouse gas emissions (MURUGESAN et al 2015).

The compounds originating from the special metabolism of vegetables have also demonstrated functions with antiviral, antioxidant, immunomodulatory, anti-inflammatory, and antifungal properties (MADHUPRIYA et al. 2018). With the ban on antibiotic use in animal nutrition, due to the emergent resistance to bacteria, alternative performance enhancers have come to the fore. In this regard, the objective of this study

was to conduct a systematic review of the literature on the use of phytogetic feed additives in broiler nutrition.

MATERIAL AND METHODS

Based on conditions of the study, the Systematic Search Flow (SFF) method was employed to systematize the search process for articles in the literature. Both scientific and review articles were accessed through four search platforms (FERENHOF & FERNANDES 2016): Google Academic®, Periodicals Capes®, Scielo®, and Scopus®. Complete articles on indexed journals were included and incomplete ones were excluded, which was how the articles were selected, organized, and standardized. Through software that organizes bibliographies and bibliographical references, it was possible to separate the answers for each of the searches.

The search criteria corresponded to the years between 2009 and 2019, using the keywords "eubiotics," "phytobiotics," "essential oils," "phytogetic extracts," and words associated with the terms "broiler" and "poultry." Articles published before 2009 and those referring to other subjects not relevant to the study were excluded.

From all the databases, 110 articles were found. Upon reading the articles' titles, some were repeated in different databases, while others did not fulfill the study criteria, resulting in 96 articles. The abstracts were read, and those that did not fall within the objective of this study were excluded. After reading the abstracts, 48 articles were selected, as they seemed to fulfill the initial criteria, and were read in full. In the final selection, literature review articles were excluded. Within this context, the articles were read and carefully selected, and their data were grouped into the following categories: animal performance, histomorphology of the intestinal wall, biochemical profile, carcass characteristics, the effect on bacteria found in the intestine. Therefore, different results and phytogetic feed additives used to substitute antibiotics as performance enhancers in broiler nutrition could be verified.

RESULTS AND DISCUSSION

Different species (Table 1) were examined in the use of phytogetic feed additives in broiler diets, mostly: *Origanum vulgare* (30.3%), *Thymus vulgaris* (24.24%), *Allium sativum* (15.15%), *Pimpinella anisum* (15.15%), *Mentha arvensis* (12.12%), *Cinnamomum* sp (9.09%), and *Citrus limonum* (9.09%).

Table 1. Plant species used as an alternative to antibiotics performance enhancers in broiler nutrition.

Author	Phytogenic species	Antibiotics*	Poultry lineage	Evaluation period
PUVAČA et al. (2015)	<i>Allium sativum</i> ; <i>Piper nigrum</i> ; <i>Capsicum annum</i> .	-	Hubbard	1-42 days
HASHEMI SR & Davoodi H. et al. (2014)	<i>Euphorbia hirta</i> ,	-	Cobb	1-42 days
CHO et al. (2014)	<i>Thymus vulgaris</i> , <i>Pimpinella anisum</i>	Avilamycin ¹	Ross	1-35 days
SINGH et al. (2015)	<i>Cinnamomum cassia</i> , <i>Allium sativum</i>	Oxytetracycline	IBL 80 ^ψ	1-35 days
OLUKOSI et al. (2014)	<i>Curcuma longa</i> , <i>Allium sativum</i>	-	Ross	1-21 days
PULICI et al. (2014)	<i>Origanum vulgare</i>	Bacitracin ¹	Cobb	1-42 days
KHATTAK et al. (2014)	<i>Ocimum basilicum</i> , <i>Carum carvi</i> , <i>Laurus nobilis</i> , <i>Citrus limonum</i> Risso, <i>Origanum vulgare</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Thymus vulgaris</i>	-	Ross	1-42 days
BOZKURT et al. (2014)	<i>Origanum vulgare</i> , <i>Cinnamomum camphora</i> , <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Citrus limonum</i> Risso	Salinomycin ¹	Ross	1-42 days
LI et al. (2015)	<i>Phytoncides Phytoncide</i>	Tilosin ²	Ross	1-35 days
PATI et al. (2015)	<i>Zingiber officinale</i>	-	-	1-49 days
WATI et al. (2015)	<i>Foeniculum vulgare</i> ; <i>Melissa officinalis</i> ; <i>Mentha arvensis</i> ; <i>Pimpinella anisum</i> ; <i>Quercus cortex</i> ; <i>Syzygium aromaticum</i> , <i>Thymus vulgaris</i>	Bacitracin methylene disalicylate ¹	Cobb	1-39 days
PUVACA et al. (2015)	<i>Allium sativum</i> ; <i>Piper nigrum</i> ; <i>Capsicum frutescens</i>	-	Ross	1-42 days
VÁZQUEZ et al. (2015)	<i>Origanum vulgare</i> ; <i>Thymus vulgaris</i> ; <i>Piper cubeba</i>	-	Ross	1-39 days
HASHEMIPOUR et al. (2016)	<i>Thymus vulgaris</i> ; <i>Origanum vulgare</i>	-	Ross	1-42 days
MONA et al (2016), TURCU et al. (2018)	<i>Origanum vulgare</i>	Toltrazuril ² , Monensin	Cobb	1-42 days
KIM et al. (2016)	<i>Ginkgo biloba</i> ; <i>Camellia sinensis</i>	-	Ross	1-35 days
SKOUFOS et al. (2016)	<i>Origanum vulgare</i>	-	Ross	1-44 days
HAFEEZ et al. (2016)	<i>Mentha arvensis e Pimpinella anisum</i> ; <i>Thymus vulgaris</i> ; <i>Citrus limonum</i>	-	Cobb	1-42 days
MAIDALA et al. (2016)	<i>Azandirecta indica</i> ; <i>Guiera senegalensis</i> ; <i>Commiphora kerstinguii</i>	-	-	1-56 days
GLAMOCLIJA et al. (2016)	<i>Cuminum cyminum</i> , <i>Mentha arvensis</i> , <i>Syzygium aromaticum</i> ; <i>Pimpinella anisum</i>	-	Cobb	1-42 days
JADHAV et al. (2016)	<i>Cissus quadrangulares</i> ; <i>Lepidium sativum</i> , <i>Uria picta</i> ; <i>Zingiber officinale</i>	-	-	1-42 days
KALANTAR et al. (2017)	<i>Thymus vulgaris</i> ; <i>Glycyrrhiza galabra</i>	-	-	1-42 days
RAPHAËL et al. (2017)	<i>Dichrostachys glomerata</i> Chiov.	Doxycycline ¹	Cobb	1-49 days
ZAMORA et al. (2017)	<i>Origanum vulgare</i>	Oxytetracycline ²	Ross	1-42 days
PARASKEUAS et al. (2017)	<i>Mentha arvensis</i> ; <i>Pimpinella anisum</i> L. e <i>Eugenia aromaticum</i>	-	Cobb	1-42 days
SHEORAN et al. (2017)	<i>Allium sativum</i> ; <i>Ocimum sanctum</i>	-	Cobb	42 days
FASCINA et al. (2017)	<i>Vitis</i> sp; <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ; <i>Peumus boldus</i> ; <i>Trigonella foenum</i>	Avilamycin ¹ Monensin sodium	Cobb	1-42 days
NIETO et al. (2018)	<i>Lippia organoides</i> , <i>Origanum vulgare</i>	Bacitracin	Ross	1-42 days
NOLETO et al. (2018)	<i>Copaiphora</i> sp.	Avilamycin	Cobb	1-40 days
JIAO et al. (2019)	<i>Salicornia herbacea</i>	-	Ross	1-35 days

*Classification of antibiotic types as action spectrum: 1- Action on gram-positive bacteria. 2- Action on gram-positive and gram-negative bacteria. ^ψ Indian Chicken crossbreed.

Volatile oils, also known as essential oils, are made up of a complex mixture of volatile, lipophilic, odorous, and liquid substances whose main active compounds are terpenoids and phenylpropanoids, wherein two or three components can be responsible for up to 85% of the total elements present in the compound, which directly contribute to its primary properties (ZHAI et al. 2018). According to the International Standard Organization (ISO), these compounds are obtained from part of a plant or the complete plant by means of hydrodistillation, steam distillation, or by pressing the pericarps of citrus fruits. The composition of a species' essential oil is genetically determined and specific to an organ, but environmental conditions can significantly alter its chemical characteristics (SIMÕES et al. 2017).

The essential oils of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* have a high content of phenolic compounds, and the carvacrol and thymol monoterpenes are mainly responsible for their antibacterial and antioxidant activities, aside from having antimicrobial activity (BORGES et al. 2012). The main compounds act on the bacterial cell membrane and prevent mitosis, which causes dehydration in the cells and inhibits the survival of pathogenic bacteria.

Allium sativum (7.0%), or garlic, has two active ingredients: allicin and garlicin. Their predominantly bacteriostatic action acts against both gram-positive and gram-negative bacteria. Garlic is reported to have antimicrobial, antiseptic, antifungal, antiviral, antioxidant, anticancer, immunostimulating properties (RIED 2016). Moreover, it has hypoglycemic properties; it helps reduce blood glucose levels by stimulating insulin secretion through β cells in the pancreas.

The Cobb and Ross breeds were referred to the most in the studies, representing 37.9%. The IBL-80 and Hubbard breeds were examined in 6.9% and 3.4% of the studies, respectively, while 13.8% of the studies did not provide specific data on the chicken breed and only disclosed that it was a commercial breed. The suppression of this type of information is not helpful from a scientific point of view, as these data are extremely relevant to assessing several parameters of production and establishing a close relationship with the breed.

The Cobb breed presents the best productive performance among the different commercial breeds available for production in the world, mainly due to better weight gain, higher resistance to temperature management, and high rearing density. Additionally, the breed has a high muscle deposition capacity, resulting in better feed conversion. Only in one study, the use of birds of the IBL 80 breed was observed, which according to ICAR (2017) is among the improved varieties widely used in India.

There was a higher prevalence of studies that used a period of 1 to 42 days (51.7% of the studies). Studies with periods ranging from 1 to 35 days, 1 to 39 days, and 1 to 49 days corresponded to 20.7%, 10.3%, and 6.8% of the studies, respectively, and 3.4% of the studies applied periods of 1 to 21 days, 1 to 44 days, and 1 to 56 days. The use of phyto-genic feed

additives improves the viability of animal production and allows for better indices of productive efficiency, especially when there are health challenges (FERNANDES et al. 2015).

The weight gain of the chickens increased with the use of phytogetic additives (5%) and with the use of antibiotics (3.5%) in relation to the control. Feed consumption decreased with the use of phytogenics (1%) and antibiotics (0.2%) compared to the control. Thus, there was an effect on the feed conversion rate, which showed a reduction with the use of phytogetic additives or antibiotics (5.6%), being similar to the control. The mortality rate of chickens decreased with the use of phytogenics (42%) and with the use of antibiotics (57.1%) compared to the control. These results demonstrate a significant potential for replacing antibiotics with phytogetic additives.

Research has evidenced the efficiency of essential oils, as presented by NIETO et al. (2018), who concluded that chickens fed with the essential oil of *Origanum vulgare* at a concentration of 500g/ton grow just as fast as chickens fed a diet containing 50g/ton bacitracin, explaining that this response occurs by increasing the bird's digestibility and energy use. Upon evaluating the performance of chickens between the ages of 1 to 49 days and the use of thyme and oregano essential oils, RUBEN et al. (2018) observed that weight gain increased by 20% and 8%, respectively, compared to the control diet, in addition to a higher feed conversion rate.

Findings by ALI et al. (2019) point to an improved performance in broilers fed with ginger, which may be associated with improvements in palatability and the digestive process. According to RAZA et al. (2016), ginger contains several important pharmacological compounds, such as gingerdione, ginger diol, shogaols, and gingerol. In comparing the data on the histomorphology of the intestinal wall, as illustrated in Table 2, the use of phytogenics and commercial antibiotics increased by 13.6% and 9.3%, respectively, in relation to non-use (control basal diet). As for crypt depth, it was possible to identify a decrease with the use of phytogenics (1.1%) and an increase with the use of antibiotics (7%) in comparison to the control. Consequently, there was a direct impact on the villus/crypt ratio which resulted in a 35.4% increase for phytogenics and a 50.7% decrease for antibiotics when compared to non-use (control diet). With regard to the villi's surface, the use of phytogenics reduced the surface area of the birds' intestinal villi in comparison to the control. No assessment was made on the use of antibiotics.

With respect to the thickness of intestinal mucosa, thickness decreased with the application of phytogetic feed additives (2.6%) and antibiotics (21.1%) in relation to the control. As for the muscular thickness of the birds' intestines, an increase of 81.4% was detected with phytogenics when compared to the control basal diet, while the use of antibiotics was not assessed.

Table 2. Histomorphology of the intestinal wall of broilers in different studies comparing the use of control diets, phytogetic feed additives and antibiotics.

Author	Lenght of villi (μm)			Crypt depth (μm)			Villi/ Crypt (μm)		
	CONT	PHY	ANTI	CONT	PHY	ANTI	CONT	PHY	ANTI
HASHEMI et al. (2014)	866.0	975.0	-	185.0	166.7	-	4.7	5.9	-
OLUKOSI et al. (2014)	558.0	787.0	-	57.7	83.5	-	2.9	9.4	-
KHATTAK et al. (2014)	291.0	301.0	-	101.0	98.6	-	2.9	3.1	-
MURUGESAN et al. (2015)	239.4	301.1	306.2	36.4	28.2	34.9	6.6	10.7	8.8
SINGH et al. (2015)	1412.5	1666.7	1419.	95.2	88.7	87.2	14.8	18.8	16.3
SKOUFOS et al. (2016)	1445.6	1488.1	-	154.3	162.0	-	9.4	9.2	-
FASCINA et al. (2017)	858.3	9240	931.0	205.0	197.6	210.3	4.2	4.7	4.4
ASLI & RASHTI (2018) (jejunum)	608.1	641.37	-	109.2	86.3	-	5.6	7.8	-
ASLI & RASHTI (2018) (ileum)	276.4	315.7	-	66.9	63.4	-	4.1	5.0	-
NOLETO et al. (2018)	1,255	1,354	1,346	356.9	438.2	412.0	3.62	3.18	3.31
Average	781,03	875,40	1000, 5	136,76	141,32	186,10	5,88	7,78	8,20

Author	Villi surface area (μm^2)			Intestinal mucosa thickness (μm^2)			Intestinal muscle thickness (μm^2)		
	CONT	PHY	ANTI	CONT	PHY	ANTI	CONT	PHY	ANTI
HASHEMI et al. (2014)	33.19x10 ⁴	55.4x10 ⁴	-	230.0	302.3	-	12.9	14.9	-
OLUKOSI and DONO, (2014)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KHATTAK et al. (2014)	9.4x10 ⁴	10.4x10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-
MURUGESAN et al. (2015)	-	-	-	304.7	218.4	211.1	-	-	-
SINGH et al. (2015)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SKOUFOS et al. (2016)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FASCINA et al. (2017)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Average	212.9 x 10 ⁴	32.9x10 ⁴	-	267.4	260.4	211.1	12.9	14.9	-

VILLI/CRYPT = Relationship between length of villi and crypt depth.

PELÍCIA et al. (2015) analyzed the effect of phytogetic additives on the histomorphometry of the small intestine of birds at seven days of age and found that treatment with phytogetic feed additives affected the villus height and crypt depth of the duodenum and ileum segments.

FERNANDES et al. (2017) examined the incorporation of plant extracts in the diet of birds challenged by the coccidiosis vaccine. As a result, they detected an improvement in the excretion of immunoglobulins from the intestinal mucosa of broilers at 42 days of age, which indicates that the applied plant extract might have a stimulating effect on the local defense system of the intestinal mucosa.

MOHITI-ASLI & RASHTI (2018) demonstrated that 300 ppm of oregano essential oil as dietary supplementation improved the histomorphological properties of the intestine, such as villus height and surface area.

The biochemical profile (Table 3) reveals that the use of phytoGENICS and antibiotics reduced cholesterol by 7.4% and 14.6%, respectively, in relation to non-use (control diet). HDL (high-density lipoprotein) rose by 15.3% with phytoGENICS and by 9.1% with antibiotics in comparison to the control diet. LDL (low-density lipoprotein) in the blood fell by 25.3% and 4.33% with the application of phytoGENICS and commercial antibiotics, respectively, compared to non-use (control diet).

As for VLDL (mg/dl), it rose by 29.8% with phytoGENICS and by 38.5% with antibiotics in comparison to the Control diet. Therefore, there was a direct impact on the HDL/LDL ratio, which elevated 84.61% in relation to the control, while the effect of antibiotic use on this ratio was not evaluated. The physiological responses in connection to the animal's internal factors, such as age and sex, and external factors, such as diet and environment, were reflected directly in the biochemical profile and can provide information on the animal's metabolism and health (YARI et al. 2014).

In chickens supplemented with medicinal plants, serum triglyceride levels lowered. DOMINGUES et al. (2016) investigated the use of pepper in high and low digestibility diets. In high digestibility diets, they observed that the biochemical profile data were within the recommended limits for birds. There was a difference in cholesterol levels in the low digestibility diet; however, they did not exceed the recommended limits.

Table 3. Biochemical profile of the blood of broilers in different studies comparing the use of control diets, phytogetic feed additives and antibiotics

Author	Cholesterol (mg/dl)			Triglycerid (μ m)			HDL (mg/dl)		
	CONT	PHY	ANTI	CONT	PHY	ANTI	CONT	PHY	ANTI
HASHEMI et al. (2014)	113.3	127.6	-	85.9	84.1	-	-	-	-
CHO; KIM; KIM, (2014)	119.0	101.0	121.0	107.0	110.0	102.0	51.4	63.6	57.5
SINGH et al. (2014)	133.3	117.9	124.0	106.0	96.2	99.1	-	-	-
PUVACA et al. (2015)	97.2	54.6	-	65.9	18.2	-	19.2	37.1	-
HASHEMIPOUR et al. (2016)	121.0	101.1	-	77.1	75.4	-	82.2	83.3	-
MONA et al. (2016)	3.9	3.2	4.0	-	-	-	-	-	-
ZAMORA et al. (2017)	121.4	138.4	104.2	28.7	37.0	39.5	69.0	72.1	58.8
PARASKEUAS et al. (2017)	118.0	121.9	-	33.2	31.1	-	-	-	-
REIS et al. (2018) (28days)	99.00	87.83	85.00	-	-	-	-	-	-
Average	102.9	94.84	85.00	72.0	64.6	80.2	55.5	64.0	58.2
Author	LDL (mg/dl)			VLDL (mg/dl)			HDL/LDL		
	CONT	PHY	ANTI	CONT	PHY	ANTI	CONT	PHY	ANTI
HASHEMI et al. (2014)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHO; KIM; KIM, (2014)	46.4	36.7	42.0	-	-	-	1.1	1.7	-
SINGH et al. (2014)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PUVACA et al. (2015)	36.7	9.2	-	-	-	-	0.5	4.0	-
HASHEMIPOUR et al. (2016)	36.1	32.4	-	-	-	-	2.3	2.3	-
MONA et al. (2016)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ZAMORA et al. (2017)	46.7	45.5	37.4	5.7	7.4	7.9	1.5	1.6	-
PARASKEUAS et al. (2017)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Average	41.5	31.0	39.7	5.7	7.4	7.9	1.3	2.4	-

A comparison of the carcass characteristics, as shown in Figure 1, reveals that there was a 7.5% increase in the birds' breast percentage with phytogetic application in relation to non-use (control basal diet). Nevertheless, when antibiotics were used, there was a 42.26% decrease in comparison to the control diet. With the use of phytogetics, the leg registered the same percentage (3.2%) as the control diet. With antibiotics, it increased by 6.3% in relation to non-use (control diet).

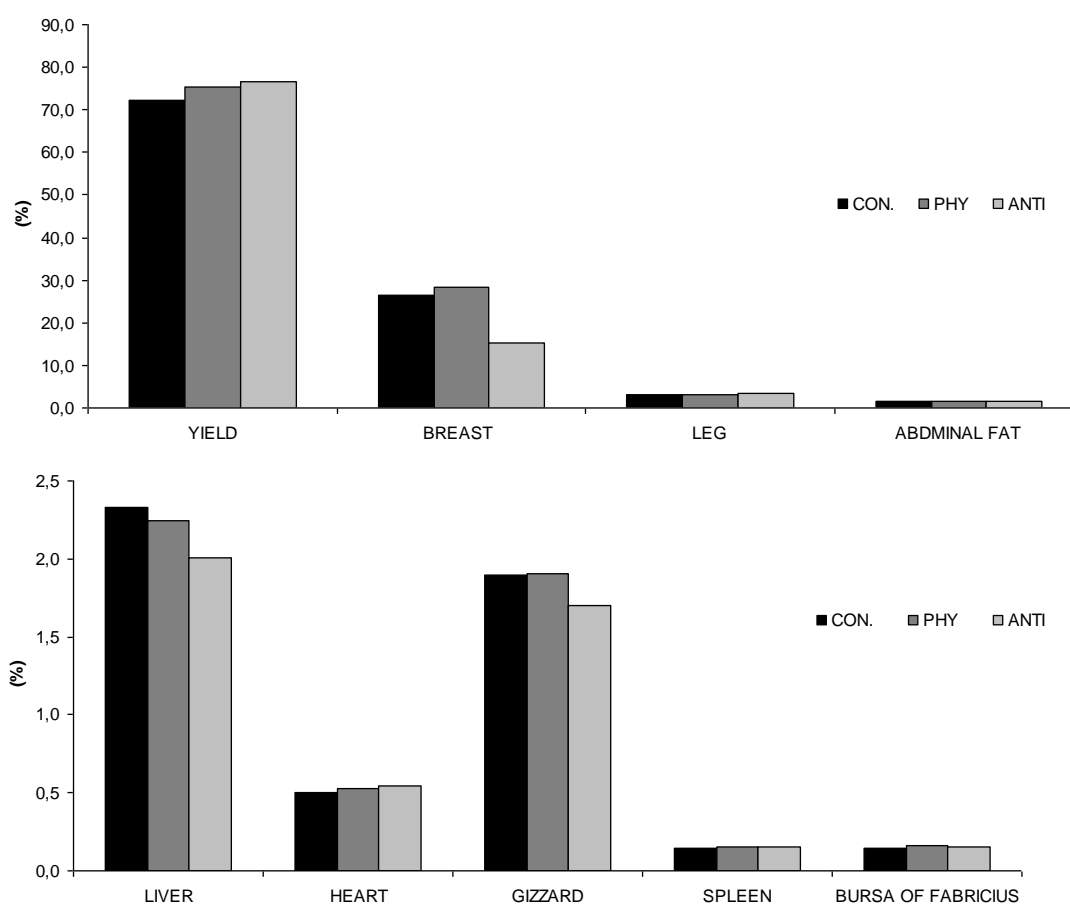


Figure 1. Carcass characteristic of broilers in different studies comparing the use of control diets (CON.), phytogetic feed additives (PHY) and antibiotics (ANTI).

The amount of abdominal fat in birds treated with phytogetic feed additives remained the same as those treated with the control diet. In comparison to antibiotic use, there was a 12.5% reduction. The liver decreased by 4.3% and 13.0% with the application of phytogetics and antibiotics, respectively, compared to the control diet. The heart remained unchanged in its values with the use of phytogetics and commercial antibiotics.

Carcass yield increased by 4.4% and 6.4% with the use of phytogetic feed additives and antibiotics, respectively, in relation to the control diet. The percentage for gizzards with regard to phytogetic application remained unchanged, while the use of antibiotics decreased by 10.5% in comparison to the basal diet. The spleen and the bursa of Fabricius increased by

one percent with phytochemicals in relation to non-use (control basal diet), and they remained equivalent in the comparison between antibiotics and the control.

In a previous study, KOIYAMA et al. (2014) evaluated the effect of combinations of phytochemical additives in the broiler diet on animal performance and carcass yield. Throughout the entire experimental period, the use of antibiotics and combined phytochemical additives resulted in greater weight gain for the birds. The combined phytochemical feed additives and the control treatment provided greater leg yield, and the relative weight of the spleen was also greater. Thus, the authors concluded that the combined phytochemical feed additives show potential as performance enhancers for broiler chickens. İPÇAK & ALÇIÇEK (2018) observed improvements in the quality of the final product upon evaluating the carcass quality of Ross chickens between the ages of one to 42 days and the use of the herbal medicines Capsicum, oleoresin, Carvacrol, and Cinnamaldehyde. The results were positive when applied separately or as a mixture at a dose of 150 mg/kg, with beneficial effects in relation to the meat's flavor, tenderness, and juiciness. Similarly, upon assessing the carcass quality of Ross chickens between the ages of 1 to 35 days that had been supplemented with the herbicide Salicornia, Jiao et al. (2019) indicated that a supplementation of 5 cc/L of *S. herbacea* for chickens achieved a response in meat quality and in the birds' performance and growth.

As for bacterial colonization in the birds' intestines, Figure 2 demonstrates that the use of phytochemical feed additives and commercial antibiotics reduced total *E. coli* bacteria by 50.9% and 32.1%, respectively, when compared to non-use (control basal diet).

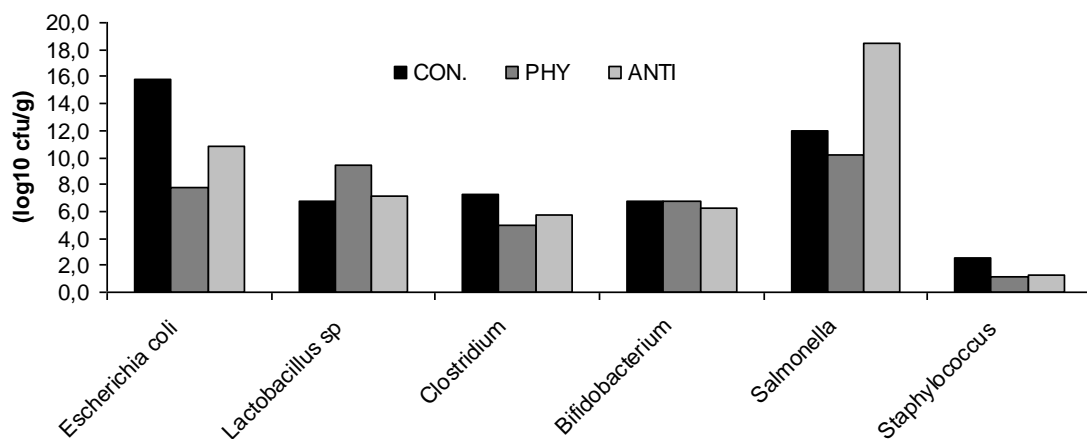


Figure 2. Bacteria present in the intestine of broilers in different studies comparing the use of control diets, phytochemical feed additives and antibiotics.

Lactobacillus increased with the use of phytochemicals (40.3%) and antibiotics (6.0%) in relation to the Control. The numbers corresponding to Clostridia reduced by 31.5% and 20.5% with phytochemical feed additives and antibiotics, respectively, in comparison to the control.

Bifidobacterium remained the same in the comparison between phytogetic and the control diet but declined by 8.8% with the use of antibiotics in relation to the control diet. The use of phytogetic feed additives lowered the amount of salmonella in the birds by 15% and by 54.2% with antibiotics in comparison to non-use (control diet).

MOHITI-ASLI & RASHTI (2018) observed a distinct decrease in the *E. coli* count, as a pathogenic microorganism in the chickens' intestines, with the application of 300 ppm and 500 ppm of oregano essential oil in relation to the control diet and a diet incorporating commercial product. In TURCU et al. (2018), broilers were supplemented with *Origanum vulgare* in the form of oil and powder, and upon evaluating intestinal microbiota, the authors noted that the total number of enterobacteriaceae, *E. coli*, and staphylococci decreased significantly in comparison to the control group. The total number of lactobacilli increased significantly in experimental diets in relation to the control diet.

ALI et al. (2019) observed a significant decrease in the oocyst count in birds supplemented with phytogetics (garlic) during the 5th, 7th, 9th, and 11th day after infection and argue that the presence of allicin in garlic provoked this decrease in infestation. Allicin has antioxidant and antiparasitic activity and stimulates the immune response by the increase in profilin antibodies that directly kill the sporozoites.

CONCLUSIONS

The use of phytogetic feed additives positively influences zootechnical performance, the histomorphology of the intestinal wall, the biochemical profile, carcass characteristics, and the bacterial intestinal profile of broilers in comparison to antibiotics and control (basal diet).

ACKNOWLEDGMENT

This study was funded in part by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) in Brazil – Funding Code 001.

REFERENCES

Annual Report 2016-2017 AICRP on Poultry Breeding and Poultry Seed Project. Directorate of Poultry Research, Hyderabad: ICAR.

BORGES AM et al. 2012. Determination of essential oils of basil (*Ocimum gratissimum L.*), oregano (*Origanum vulgare L.*) and thyme (*Thymus vulgaris L.*). Brazilian Journal of Medicinal Plants 14: 656–665.

BOZKURT M et al. 2014. Effects of selected herbs and essential oils on performance, egg quality and some metabolic activities in laying hens – a review. European Poultry Science 78: 1–15.

CHO JH et al. 2014. Effects of phytogenic feed additive on growth Performance, digestibility, blood metabolites, intestinal microbiota, meat color and relative organ weight after oral challenge with *Clostridium perfringens* in broilers. *Livestock Science* 160:82-88.

DOMINGUES RM et al. 2016. Blood parameters of broilers fed diets supplemented with dry seeds of *Piper cubeba* as a phytogenic additive. *Brazilian Veterinary Research* 36: 1139-1144.

FASCINA VB et al. 2016. Effects of Phytogenic Additives and Organic Acids, alone or in combination, on the Performance, Intestinal Quality and Immune Responses of Broiler Chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science* 19:497–508.

FERENHOF HA & FERNANDES RF. 2016. Demystifying literature review as a basis for scientific writing: SSF method. *Revista ACB* 21: 550-563.

FERNANDES JIM et al. 2017. Evaluation of plant extracts on the immune response, productive performance and intestinal morphometry of broilers challenged with *Eimeria sp.* *Brazilian Journal of Health and Animal Production* 18: 127-139.

FERNANDES RTV et al. 2015. Phytogenic additives in broiler feed: essential oils and spices. *Veterinary Publications* 9: 526-535.

GLAMOCLIJIA N et al. 2016. Effects of phytobiotics on Cobb broiler production results, meatiness and chemical composition. *Meat Technology* 57: 89–94.

HAFEEZ A et al. 2016. Effect of supplementation of phytogenic feed additives (powdered vs. encapsulated) on performance and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science* 95: 622–629.

HASHEMI SR & DAVOODI H. 2014. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications* 35: 169–180.

HASHEMIPOUR H et al. 2016. Effect of feed supplementation with a thymol plus carvacrol mixture, in combination or not with an NSP-degrading enzyme, on productive and physiological parameters of broilers fed on wheat-based diets. *Animal Feed Science and Technology* 211:117–131.

İPÇAK HH & ALÇIÇEK A. 2018. Addition of *Capsicum oleoresin*, Carvacrol, Cinnamaldehyde and their mixtures to the broiler diet II: Effects on meat quality. *Journal of Animal Science and Technology* 60: 1-11.

JADHAV NV et al. 2016. Effect of calcium, phosphorus premix with synergistic herbs supplementation in improving overall performance, carcass quality and tibial mineralization in broiler chickens. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 3: 268–273.

JAYAPRAKASHA GK et al. 2002. Chemical composition of volatile oil from *Cinnamomum zeylanicum* buds. *Zeitschrift für Naturforschung* 57: 990-993.

JIÃO Y et al. 2019. Effects of *Salicornia herbacea* on Growth Performance, Meat Quality, Excreta Microbial Populations, and Noxious Gas Emissions in Broiler Chicks. *Journal Poultry Science* 56: 44-51, 2019.

KALANTAR M et al. 2017. Performance, Immune, and Carcass Characteristics of Broiler Chickens as Affected by Thyme and Licorice or Enzyme Supplemented Diets. *Open Journal of Animal Sciences* 7: 105–109.

KHATTAK FA et al. 2014. Effects of natural blend of essential oil on growth performance, blood biochemistry, cecal morphology, and carcass quality of broiler chickens. *Poultry Science* 93:132-137.

KIM YJ et al. 2016. Effect of fermented ginkgo biloba and camelia sinensis-based probiotics on growth performance, immunity and caecal microbiology in broilers. *International Journal of Poultry Science* 15: 62–71.

KOYAMA NTG et al. 2014. Growth performance and carcass yield of chicken broiler diets with mixtures of phyto-genic additives. *Brazilian Agricultural Research* 49: 225-231.

LI HL et al. 2015. Phytoncide, phyto-genic feed additive as an alternative to conventional antibiotics, improved growth performance and decreased excreta gas emission without adverse effect on meat quality in broiler chickens. *Livestock Science* 181:1–6.

MADHUPRIYA V et al. 2018. Phyto Feed Additives in Poultry Nutrition: A Review. *International Journal of Science Education* 7: 815–822.

MAIDALA A et al. 2016. Carcass Yield and Gut Characteristics of Broiler Chickens Fed Different Types of Phyto-genic Plant Leaf. *Journal of Science, Technology & Education* 4: 22–29.

MAJID- ALI CHAND N et al. 2019. Anticoccidial effect of garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) against experimentally induced coccidiosis in broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research* 47: 79–84.

MOHITI-ASLI M & RASHTI MG. 2018. Comparing the effects of a combined phyto-genic feed additive with an individual essential oil of oregano on intestinal morphology and microflora in broilers. *Journal of Applied Animal Research* 46: 184-189.

MONA AE et al. 2016. Effect of Phytobiotics, Probiotics and Toltrazuril on Chicken Coccidiosis. *Zagazig Veterinary Journal* 44: 214–223.

MURUGESAN GR et al. 2015. Phyto-genic feed additives as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chickens. *Frontiers in Veterinary Science* 2:21.

NIETO CA et al. 2018. Effect of two chemotypes of oregano essential oil on Broiler performance, nutrient balance, and lipid Peroxidation of breast meat during storage. *Brazilian Animal Science* 19: 1-15.

NOLETO RA et al. 2018. Supplementation of copaiba or sucupira oils in broiler diets. *Brazilian Journal of Health and Animal Production* 19: 83-92.

OLUKOSI AO et al. 2014. Modification of digesta pH and intestinal morphology with the use of benzoic acid or phytobiotics and the effects on broiler chicken growth performance and energy and nutrient utilization. *Journal of Animal Science* 92: 3945–3953.

- PARASKEUAS V et al. 2017. Growth performance, nutrient digestibility, antioxidant capacity, blood biochemical biomarkers and cytokines expression in broiler chickens fed different phytogetic levels. *Animal Nutrition* 3: 114-120.
- PATI P et al. 2015. Effect of inclusion of ginger (*Zingiber officinale*) waste meal in the diet on broiler performance. *Indian Journal of Animal Nutrition* 32: 305–309.
- PELÍCIA VC et al. 2015. Tropic action of phytogetic additives, glutamine and glutamic acid on Bursa Fabricio and small intestines of broilers. *Brazilian Veterinary Research* 35: 691-699.
- PULICI PMM et al. 2014. Use of essential oil of oregano, salinomycin and zinc bacitracin in the diet of broilers. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 51:131.
- PUVACA N et al. 2015. Effect of garlic, black pepper and hot red pepper on productive performances and blood lipid profile of broiler chickens. *European Poultry Science* 79.
- RAPHAËL KJ et al. 2017. Effect of Dietary Mimosa Small Bell (*Dichostachys glomerata*) Fruit Supplement as Alternative to Antibiotic Growth Promoter for Broiler Chicken. *Journal of World's Poultry Research* 7: 27–34.
- RAZA T et al. 2016. Improving the fatty acid profile in egg yolk through the use of hempseed (*Cannabis sativa*), ginger (*Zingiber officinale*), and turmeric (*Curcuma longa*) in the diet of Hy-Line White Leghorns. *Archives Animal Breeding* 68:183–190.
- REIS JH et al. 2018. Effects of phytogetic feed additive based on thymol, carvacrol and cinnamic aldehyde on body weight, blood parameters and environmental bacteria in broilers chickens. *Microbial Pathogenesis* 125: 168-176.
- RIED K. 2016. Garlic Lowers Blood Pressure in Hypertensive Individuals, Regulates Serum Cholesterol, and Stimulates Immunity: An Updated Meta-analysis and Review. *Journal of Nutrition* 146: 389S-396S.
- RUBEN NT et al. 2018. Effects of dietary thyme and oregano essential oils entrapped in chitosan and Canarium charcoal stable matrix on growth performances in broiler chickens. *International Journal of Innovation and Applied Studies* 22: 114-122.
- SHEORAN N et al. 2017. Nutrigenomic evaluation of garlic (*Allium sativum*) and holy basil (*Ocimum sanctum*) leaf powder supplementation on growth performance and immune characteristics in broilers. *Veterinary World* 10: 121–129.
- SIMÕES CMO et al. 2017. Pharmacognosy: from natural product to medicine. Porto Alegre: Artmed.
- SINGH J et al. 2015. Effect of sun dried whole bulb garlic powder on growth, carcass characteristics and meat quality of commercial broilers. *Indian Journal of Animal Sciences* 85: 67–71.
- SKOUFOS I et al. 2016. Effects of oregano essential oil and attapulгите on growth performance, intestinal microbiota and morphometry in broilers. *South African Journal of Animal Science* 46: 77-88.

TURCU RP et al. 2018. Effect of the dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) powder and oil on the balance of the intestinal microflora of broilers reared under heat stress (32°C). *Animal Science* 51: 77-86.

VÁZQUEZ RS et al. 2015. Performance of broiler chickens supplemented with Mexican oregano oil (*Lippia berlandieri* Schauer). *Brazilian Journal of Animal Science* 44: 283–289.

WATIT T et al. 2015. Comparative efficacy of a phytogetic feed additive and an antibiotic growth promoter on production performance, caecal microbial population and humoral immune response of broiler chickens inoculated with enteric pathogens. *Animal Nutrition* 1: 213–219.

YARI P et al. 2014. Productive and serum biological responses of broiler chicks to use of different patterns of diet formulation. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences* 4: 459-464.

ZAMORA, GM et al 2017. Performance, blood parameters, and carcass yield of broiler chickens supplemented with Mexican oregano oil. *Brazilian Journal of Animal Science* 46: 515–520.

ZHAI H et al. 2018. Pontential of essential oils for poultry and pigs. *Animal Nutrition* 4: 179-186.

4. CAPÍTULO II

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AÇÃO ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE CEPAS BACTERIANAS PATOGÊNICAS

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AÇÃO ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE CEPAS BACTERIANAS PATOGÊNICAS

RESUMO

A saúde pública global tem sofrido grave ameaça em relação a resistência antibiótica, promovida pelo uso abusivo de antimicrobianos na produção animal. As organizações regulamentadoras têm apontado os riscos representados pela exposição direta aos resíduos de antibióticos em alimentos de origem animal. Os óleos essenciais possuem qualidades bioativas e compostos ainda pouco estudados, e tem sido empregado para o desenvolvimento de novas substâncias antibióticas. Este trabalho tem como objetivo identificar os compostos químicos dos óleos essenciais de *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera* e *Citrus bergamia*, e avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* destes sobre cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Enteritidis, que estão entre os cinco patógenos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos mais prevalentes mundialmente. Os componentes presentes nas amostras dos óleos essenciais foram analisados e identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS). A ação antimicrobiana dos óleos essenciais sobre as cepas bacterianas foi determinada através da Concentração Inibitória Mínima (CIM), pelo método de microdiluição em caldo, e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Os compostos majoritários de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia* foram, respectivamente: mentol (45%); terpinen-4-ol (42,5%) e acetato de carquejila (62,9%), acetato de linalila (40,6%). Para *E. coli* a CIM observada foi 6,25; 25; 50 e 12,5 mg/mL, para *S. aureus*, a CIM observada foi 3,12; 6,25; 50 e 12,5 mg/mL; para *S. Enteritidis* a CIM observada foi 6,25;12,5; 12,5 e 25 mg/mL para *M. piperita*; *M. alternifolia*; *B. trimera*; *C. bergamia*, respectivamente. Para *E. coli* a CBM observada foi 6,25; 25; 50 e 12,5, para *S. aureus* a CBM observada foi 12,50; 50; 50; 50, para *S. Enteritidis* a CBM observada foi 6,25;12,5; 12,5 e 25 mg/mL para *M. piperita*; *M. alternifolia*; *B. trimera*; *C. bergamia*, respectivamente. O óleo essencial de *M. piperita* foi o que obteve o menor CIM e CBM.

Palavras-chave: Patógenos de origem alimentar, Compostos naturais, *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera*; *Citrus bergamia*.

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTION OF ESSENTIAL OILS BEFORE PATHOGENIC BACTERIAL STRAPS.

ABSTRACT

Global public health has been under serious threat from antibiotic resistance, promoted by the abusive use of antimicrobials in animal production. Regulatory organizations have pointed out the risks posed by direct exposure to antibiotic residues in foods of animal origin. Essential oils have bioactive qualities and compounds that are still poorly studied, and have used for the development of new antibiotic substances. The objective of this work was to identify the chemical compounds of the essential oils of *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera* and *Citrus bergamia*, and to evaluate their in vitro antimicrobial activity on strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* serotype Enteritidis, which are among the five pathogens causing the most prevalent Foodborne Diseases worldwide. The components present in the samples of essential oils were analyzed and identified by gas chromatography-mass spectrometry (CG-MS). The antimicrobial action of essential oils on bacterial strains was determined using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), by the broth microdilution method, and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The major compounds of *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* and *C. bergamia* were, respectively: menthol (45%); terpinen-4-ol (42.5%), carquejila acetate (62.9%) and linalyl acetate (40.6%). For *E. coli* the MIC was 6.25; 25; 50 and 12.5 mg / mL, for *S. aureus*, the MIC was 3.12; 6.25; 50 and 12.5 mg / ml; and for *S. Enteritidis* the MIC was 6.25; 12.5; 12.5 and 25 mg / mL for *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* and *C. bergamia*, respectively. The essential oil of *M. piperita* was the one that obtained the smallest MIC and MBC

Keywords: Foodborne pathogens, Natural compounds, *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera*; *Bergamia citrus*

INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana aos antimicrobianos representa uma ameaça grave à saúde pública global. A despeito de sua gênese multifatorial, um dos fatores fundamentais que a desencadeia é o uso desnecessário e abusivo de antimicrobianos, fato extensivamente exposto na literatura (DEL FIOLE, et al. 2010; ROCA, et al. 2015). Bactérias resistentes pode não responder a efetividade dos antimicrobianos, demandando a administração de fármacos mais tóxicos e caros, acarretando danos à saúde humana e podendo ainda aumentar o tempo

de internação e os gastos tanto para o indivíduo quanto para o sistema de saúde (COSTA, et al. 2019; ZIMERMAN, 2010; MACGOWAN, 2008).

Os órgãos regulamentadores e de pesquisa têm dado atenção especial aos riscos à saúde humana representados pela exposição direta aos resíduos de antibióticos em alimentos de origem animal (REGITANO e LEAL, 2010; PALERMO-NETO, 2007; PALERMO-NETO e ALMEIDA, 2006). Assim, o aumento de casos de resistência bacteriana aos antibióticos em humanos, tem causado uma verdadeira batalha na busca por substitutos naturais em animais (ROSADO, 2019).

Pesquisas acerca do emprego de plantas com componentes bioativos com potencial antimicrobiano para o desenvolvimento de novos antibióticos vêm ampliando a descoberta de diversos compostos ainda pouco estudados (ALCÂNTARA, et al. 2019). Os óleos essenciais (OLES) são antimicrobianos naturais, e são isolados de fontes vegetais que têm o potencial de combater diversos patógenos de origem alimentar e também outros organismos que podem ser prejudiciais à saúde. Considerados metabólitos secundários, os OLES são produzidos pelas plantas e sintetizados em distintas partes da mesma: como brotos, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, raízes, madeira ou casca (CORREA, et al. 2019; RAO e MCCLEMENTS, 2019).

A composição química do OLES é diretamente influenciada por fatores relacionados ao local de cultivo e colheita da planta. Além disso, a estação do ano, o tipo de solo e também a genética da planta, podem modificar seus compostos químicos majoritários e minoritários, influenciando assim em seu potencial de efeito antimicrobiano. Devido a este fato, pesquisadores devem avaliar a composição química das fontes vegetais para a extração dos OLES.

Dentre as inúmeras plantas com potencial antimicrobiano, as plantas de *Mentha piperita*, (hortelã-pimenta), *Melaleuca alternifolia* (árvore-de-chá), *Baccharis trimera* (carqueja-amarga) e *Citrus bergamia* (bergamota) têm alcançado respostas antimicrobianas.

O óleo essencial de *M. piperita*, pode ser usado como um bom agente de defesa inibindo patógenos de origem alimentar (SINGH, et al. 2015). O óleo essencial de *M. alternifolia* possui importância medicinal e comprovada ação bactericida e antifúngica contra diversos patógenos humanos e animais (OLIVEIRA, et al. 2011) A *B. trimera*, apresenta ação *antirreumática, estomáquica, anti-helmíntica* (GARCIA, et al. 2014). A *C. bergamia* possui atividade antibacteriana e antisséptica, sendo o seu óleo essencial muito utilizado (VERZERA, et al. 2003).

Porém ainda são poucos dados sobre a atividade dessas plantas frente às bactérias patogênicas *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* sorotipo Enteritidis (*S. Enteritidis*) e

Staphylococcus aureus (SINGH, et al. 2015; OLIVEIRA, et al. 2011; SCHMIDT, et al 2008; LV, et al. 2011), que estão entre os cinco patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos mais prevalentes mundialmente (WHO, 2016).

Diante disso, objetivou-se identificar a composição química dos OLES de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia*, além de investigar seu efeito antimicrobiano contra cepas bacterianas patogênicas (*E. coli*, *S. aureus* e *S. Enteritidis*) de importância econômica para a cadeia produtiva da avicultura, visando a possível utilização do óleo essencial como aditivo na dieta de codornas de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e extração dos óleos essenciais

Os OLES foram adquiridos através de empresa referência na comercialização de produtos químicos aromáticos para perfumaria e seus derivados, localizada no estado do Paraná, Brasil. O processamento industrial ocorreu por meio da utilização das partes das plantas: as folhas para a *M. piperita* (hortelã-pimenta) e *M. alternifolia* (chá de árvore); parte aérea para *B. trimera* (carqueja-amarga) e a casca para a *C. bergamia* (bergamota).

A extração do óleo essencial ocorreu por hidrodestilação, utilizando um aparelho de Clevenger modificado adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade de 4 litros, por um período de 2 horas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). O material obtido foi centrifugado por 5 minutos, e, os óleos foram acondicionados e armazenados em frascos de vidro âmbar.

Identificação e quantificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais

As amostras dos OLES foram analisadas no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais por cromatografia em fase gasosa (AGILENT 7820A), equipado com uma coluna Supelcowax 10 - 15m x 0,2mm x 0,2 µm (Supelco).

A temperatura da coluna foi programada na faixa de 50°C até 200°C, com variação de 3°C min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 220°C. Foi injetado 1 µL de amostra no modo split (1 50⁻¹). As concentrações relativas (%) correspondentes aos componentes do óleo essencial foram calculadas utilizando o software Varian Star 5.52. A identificação dos picos foi realizada por comparação dos índices de retenção, calculados a partir de uma série n-alcanos (C9 a C17) e espectros de massas (DAVIES,1990), com os

padrões comerciais e compostos de referência presentes em óleos existentes no laboratório e por comparação com uma biblioteca de espectros de massas desenvolvida no próprio laboratório.

A identificação dos componentes foi posteriormente confirmada utilizando cromatografia em fase gasosa Hewlett-Packard 6890, acoplada a um espectrômetro de massas Hewlett-Packard 5989A e programa MS Chemstation (HP), coluna capilar SE54, 30 m x 0,32 mm (Alltech, Deerfield, TI, USA) e hélio como gás de arraste (2 mL min^{-1}) (BOTREL, et al. 2010).

Os espectros foram obtidos por impacto eletrônico (IE) a 70 eV. Os componentes foram identificados por comparação dos espectros de massa, obtidos com os espectros do banco de dados Wiley 138 e pelo site webbook.nist.gov

Ensaio biológicos

As cepas de referência utilizadas no estudo foram *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) sorotipo O157:H7 (CDC EDL-933) e *S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo Enteritidis fagotipo 4 (SE PT4). Os micro-organismos foram obtidos do Laboratório de Materiais de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro - RJ, Brasil). As cepas foram reativadas em caldo Mueller Hinton a 37°C no Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-Bahia, Brasil. Para a condução do estudo, suspensões dos micro-organismos foram preparadas em solução salina, sob a concentração aproximada de $1,5 \times 10^6$ ufc/mL micro-organismo, equivalente a 0,5 da Escala de MacFarland.

Teste de suscetibilidade a 16 antibióticos comerciais (Antibiograma)

Foram selecionados os 16 tipos de antibióticos mais utilizados no tratamento de doenças de origem bacteriana decorrentes na comunidade humana e animal. A susceptibilidade aos antibióticos foi determinada pelo método de disco-difusão em ágar Mueller-Hinton (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.), com suspensão bacteriana de turbidez igual a escala McFarland 0.5, de acordo com a metodologia de Bauer, et al. (1966) conforme as instruções estabelecidas pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2005). Foram utilizados discos de Amoxicilina / Ácido clavulânico 20/10µg (AMC 30); Amicacina 30 µg (AMI 30); Ampicilina/Sulbactam 10/10 µg (ASB 20); Cefoxitina 30 µg (CFO 30); Ciproflaxina 5 µg (CIP 5); Cloranfenicol 30 µg (CLO 30); Cefepime 30 µg (COM 30); Gentamicina 10 µg (GEN 10); Imipenem 10 µg (IPM 10); Lomefloxacin 10 µg (LMX 10); Norfloxacin 10 µg (NOR 10); Piperacilina / Tazobactan 100/10 µg (PPT 110); Sulfazotrina 25 µg (SUT 25); Tobramicina 10

µg (TOB 10); Trimetropim 5 µg (TRI 5); Vancomicina 30 mcg (VAN 30) (LABORCLIN – Produtos para Laboratórios Ltda; Pinhais – Paraná; Brasil). Para o controle de qualidade do teste, foi utilizada a cepa de *E. coli* (ATCC® 25922™).

Teste da ação antimicrobiana – Microdiluição

A ação dos OLES de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia* sobre as amostras de *E. coli*, *S. Enteritidis* e *S. aureus*, foram testadas pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com a “Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactérias de Crescimento Aeróbico”, padronizada pela Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2005), com algumas modificações.

O meio de cultura dos testes foi preparado com caldo Mueller Hinton e solução solvente composta por água destilada, dimetilsufóxido (DMSO) a 10% e Tween 80 a 1% de acordo com a metodologia de Linhares Neto, et al. (2018). A diluição seriada dos OLES foi realizada na microplaca de 96 poços com concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 e 1,56 mg/mL.

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

A técnica da microdiluição em caldo (SOUZA, 2006) foi realizada para se estimar a concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial para as cepas de *E. coli*, *S. Enteritidis* e *S. aureus*, em triplicata. A CIM foi definida como a menor concentração do extrato em mg.mL⁻¹, capaz de impedir o crescimento microbiano. Já a Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi determinada com base na metodologia de Santurio, et al. (2008) e Lennette, et al. (1985), através da semeadura em placas de petri.

Para a preparação das microplacas de 96 poços foram depositados 100µL de Caldo Mueller Hinton aos poços e em seguida foram realizadas diluições seriadas adicionado alíquotas de 100µL dos OLES dissolvidos na solução solvente. Por fim, foi adicionada, em todos os poços, 10µL de suspensão dos micro-organismos preparadas em solução salina, sob a concentração $1,5 \times 10^6$ micro-organismos/mL, equivalente a 0,5 da Escala de MacFarland. Ainda foram adicionados os controles: controle positivo (C+) (Caldo Mueller Hinton e bactéria), controle (C1) (meio de cultura e diluente), controle neutro (C0) (somente o meio de cultura) e o controle negativo (C-) (meio de cultura, bactéria e antibiótico). Utilizou-se como controle negativo o antimicrobiano ciproflaxacina 100mg/mL (CLSI, 2005), para verificar

se o mesmo possuía algum efeito sobre as bactérias. A microplaca foi incubada estaticamente a 37°C por 24 horas.

Após o período de incubação de 24 horas, foi realizado o método colorimétrico com a resazurina sódica 0,01%, aplicando-se 10µL da solução em cada poço e esperando-se uma hora para realizar a leitura visual dos resultados, em que o azul caracteriza a inatividade bacteriana e o vermelho a atividade (ARAUJO e LONGO, 2016).

Além da determinação da CIM, foi estipulado a Concentração Bactericida Mínima (CBM). Após um período de 24 horas da inoculação nas microplacas, o conteúdo foi coletado a partir de cada poço, e aplicado em placas de petri, contendo Ágar Mueller Hinton (AMH), para que em seguida, fossem incubadas em estufa por 24 horas a 37°C. Onde não foi observado crescimento bacteriano no ágar, e ao mesmo tempo se observou uma concentração menor do óleo presente, considerou-se como a CBM (LENNETTE, et al. 1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cromatografia gasosa com espectroscopia de massas (CG/MS)

De acordo com análises cromatográficas dos OLES de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia*, os resultados revelaram diferenças nas concentrações dos componentes dos respectivos óleos, principalmente nos constituintes majoritários. Pode-se observar que o óleo essencial de *M. piperita* apresentou o mentol (45%) e a mentona (23,3%) como os compostos em maior quantidade em sua composição, sua porcentagem relativa da área total do cromatograma e os tempos de retenção estão apresentado na Figura 1.

Moscato, et al (2016) revela que o plantio em latitudes abaixo de 40° influencia diretamente em sua composição, e isso foi visto em seus resultados, sendo a carvona (85,65%) e Cisdihidro-carvona (2,3%) os compostos majoritários. Distintamente, diversos autores obtiveram como constituintes mais abundantes o mentol, seguido da mentona.

Behnam, et al. (2006) observou que 36,24% do óleo essencial da *M. piperita* era composto de mentol e 32,42% de mentona; Sokovic, et al. (2009) observaram 37,4% de mentol e 12,7% para mentona; Djenane et al (2012) observaram mentol (33,28%) e mentona (22,03%); Mahboubi e Kazempour, (2014) observaram mentol (36,9%) e mentona (28,8%).

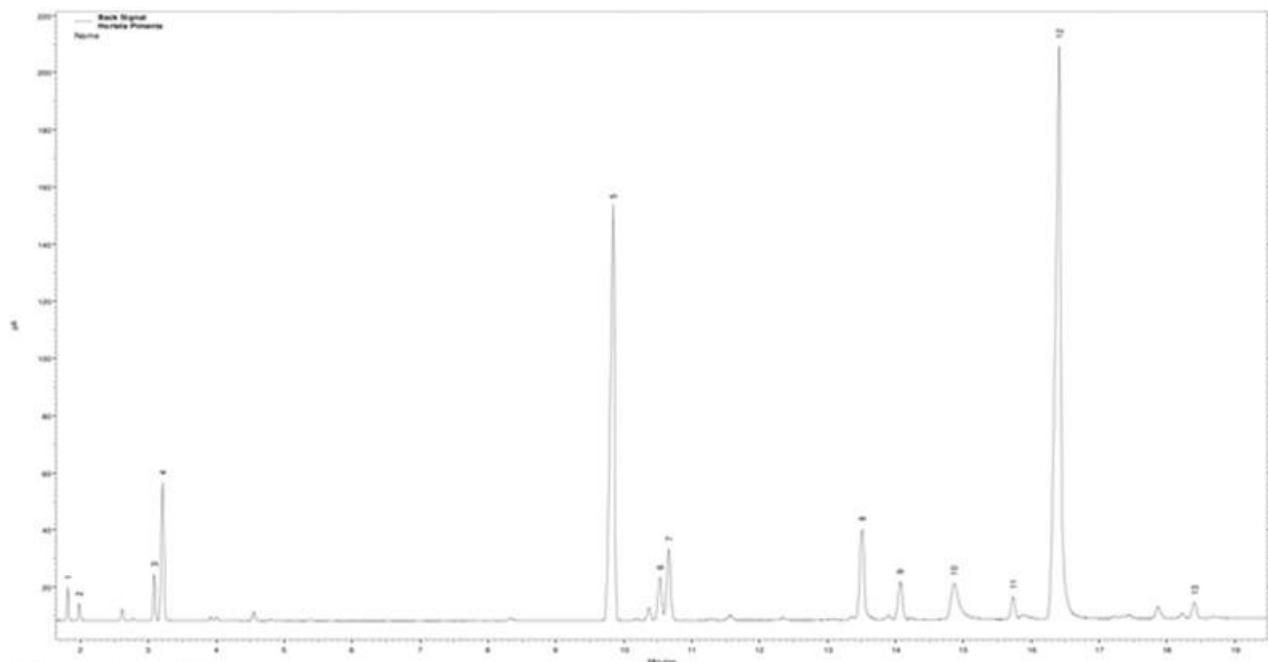


Figura 1. Cromatograma de óleo essencial de *Mentha piperita* realizado usando um cromatograma de gás espectrometria de massa Agilent 7820A equipado com uma coluna Supelcowax 10-15m x 0,2mm x 0,2 μ m (Supelco). 1. α -pineno; 2. β -pineno; 3. limoneno; 4. 1,8-cineol; 5. mentona; 6. mentofurano; 7. isomentona; 8. acetato de mentila; 9. Isopulegol; 10. neo-isomentol; 11. pulegona; 12. mentol; 13. piperitona.

Os resultados observados no presente estudo corroboram com a literatura consultada, sendo todos extraídos de folhas, o mentol correspondendo à 45% e a mentona à 23,3% do óleo essencial de *M. piperita*. A manifestação do mentol e da mentona como componentes majoritários do óleo essencial de *M. piperita* nos diferentes trabalhos, inclusive neste, provavelmente ocorreu devido a forma de extração do óleo, onde foram utilizadas as folhas da planta. O mentol e a mentona contidos no óleo essencial de *M. piperita* vêm se destacado na literatura como elementos importantes, devido ao efeito antimicrobiano atribuído a eles, conferindo ao óleo essencial um papel promissor como antibiótico natural. Já *M. alternifolia* apresentou como compostos principais o terpinen-4-ol (42,5%) e γ -terpineno (20,4%), sua porcentagem relativa da área total do cromatograma e os tempos de retenção estão apresentados na Figura 2.

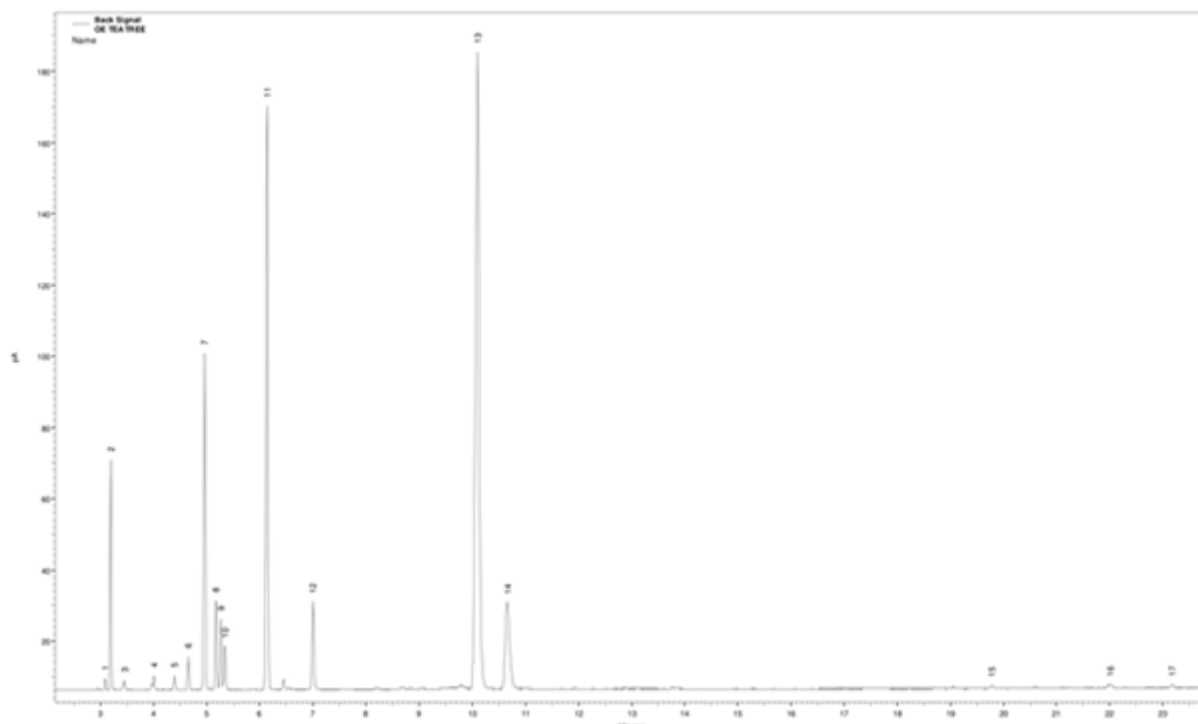


Figura 2. Cromatograma de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* realizado usando um cromatograma de gás espectrometria de massa Agilent 7820A equipado com uma coluna Supelcowax 10-15m x 0,2mm x 0,2 μ m (Supelco). 1. α -tujeno; 2. α -pineno; 3. canfeno; 4. β -pineno; 5. mirceno; 6. α -felandreno; 7. α -terpineno; 8. p-cimeno; 9. limoneno; 10. 1,8-cineol; 11. γ -terpineno; 12. terpinoleno; 13. terpinen-4-ol; 14. α -terpineol; 15. β -gurjuneno; 16. viridiflorino; 17. cis-calameno

Para o óleo essencial de *M. alternifolia*, segundo o *International Standard* (ISO-4730), o terpinen-4-ol, presente no óleo essencial deve ter sua quantidade maior que 30%, para ser considerado dentro dos padrões recomendados. Pode-se observar que no resultado cromatográfico do presente trabalho o óleo essencial de *M. alternifolia* obteve a concentração de 42,5%, ficando dentro dos padrões especificados pelo ISO-4730. O γ -terpineno, segundo composto majoritário presente no óleo essencial de *M. alternifolia* está especificado pelo ISO-4730 que deve estar entre 10 e 28%, na composição. Sendo assim, o resultado demonstrado na tabela 1 mostra que o γ -terpineno está entre os parâmetros estipulados com 20,4% na composição do óleo essencial.

Valores elevados de terpinen-4-ol pode remeter que a atividade antimicrobiana do óleo essencial da *M. alternifolia* está quase inteiramente associado a ele. Apesar de se encontrar em maior quantidade, outros componentes também apresentam essa propriedade como o α -terpineno, γ -terpineno e terpinoleno, a todos são conferidos ação antimicrobiana (CARSON e RILEY, 1995), pois atuam desestabilizando a membrana citoplasmática microbiana (DE SOUSA BARROS, et al. 2015) essas propriedades podem possibilitar o uso do óleo essencial de *M. alternifolia* como um antibiótico alternativo e de origem natural.

Borges, (2017), encontrou diferentes concentrações para o composto terpinen-4-ol, 7,78%, 1,20% e 53,77% analisando três tipos de OLES comerciais de *M. alternifolia*, constatando dessa forma que composição química de um produto com *M. alternifolia* que inicialmente atende aos padrões da ISO pode variar com o tempo ou pelo armazenamento em más condições, gerando um produto que já não atende aos padrões. O que é de grande relevância já que esse composto é um dos que detêm a atividade antimicrobiana e está em maior quantidade. A *B. trimera* apresentou em maior quantidade os compostos acetato de carquejila (62,9%) e o ledol (7,8%). Os principais constituintes, sua porcentagem relativa da área total do cromatograma e os tempos de retenção estão apresentados na Figura 3.

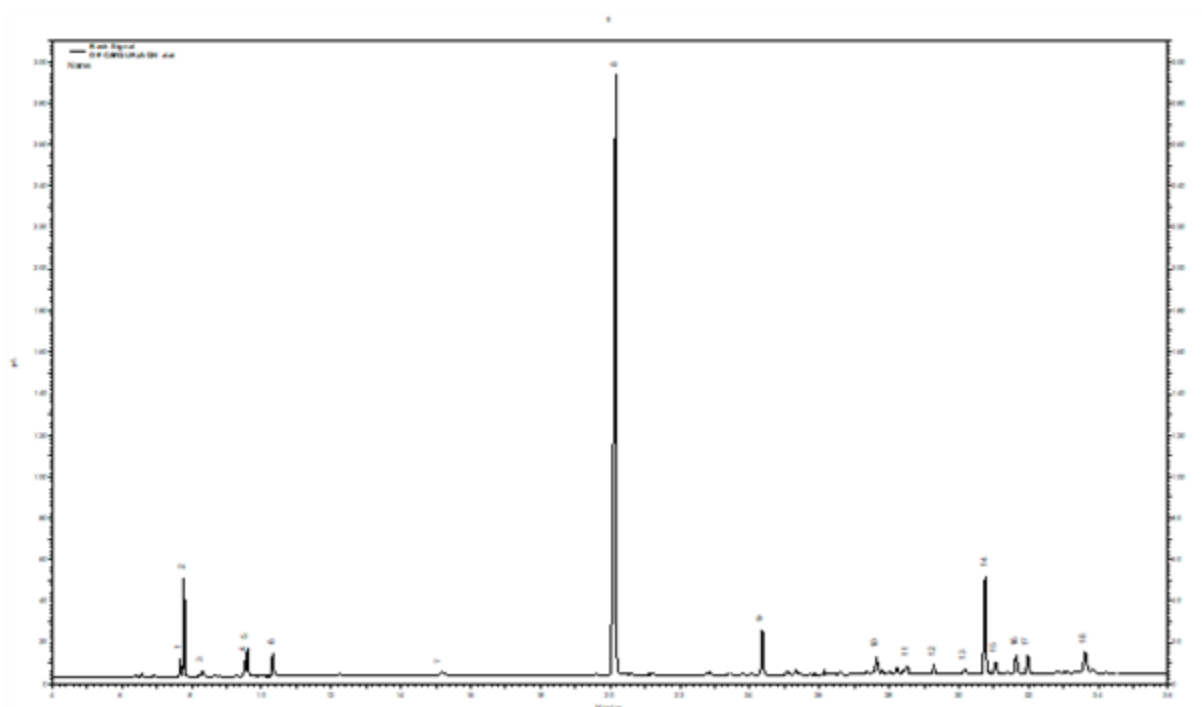


Figura 3. Cromatograma de óleo essencial de *Baccharis trimera* realizado usando um cromatograma de gás espectrometria de massa Agilent 7820A equipado com uma coluna Supelcowax 10-15m x 0,2mm x 0,2 μ m (Supelco). 1. sabineno; 2. β -pineno; 3. mirceno; 4. eucaliptol; 5. limoneno; 6. E- β -ocimeno; 7. carquejol; 8. acetato de carquejila; 9. β -elemeno; 10. germacreno; 11. δ -cadineno; 12. biciclogermacreno; 13. elemol; 14. ledol; 15. espatulenol; 16. epiglobulol; 17. oxido de humuleno; 18. β -eudesmol.

Já para o óleo de *B. trimera*, a presença dos componentes carquejol e o acetato de carquejila são fortes indicadores da espécie da planta (SILVA, et al. 2013). Analisando os compostos nos óleos de *B. trimera* do Uruguai, Minteguiaga, et al. (2018), perceberam uma variação importante do percentual do acetato de carquejila entre o inverno vegetativo (23,5%) e o verão florescimento (71,4%). O composto carquejol demonstrou uma tendência oposta: 3,5% no inverno e 0,5% no verão. No presente estudo pode ser observado a presença do acetato de carquejila em 62,9%, e carquejol em (0,6%). Isso pode evidenciar que, devido as

porcentagens apresentadas, estes compostos podem ter sido provindos de plantas que foram coletadas durante o estágio de florescimento durante a estação mais quente do ano. Santos, (2018) revela como um dos compostos de maior concentração, o acetato de carquejila (22,90 - 27,93%) e carquejol (3,03 - 4,29%), porém em valores reduzidos, sugerindo desta forma, que os mesmos provêm de plantas que provavelmente foram coletadas durante o período vegetativo.

Porém, Lago, et al. (2008) não detectou o componente acetato de carquejila, além de observar que importantes derivados da *B. trimera* estavam em menores quantidades, cerca de 8%. Suzuki, et al. (2016) relata como componentes majoritários o β -pineno (23,4%) e acetato de carquejila (19,0%). Morais e Castanha, (2011) sugerem que a falta das substâncias carquejol e acetato de carquejila na análise pode indicar que as espécies não são de *B. trimera*. Entretanto, existe a possibilidade de decomposição e modificação destas substâncias durante o processo de extração ou devido às condições de crescimento da planta (PALÁCIO, et al. 2007).

As substâncias carquejol e acetato de carquejila estão presentes na maioria das plantas do gênero *Baccharis*, entretanto o acetato de carquejila é considerado um biomarcador para a espécie de *B. trimera* (SIMÕES-PIRES, et al. 2005). Ferreira, (2012) comparando duas espécies do mesmo gênero *B. articulata* e a *B. trimera*, apontou que a *B. trimera* se apresentou mais eficiente como um antimicrobiano, considerando o fato desta espécie apresentar majoritariamente o elemento acetato de carquejila, possivelmente pode-se concluir que o mesmo pode ser responsável pelo efeito antimicrobiano da espécie.

É possível notar na tabela 1, que há também os valores de outros componentes minoritários que Segundo Suzuki, et al. (2016) também são importantes na identificação da *B. trimera*, sendo o β -pineno (4,8%), limoneno (1,6%), E- β -ocimeno (1,5%) germacreno D (1,6%) ledol (7,8%) epiglobulol (1,8%) e β -eudesmol (2,2%). O mesmo foi observado por Minteguiaga et al. (2018), onde os valores dos mesmos compostos foram semelhantes.

A *C. bergamia* apresentou majoritariamente em sua composição o acetato de linalila 40,6%, limoneno (29,4%), e linalool (18,5%), sua porcentagem relativa da área total do cromatograma e os tempos de retenção estão apresentados na Figuras 4.

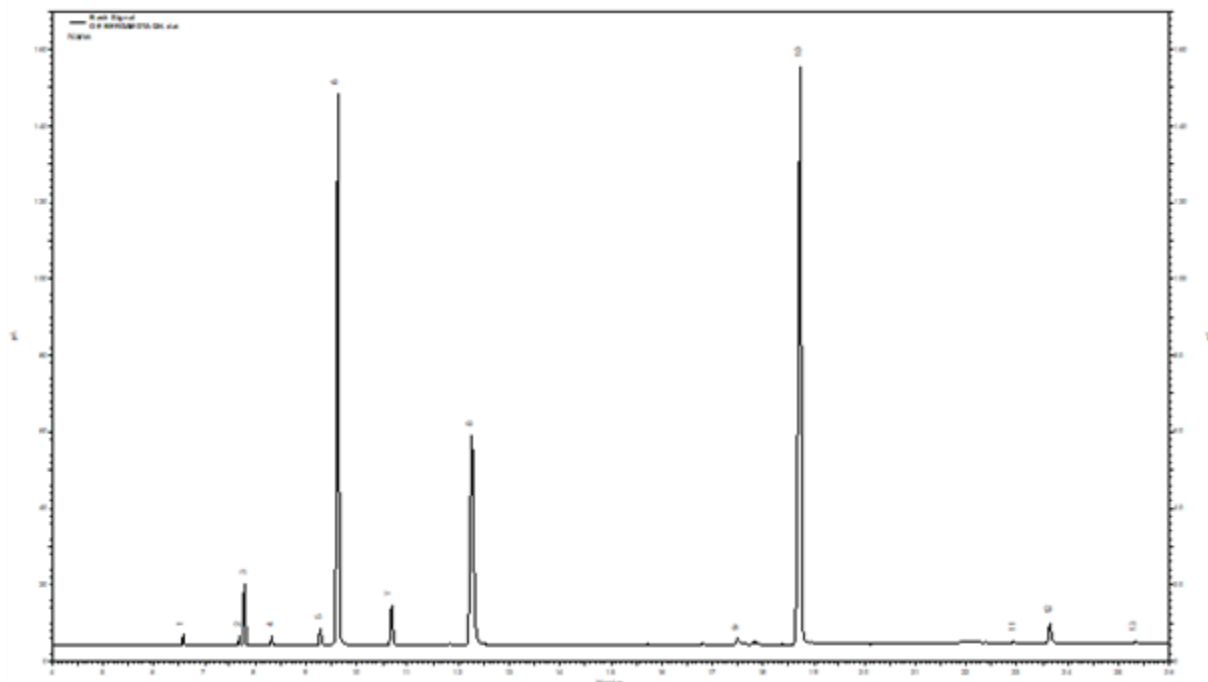


Figura 4. Cromatograma de óleo essencial de *Citrus bergamia* realizado usando um cromatograma de gás espectrometria de massa Agilent 7820A equipado com uma coluna Supelcowax 10-15m x 0,2 mm x 0,2 μ m (Supelco). 1. α -pineno; 2. sabineno; 3. β -pineno; 4. mirceno; 5. p-cimeno; 6. limoneno; 7. γ -terpineno; 8. linalol; 9 nerol; 10. acetato de linalila; 11. acetato geranila; 12. β -bourboneno; 13. α -bergamoteno.

A composição do óleo essencial de *C. bergamia* difere muito de outros óleos de casca de citrinos devido à grande quantidade de compostos oxigenados (DI GIACOMO e MINCIONE, 1994), principalmente acetato de linalila e linalool, que podem ser mais do que 50% de toda a fração volátil. No presente estudo observou-se que o acetato de linalila e o linalool juntos compõem aproximadamente 60% da composição volátil do óleo essencial total, o que se ampara na afirmativa dos autores. Por outro lado, Nabiha, et al. (2010) encontraram alto teor de limoneno 59,21%, linalool 9,51% e acetato de linalila 16,83%, provavelmente esse valor se diferencia, devido a variabilidade na origem do óleo essencial que podem causar diferenças em seus elementos majoritários.

Esses compostos oxigenados presentes no óleo essencial de *C. bergamia* são definidos como metabólitos secundários, sendo uma das substâncias mais importantes na indústria farmacêutica; onde são atribuídos efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, hipotensores, vasorrelaxantes, antinociceptivos e atividade antimicrobiana. O Linalool pode surgir como uma possibilidade terapêutica em diversas enfermidades, quando aplicado a órgãos e tecidos diferenciados (CAMARGO, et al. 2014).

Levando em consideração a quantidade de limoneno na composição do óleo essencial, Calvarano e Calvarano, (1964) analisaram quatro amostras de óleo de *C. bergamia*

adulterados, onde foram caracterizadas por maiores quantidades de limoneno em comparação com óleos genuínos.

No presente trabalho é identificado que há 29,4% de limoneno presente na composição do óleo essencial de *C. bergamia* estudado. Um levantamento feito por Dugo e Bonaccorsi, (2013), a quantidade de limoneno teve variação média de 24,07 - 54,85% nas diferentes estações produtivas, sendo assim, o óleo essencial utilizado no presente estudo permanece com valor dentro da média, conferindo-o padrão de qualidade e originalidade, inclusive de ação antimicrobiana, pois o limoneno também pode atuar causando efeito tóxico sobre a membrana celular comprometendo a função de permeabilidade seletiva (MILLEZI, et al. 2014). Entretanto Ataide, et al. (2019) testando o óleo essencial de citrus como inseticida, constatou que o limoneno isoladamente não apresentou o mesmo efeito de quando associado a outros componentes, mesmo em baixas concentrações

Alguns OLES apresentaram compostos em comum, porém com diferenças expressivas entre eles, ou seja, apresentaram-se de forma majoritária em uns e, em outros, são encontrados minoritariamente, como é o caso do composto limoneno que representa 29,4% no óleo essencial de *Citrus bergamia*, porém nos OLES de *M. alternifolia*, *B. trimera* e *M. piperita* representam 2,2%, 1,6% e 1,4%, respectivamente. Já para γ -terpineno, encontrado na quantidade de 20,4% no óleo essencial de *M. alternifolia*, também está presente em 2,3% da composição do óleo essencial de *C. bergamia*. Além desses, também é possível perceber que o composto β -pineno apesar de estar em baixa concentração faz parte da composição de todos os quatro OLES, sendo 2,9%;0,4%;4,8%; e 0,4% para os OLES de *C. bergamia*, *M. alternifolia*, *B. trimera*, e *M. piperita* respectivamente.

A tabela 1 retratada a composição química dos OLES de *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera* e *Citrus bergamia*, onde estão dispostos os componentes majoritários e minoritários de cada óleo essencial.

Bomfim, (2019) afirma que a contribuição das substâncias minoritárias presentes não pode ser descartada devido ao efeito sinérgico. Esse fato pode levar a reflexão sobre a possibilidade de que os componentes dos OLES, mesmo que em baixas concentrações, podem atuar de forma combinatória entre si para exercer o efeito esperado.

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais de *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera* e *Citrus bergamia*.

Especies	IR	<i>Citrus bergamia</i>	<i>Melaleuca alternifolia</i>	<i>Baccharis trimera</i>	<i>Mentha piperita</i>
Components	calc	(%)	(%)	(%)	(%)
α-pinene	921	0.5	5	-	0.8
sabinene	951	0.5	-	0.8	-
β-pinene	953	2.9	0.4	4.8	0.4
myrcene	968	0.6	0.4	0.3	-
α-thujene	979	-	0.3	-	-
camphene	988	-	0.4	-	-
p-cymene	993	1	2.8	-	-
eucalyptol	1000	-	-	0.9	-
limonene	1002	29.4	2.2	1.6	1.4
α-phellandrene	1021	-	1	-	-
E-β-ocimene	1021	-	-	1.5	-
α-terpinene	1029	-	10	-	-
γ-terpinene	1030	2.3	20.4	-	-
1,8-cineole	1039	-	1.4	-	4.7
linalool	1072	18.5	-	-	-
terpinolene	1084	-	3.4	-	-
carquejol	1149	-	-	0.6	-
terpinen-4-ol	1168	-	42.5	-	-
α-terpineol	1183	-	7.3	-	-
nerol	1211	0.6	-	-	-
Linalyl acetate	1244	40.6	-	-	-
carquejila acetate	1282	-	-	62.9	-
geranyl acetate	1355	0.2	-	-	-
β-bourbonene	1374	1.3	-	-	-
β-elemene	1394	-	-	3.1	-
α-bergamotene	1419	0.2	-	-	-
menthone	1419	-	-	-	23.3
β-gurjunene	1429	-	0.2	-	-
menthofuran	1440	-	-	-	2.2
isomentone	1444	-	-	-	3.7
germacrene d	1480	-	-	1.6	-
viridiflorine	1489	-	0.4	-	-
δ-cadinene	1504	-	-	0.7	-
cis-calamenene	1521	-	0.3	-	-
bicyclogermacrene	1524	-	-	0.6	-
methyl acetate	1531	-	-	-	5.5
elemol	1548	-	-	0.5	-
isopulegol	1549	-	-	-	2.2
ledol	1563	-	-	7.8	-
spathulenol	1571	-	-	1.2	-
neoisomenthol	1573	-	-	-	4.2
epiglobulol	1587	-	-	1.8	-
humulene oxide	1595	-	-	1.7	-
pulegone	1600	-	-	-	1.3
menthol	1621	-	-	-	45
β-eudesmol	1639	-	-	2.2	-
piperitone	1682	-	-	-	1
others	-	1.6	1.7	5.1	4.3

* IR: taxas de retenção relativas calculadas contra n-alcenos (Adams, 2007). Porcentagem calculada.

Atividade Antibacteriana

Teste de susceptibilidade antimicrobiana (Antibiograma)

A Tabela 2 registra os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos encontrados para *S. aureus*, *E. coli* e *S. Enteritidis*. Como se nota, 80% dos antibióticos testados apresentaram

eficiência, 20% apresentaram eficiência intermediária e nenhum se apresentou resistente contra a cepa de *S. Enteritidis*.

Tabela 2. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos* das cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *S. Enteritidis*.

Cepas bacterianas	Perfil de resistência		
	Sensível	Intermediario	Resistente
<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica sorotipo Enteritidis tipo 4	AMI, AMC, CLO, GEN, IPM, LMX, NOR, PPT, SUT, TOB, TRI, ASB	CPM, CFO, CIP	-----
Enterohemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC) sorotipo O157:H7 (CDC EDL-933)	AMI, AMC, CPM, CFO, CIP, CLO, GEN, NOR, TOB, ASB	IPM, SUT	LMX, PPT, TRI
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	GEN, IPM, NOR, SUT, TOB, VAN	AMI, CIP, CLO, LMX, ASB	AMC, CPM, PPT, TRI

* AMC – Amoxicilina / Ácido clavulânico 20/10µg; AMI – Amicacina 30 µg; ASB – Ampicilina/Sulbactam 10/10 µg; CFO – Cefoxitina 30 µg; CIP – Ciproflaxina 5 µg; CLO – Cloranfenicol 30 µg; CPM – Cefepime 30 µg; GEN – Gentamicina 10 µg; IPM – Imipenem 10 µg; LMX – Lomefloxacina 10 µg; NOR – Norfloxacina 10 µg; PPT – Piperacilina / Tazobactan 100/10 µg; SUT – Sulfazotrin 25 µg; TOB – Tobramicina 10 µg; TRI – Trimetopim 5 µg; VAN - Vancomicina 30 mcg.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais

Os resultados da CIM podem ser vistos na figura 5 A, B e C. Pode-se observar, que após a adição de resazurina sódica (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) às culturas bacterianas, ficou evidenciado que, à medida que a concentração dos OLES aumentou, a coloração assumiu tonalidades azuladas, o que indica inibição do crescimento bacteriano.

A técnica de microdiluição em caldo juntamente com a adição de resazurina sódica torna possível a identificação dos valores das concentrações inibitórias mínimas (CIM) de cada óleo essencial. Pode ser observado também na figura 5 que não houve inibição realizada pela adição do diluente (água destilada mais DMSO (10%) mais Tween 80 (1%)), já que no controle positivo (C+) (meio de cultura + diluente + inoculo bacteriano) houve crescimento bacteriano.

A resazurina sódica é um corante que evidencia a presença ou ausência de crescimento microbiano, sendo um indicador de oxirredução, em que a coloração azul indica ausência de crescimento microbiano e a vermelha representa a presença de células viáveis em crescimento; desta maneira é possível determinar a menor concentração de óleo capaz de inibir o crescimento dos microrganismos utilizados (BONAN, et al. 2010).

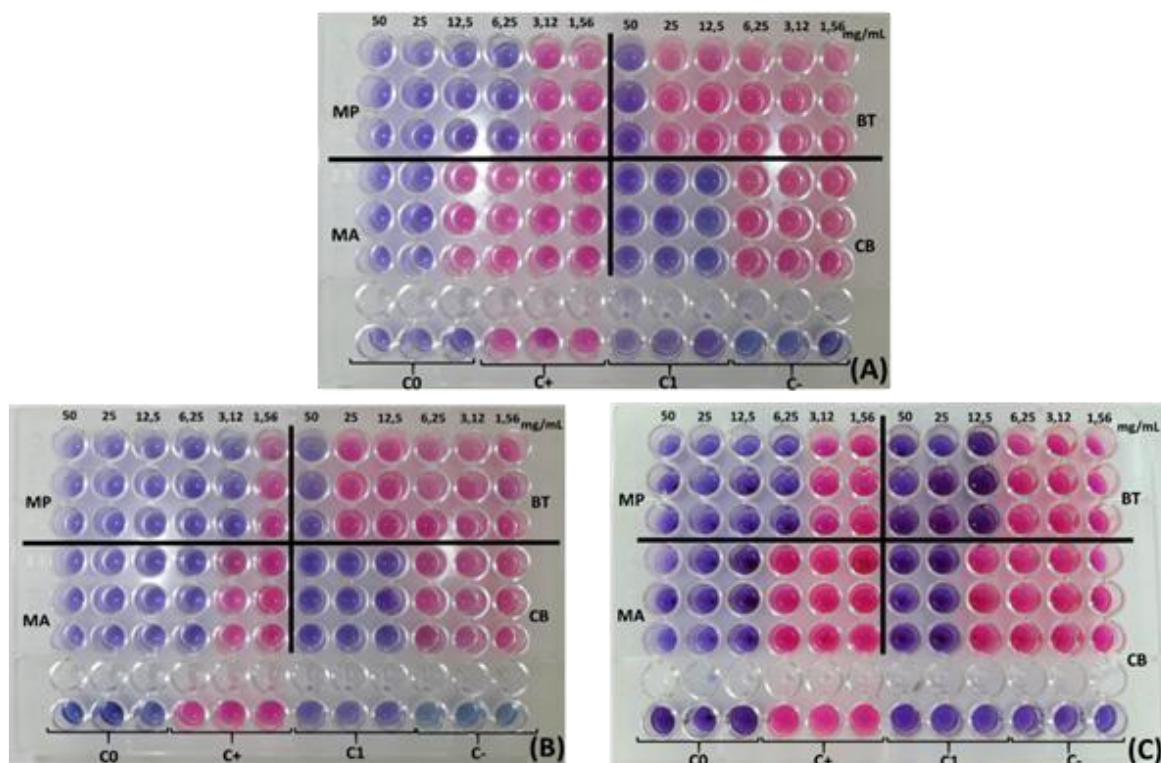


Figura 5. Placas de noventa e seis poços com a técnica de microdiluição em caldo após adição de resazurina sódica para determinar a concentração inibitória mínima dos óleos essenciais de *M. piperita* (MP), *M. alternifolia* (MA), *B. trimera* (BT) e *C. bergamia* (CB) em concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; e 1,56 (mg/mL), nas cepas de (A) *E. coli*, (B) *S. aureus* and (C) *S. Enteritidis*.

A tabela 3 sumariza o resultado obtido pelo método de microdiluição e mostra que para a amostra padrão de *E.coli*, os resultados da CIM foram de 6,25 mg/mL para o óleo essencial de *M. piperita*; 25,00 mg/mL para o de *M. alternifolia*; 50,00 mg/mL para o de *B. trimera*; e 12,50 mg/mL para o de *C. bergamia*. Para a bactéria *S.aureus*, a CIM dos OLES obteve os seguintes resultados, *M. piperita*: 3,12 mg/mL; *M. alternifolia*: 6,25 mg/mL; *B. trimera*: 50,00 mg/mL e *C. bergamia* :12,50 mg/mL. Os OLES avaliados frente a *S. Enteritidis* apresentaram CIM de 6,25; 12,50; 12,50; 25,00 mg/mL de *Mentha piperita* (MP), *Melaleuca alternifolia* (MA), *Baccharis trimera* (BT) e *Citrus bergamia* (CB), respectivamente.

Segundo Dorman et al. (2000) bactérias gram-negativas têm uma membrana externa que contém lipopolissacarídeos, formando uma superfície hidrofílica. Este caráter hidrofílico cria uma barreira à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais, podendo explicar a maior resistência de bactérias gram-negativas a esses aditivos.

Neste estudo, as bactérias gram-negativas, apesar de seu caráter hidrofóbico não apresentaram maiores valores de CIM, quando comparadas a bactéria gram-positiva, isso pode ter ocorrido devido ação de diluentes utilizados, que podem ter facilitado a entrada dos OLES nas membranas celulares das cepas patogênicas.

Tabela 3. Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) em mg / mL dos óleos essenciais de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C.bergamia* contra cepas de *E. coli*, *S. Enteritidis* e *S. aureus*.

Óleos essenciais	Microrganismos		
	Enterohemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC) sorotipo O157:H7 (CDC EDL-933) CIM (mg/mL)	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica sorotipo. Enteritidis tipo 4 CIM (mg/mL)	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538) CIM (mg/mL)
<i>Mentha piperita</i>	6.25	6.25	3.12
<i>Melaleuca alternifolia</i>	25.00	12.50	6.25
<i>Baccharis trimera</i>	50.00	12.50	50.00
<i>Citrus bergamia</i>	12.50	25.00	12.50

Valores diferentes foram encontrados por Jeyakumar e Tripti Pal, (2011), onde o óleo de hortelã-pimenta quanto à atividade contra *E. coli* e *S. aureus*, no método de difusão em ágar, descobriu-se uma CIM de 0,22 mg/ml para *E. coli* e de 0,05 mg/ml para *S. aureus*. Trajano, et al. (2009) utilizando o método de difusão em ágar mostraram através de halos de inibição de crescimento bacteriano que o óleo de *M. piperita* teve uma interessante atividade inibitória do crescimento bacteriano, inibindo a maioria das cepas testadas, dentre elas, *S. enterica* e a *S. aureus*, porém apresentou atividade nula em relação a *E.coli*, não obstante, Ebani, et al. (2018) encontrou como CIM 1,14 mg/ml.

Contudo Valeriano, et al. (2012), constatou que dentre os OLES testados, o de *M. piperita* apresentou-se superior em relação à atividade antibacteriana para *E. coli*, quando comparada as demais bactérias e apresentou atividade moderada frente a *S. Enteritidis*. O que diferencia do resultado encontrado no presente estudo, onde as CIM com o uso do óleo essencial de *M. piperita* foram 6,25 (mg/ml) contra as cepas de *E. coli*, *S. Enteritidis* e 3,12 (mg/ml) para *S. aureus* respectivamente, sendo assim, apresentando valores acima do intervalo encontrado pelos autores.

Neste estudo é possível perceber que a atividade do óleo essencial de *M. piperita*, obteve a menor CIM para a bactéria *S. aureus* (3,12 mg/ml) e manteve o mesmo valor para *E. coli* e *S. Enteritidis* (6,25 mg/ml) quando comparado as demais CIM para todas as três bactérias. Observou-se também que os outros OLES inibiram o crescimento bacteriano, mas a efetividade se alcançou por meio de valores de concentrações maiores.

O o óleo essencial de *M. piperita* possui caráter lipofílico e baixo peso molecular, proporcionando a capacidade de atravessar a parede celular e a membrana plasmática bacteriana, afetando a estrutura das diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios, aumentando a permeabilidade e causando danos a integridade da membrana.

Tendo em vista estes fatores, o uso da *M. piperita* foi capaz de inibir as bactérias *S. aureus*, *S. Enteritidis* e *E. coli*, além de apresentar menores valores de CIM, os quais provocaram efeito bacteriostático nas cepas estudadas (BAKKALI et al. 2008).

Os componentes mentol e mentona são os maiores responsáveis pelo efeito antimicrobiano da espécie *M. piperita*. Estes componentes estão presentes em maior quantidade do que nos demais OLES aqui estudados, este fato pode ter sido determinante para o efeito antimicrobiano superior deste.

Em relação à capacidade antimicrobiana do óleo essencial de *M. alternifolia*, trabalhos tem mostrado a efetividade do mesmo contra cepas de bactérias de diferentes espécies. No estudo realizado por Falci, et al. (2015) objetivou-se avaliar o efeito inibitório *in vitro* da *Melaleuca* sp. contra isolados de *S. aureus* resistentes a vários antibióticos, foi encontrado uma CIM de 2,14 mg/mL, resultado semelhante a Zhang, et al. (2018) que avaliando *in vitro* as atividades antimicrobianas do óleo essencial de *M. alternifolia* encontrou uma CIM de 2,00 mg/mL em seu estudo.

Ambos autores apresentam resultados que diferem do presente estudo em valores, onde o óleo essencial de *M. alternifolia* apresentou a CIM de 6,25 mg/mL para as cepas de *S. aureus*. Essa diferença nos valores de CIM podem ter como explicação a possível variabilidade da espécie da planta utilizada, podendo levar a diferenças nas composições químicas de seus óleos, onde a presença do eucaliptol no estudo de Falci, et al. (2015) foi majoritária, sendo que, no estudo de Zhang, et al. (2018) e neste presente estudo o mesmo não apareceu na composição química do óleo de *M. alternifolia*. Esse fator pode ser devido ao óleo essencial de *M. alternifolia* ser mais predisposto a alterações, principalmente por fator genético, mais do que pelo ambiente, que segundo Homer, et al. (2000) pode influenciar na ação antimicrobiana.

Em relação da bactéria *E. coli*, o óleo essencial de *M. alternifolia* foi testado por Zhang, et al. (2018), que determinou que a CIM de 8,00 mg/mL obteve resposta inibitória da bactéria. Entretanto, Ebani, et al. (2018) encontrou atividade nula deste óleo frente as cepas de *E. coli*. O presente estudo apresenta resultados que não corroboram com os autores, onde a CIM encontrada para a cepa de *E. coli* foi de 25,00 mg/ml.

Já para *S. Enteritidis* o óleo essencial de *M. alternifolia*, no presente estudo apresentou a CIM de 12,50 mg/ml, o que é suficiente para causar efeito bacteriostático na cepa. Mazzarrino, et al. (2015) testou o óleo essencial de *M. alternifolia* contra 10 cepas de *Salmonella* entérica e encontrou que houve variação na CIM de 9,20 a 18,32 mg/ml., desta forma o resultado corrobora com o do presente estudo.

Aleixo, et al. (2013) analisaram a atividade antibacteriana de algumas bactérias gram-negativas e gram-positivas frente ao óleo essencial de *B. trimera*. Dentre essas bactérias estavam a *E. coli*, *Salmonella Typhi* e *S. aureus*. O resultado da CIM foi de 1,25 mg/ml para *E. Coli* e *Salmonella typhi* e de 0,5 mg/ml *S. aureus*. No presente estudo o óleo essencial de *B. trimera* apresentou valores de CIM de 50 mg/ml para as cepas de *E. coli*, e *S. aureus* e 12,5 mg/ml para as cepas de *Salmonella* Enteritidis, diferindo assim dos resultados apresentados pelo autor.

No estudo de Gabriele, et al. (2017) o extrato de bergamota exibiu ação antibacteriana contra todas bactérias potencialmente patogênicas testadas. Dentre elas *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium e *S. aureus* que apresentaram CIM de 0,5 mg/ mL. Entretanto, Ebani, et al. (2018), mostra em seu estudo que não houve eficácia do óleo essencial de *C. bergamia* contra a bactéria *E. coli*. O presente trabalho apresentou resultados diferentes do autor, onde o óleo essencial de *C. bergamia* apresentou valores de CIM maiores, sendo que foi de 12,5 mg/ml para as cepas de *E. coli* e *S. aureus* e 25 mg/ml para as cepas de *Salmonella* Enteritidis.

Desta forma, é importante compreender que as variações referentes à determinação da CIM dos OLES de plantas podem estar atribuídas a fatores como a técnica de extração do óleo aplicada, o microrganismo e a cepa utilizada, a origem da planta, a época da coleta e a preparação e quantidade testada, pois há na literatura diferentes metodologias para análise da Concentração Inibitória Mínima, e essas podem influenciar na avaliação e promover alta variabilidade nas concentrações, deixando-as mais baixas ou mais altas (OSTROSKY, et al. 2008)

Para a avaliação de atividade bactericida dos OLES de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia*, foi realizado após o término da técnica de microdiluição em caldo, o procedimento para a leitura de Concentração Bactericida Mínima (CBM), onde é permitido verificar se houve, ou não, crescimento bacteriano. Os dados da Tabela 4 mostram os resultados da leitura da Concentração Bactericida Mínima (CBM).

Para a amostra padrão de *E.coli*, os resultados da CBM foram de 6,25 mg/mL para o óleo essencial de *M. piperita*; 25,00 mg/mL para o de *M. alternifolia*; 50,00 mg/mL para o de *B. trimera*; e 25,00 mg/mL para o de *C. bergamia*. Para a bactéria *S.aureus*, a CBM dos OLES obteve os seguintes resultados, *M. piperita*: 12,50 mg/mL; *M. alternifolia*, *B. trimera* e e *C. bergamia* 50,00 mg/mL cada.

Tyagi e Malik, (2011) em seu trabalho, avaliou o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *M. piperita* na fase líquida e de vapor versus diferentes bactérias. Dentre seus resultados, exibiu que, a concentração bactericida mínima (CBM) da *M. piperita* foi de 4,5 mg/mL para *E. coli* e 2,25 mg/mL para a *S. aureus*. Neste presente estudo foram encontrados

valores de CBM superiores aos apresentados pelo autor, tanto para *E. coli*, como também para *S. aureus*, sendo 6,25 mg/mL e 12,50 mg/mL, respectivamente.

Tabela 4. Concentrações bactericidas mínimas (CBM) dos óleos essenciais de *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Baccharis trimera* e *Citrus bergamia* contra cepas de *E. coli*, *S. Enteritidis* e *S. aureus*.

Óleos essenciais	Microrganismos		
	Enterohemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC) sorotipo O157:H7 (CDC EDL-933) CBM (mg/mL)	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica sorotipo. Enteritidis tipo 4 CBM (mg/mL)	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538) CBM (mg/mL)
<i>Mentha piperita</i>	6.25	6.25	12.50
<i>Melaleuca alternifolia</i>	25.00	12.50	50.00
<i>Baccharis trimera</i>	50.00	50.00	50.00
<i>Citrus bergamia</i>	25.00	50.00	50.00

Roldán, et al. (2010) ao pesquisar a atividade antimicrobiana de óleo essenciais contra patógenos, encontrou que o óleo essencial de *M. piperita* obteve uma CBM de 40 mg/mL contra as bactérias *Escherichia coli* 0157: H7 e *S. Enteritidis*. No presente estudo a CBM encontrada para a *E. coli* e *Salmonella* Enteritidis foi de 6,25 mg/mL, cada, desta forma, sendo os valores abaixo dos encontrados pelo autor.

Essas diferenças nas concentrações bactericidas podem estar relacionadas a diversos fatores, que podem ser inerentes ao óleo essencial utilizado, ou mesmo a técnica empregada, o que de fato pode ser constatado é que o óleo essencial de *M. piperita* apresenta eficiência antibiótica perante as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, porém ainda não há homogeneidade dos resultados para a CBM na literatura.

Em relação a *M. alternifolia*, Melo, et al. (2015) avaliou a atividade antimicrobiana e determinou a concentração bactericida mínima (CBM) de quatro OLES dentre eles o de *M. alternifolia*, contra algumas bactérias patogênicas dentre elas a *S. Enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus*. Como resultado obteve-se que a CBM foi de 3,66 mg/mL para *E. coli* e *S. Enteritidis* e de 7,33 mg/mL para *S. aureus*. Falci, et al. (2015) em estudo semelhante encontrou uma CBM de 4,28 mg/mL para *S. aureus*. Neste presente estudo foram encontrados valores de CBM superiores aos apresentados pelos autores, tanto para *E. coli*, *S. aureus* e *S. Enteritidis* sendo 6,25; 12,50; e 25 mg/mL respectivamente.

Observando os resultados, pode-se sugerir que o óleo essencial de *M. alternifolia* apresenta essa eficiência frente as bactérias testadas, devido a sua capacidade de desestabilizar a membrana plasmática da bactéria, alterando a sua permeabilidade. Essa ação bactericida que já foi determinada por Carson e Riley, (1995) onde os elementos

terpinen-4-ol, α -terpineno, γ -terpineno e terpinoleno se mostraram responsáveis pelo efeito antimicrobiano deste óleo essencial.

Da Silva, et al. (2018), avaliou a *B. trimera*, e a sua atividade antimicrobiana. Em um de seus resultados, ele afirma que 13,12 mg/mL foi a concentração bactericida mínima para combater a *S. aureus*. Oliveira et al. (2005) analisando o extrato de *B. trimera*, alcançou os resultados da CBM em 25 mg/mL para a mesma bactéria e não encontrou efeito do óleo essencial de *B. trimera* para inibição da bactéria *E. coli*.

O presente estudo apresentou resultados de CBM de 50 mg/mL para o óleo essencial de *B. trimera*, frente as bactérias *E. coli* e *S. aureus*. Mesmo estando acima do indicado pelos autores, sabe-se que as diferenças morfofisiológicas das plantas, bem como as técnicas de extração do óleo podem influenciar na sua ação antimicrobiana. Além disso, o que pode ser exposto é que o extrato da planta tem composição diferenciada quando comparado ao óleo essencial da mesma planta, pois no extrato há compostos fenólicos presentes, esses que podem estar atuando e possivelmente ampliando, ou mesmo, minimizando o efeito bactericida do mesmo. Contudo, não há como quantificar os valores dos principais componentes da *B. trimera* no extrato da planta, o que é possível no óleo essencial. Tendo em vista essas informações, pode-se entender que é inviável a comparação do efeito extrato da planta com o seu óleo essencial.

O que pode ser notado é que o óleo essencial de *B. trimera* possui efeito contra cepas de bactérias patogênicas, possivelmente devido a sua composição química, onde já foi demonstrado na literatura que o acetato de carquejila e o carquejol, são os principais responsáveis pelo seu efeito antibacteriano.

Quirino, et al. (2020) testou diferentes diluições do extrato de *C. bergamia* e de seus componentes principais contra bactérias. Contudo o extrato exibiu efeito bactericida e obteve CBM de 5% para *S. aureus*. No presente estudo a CBM para o mesmo óleo essencial exibiu o valor de 50 mg/mL, ou seja, um número dez vezes superior ao do autor quando comparamos os resultados na mesma base. Possivelmente o fato de o extrato ser um componente bruto da planta, ele contém quantidades diferenciadas de compostos, em relação ao óleo essencial. Sah, et al. (2011) testou extratos de plantas em uma ampla gama de bactérias incluindo Gram-positivas e Gram-negativas, em um de seus resultados, foi apresentado que a *C. bergamia* alcançou a CBM de 25 mg/mL para *S. aureus* e não obteve eficácia bactericida contra as cepas de *E. coli*.

Mitropoulou, et al. (2017) em seu estudo teve como objetivo do estudo investigar a atividade antimicrobiana e antiproliferativa de óleo essencial de Citrus produzido por hidrostilação e avaliou seu potencial na indústria de alimentos. Em um de seus resultados

apontou que a *E. coli* obteve a CBM de 6,69 mg/mL e a *S. Enteritidis* de 4,18 mg/mL, o que não corrobora com esse presente estudo, já que apresentou para as mesmas bactérias os resultados de CBM de 25 mg/mL para a *E. coli* e *S. Enteritidis*.

Para que haja homogeneidade de resultados em relação as concentrações bactericidas seriam necessárias novos trabalhos que associassem os valores das porcentagens dos elementos que compõem os OLES e correlacioná-los com a atividade antibacteriana, pois assim, poderia haver minimização heterogeneidade de resultados, onde em sua maioria estão relacionados as condições de plantio, colheita, técnicas de extração e de estudos laboratoriais, dentre tantos outros colaterais que incidem sobre os estudos com OLES.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo indicam que os óleos essenciais de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia* apresentaram atividade antimicrobiana, porém tal ação não foi igual para as diferentes cepas testadas, apresentando efetividade em diferentes concentrações. O óleo essencial de *M. piperita* foi o que obteve as menores CIM e CBM.

Contudo, para que os óleos essenciais apresentados possam ser utilizados como substância antimicrobiana, fatores como a composição desses óleos devem ser levados em consideração, visto que são eles que irão conferir a aptidão antimicrobiana. O estudo das concentrações que podem ser eficazes ao combate de cepas bacterianas já resistentes é um grande passo na busca por antimicrobianos alternativos.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES), Código Financeiro 001, para a bolsa de estudos de Renata Gomes da Silveira Deminicis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÂNTARA, A.L.; CARDOSO, R.C.; SOUZA, F.M.; ESPINHEIRA, M.J.C. Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Óleo Extraído da Cápsula do *Eucalyptus urograndis*: Uma Contribuição Significativa para o ramo Farmacêutico. **ID on line REVISTA DE PSICOLOGIA**, v. 13, n. 43, p. 455-468, 2019.

ALEIXO, Á. A. HERRERA, K.M.S.; RIBEIRO, R.I.M.D.A.; LIMA, L.A.R.D.S.; FERREIRA, J.M.S. Antibacterial activity of *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja) against bacteria of medical interest. **Revista Ceres**, v. 60, n. 5, p. 731-734, 2013.

ARAUJO, M.M.; LONGO, P.L. *In vitro* antibacterial activity of *Origanum vulgare* (oregano) essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.

ATAIDE, J.O.; FRAGOSO, D.F.M.; PRATISSOLI, D.; PINHEIRO, P.F. Os óleos essenciais de citrus tem ação inseticida sobre a lagarta do morango? **Nucleus**, v.16, n.1, 2019.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BAUER, A. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**], v. 45, p. 149-158, 1966.

BEHNAM, S.; FARZANEH, M.; AHMADZADEH, M.; TEHRANI, A.S. Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavendula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, v. 71, n. 3 Pt B, p. 1321-1326, 2006.

BOMFIM, H.F. Avaliação *in vitro* do potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Lippia* ssp frente a leveduras de ocorrência na candidíase bucal. **Anais Seminário de Iniciação Científica**, n. 22, 2019.

BONAN, P.R.F.; CACIQUE, A.P.; BOTELHO, B.L.; FARIA, A.K.S.; NOBRE, S.A.M.; PRATA, E.R.B.A. Evaluation of the thermal stress of *Candida albicans* using microplates and resazurin as an oxidation indicator. In: **Regional Development Forum Proceedings: Unimontes commitment**, 4 (2010) (in press).

BORGES, D.F. **Nematicidal effect of Cerrado plant extracts and essential oils**. M.Sc. Dissertation, Federal University of Viçosa, Rio Paranaíba, 2017.

BOTREL, P.P.; PINTO, J.E.B.P.; FERRAZ, V.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FIGUEIREDO, F.C. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl, Lamiaceae em função da sazonalidade. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 533-538, 2010.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira** (Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, Brasil) 2010, 546.

CALVARANO M.; CALVARANO, I. La composizione delle essenze di bergamotto. Nota II. Contributo all'indagine analitica mediante spettrofotometria nell'UV e gascromatografia. **Essenze e Derivati Agrumari**, v. 34, p. 71-92, 1964.

CAMARGO, S. B.; DE VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpeno. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 381-387, 2014.

CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **Journal of applied bacteriology**, v. 78, n. 3, p. 264-269, 1995.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**. CLSI document M100-S15 (ISBN 1- 56238-556-9). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.

CORREA, M.S.; SCHWAMBACH, J.; MANN, M.B.; FRAZZON, J.; FRAZZON, A.P.G. Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.

COSTA, J.M.; MOURA, C.S.; PÁDUA, C.A.M.; VEGI, A.S.F.; MAGALHÃES, S.M.S.; RODRIGUES, M.B.; RIBEIRO, A.Q. Restrictive measure for the commercialization of antimicrobials in Brazil: results achieved. **Revista de saúde pública**, v. 53, p. 68, 2019.

DA SILVA, A.R.H.; LOPES, L.Q.S.; CASSANEGO, G.B.; DE JESUS, P.R.; FIGUEREDO, K.C.; SANTOS, R.C.V.; DE FREITAS BAUERMANN, L. Acute toxicity and antimicrobial activity of leaf tincture *Baccharis trimera* (Less). **Biomedical Journal**, 41 (3): 194–201.

DAVIES, N.W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. **Journal of chromatography**. A, v. 503, p. 1-24, 1990.

DE SOUSA BARROS, A.; DE MORAIS, S.M.; FERREIRA, P.A.T.; VIEIRA, Í.G.P.; CRAVEIRO, A.A.; DOS SANTOS FONTENELLE, R.O.; DE SOUSA, H.A. Chemical composition and functional properties of essential oils from *Mentha* species. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 557-564, 2015.

DEL FIOLE, F.S.; LOPES, L.C.; TOLEDO, M.I.; BARBERATO-FILHO, S. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 68-72, 2010.

DI GIACOMO, A.; MINCIONE, B. **Citrus essential oils in Italy**. (Laruffa Editore, Reggio, Italy). 1994.

DJENANE, D.; AÏDER, M.; YANGÜELA, J.; IDIR, L.; GÓMEZ, D. RONCALÉS, P. Antioxidant and antibacterial effects of Lavandula and Mentha essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157: H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. **Meat Science**, v. 92, n. 4, p. 667-674, 2012.

DORMAN, H.D.; FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; DEANS, S.G. In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 15, n. 1, p. 12-16, 2000.

DUGO, G.; BONACCORSI, I. **Citrus Bergamia: Bergamot and its derivatives**. (CCR Press, Boca Raton, FL, US, 2013), 2013, 592.

EBANI, V.V.; NAJAR, B.; BERTELLONI, F.; PISTELLI, L.; MANCIANTI, F.; NARDONI, S. Chemical composition and in vitro antimicrobial efficacy of sixteen essential oils against *Escherichia coli* and *Aspergillus fumigatus* isolated from poultry. **Veterinary sciences**, v. 5, n. 3, p. 62, 2018.

FALCI, S.P.P.; TEIXEIRA, M.A.; CHAGAS, P.F.D.; MARTINEZ, B.B.; LOYOLA, A.B.A.T.; FERREIRA, L.M.; VEIGA, D.F. Antimicrobial activity of *Melaleuca* sp. oil against clinical

isolates of antibiotics resistant *Staphylococcus aureus*. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 30, n. 7, p. 491-6, 2015.

FERREIRA, P. de A. Desenvolvimento de forma farmacêutica sólida à base de *Baccharis trimera* (Less.) DC. para o tratamento da artrite reumatoide. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

GABRIELE, M.; FRASSINETTI, S.; CALTAVUTURO, L.; MONTERO, L.; DINELLI, G.; LONGO, V.; PUCCI, L. *Citrus bergamia* powder: Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties. **Journal of Functional Foods**, v. 31, p. 255-265, 2017.

GARCIA, F.A.O.; TANAE, M.M.; TORRES, L.M.B.; LAPA, A.J.; DE LIMA-LANDMAN M.T.R.; SOUCCAR, C. A comparative study of two clerodane diterpenes from *Baccharis trimera* (Less.) DC. on the influx and mobilization of intracellular calcium in rat cardiomyocytes. **Phytomedicine**, v. 21, n. 8-9, p. 1021-1025, 2014.

HOMER, L.E.; LEACH, D.N.; LEA, D.; LEE, L.S.; HENRY, R.J.; BAVERSTOCK, P.R. Natural variation in the essential oil content of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 4, p. 367-382, 2000.

JEYAKUMAR, E.; TRIPTI PAL, R.L. Comparative evaluation in the efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) oil with standards antibiotics against selected bacterial pathogens. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 2, p. S253-S257, 2011.

LAGO, J.H.G.; ROMOFF, P.; FAVERO, O.A.; SOUZA, F.O.; SOARES, M.G.; BARALDI P.T.; CORRÊA, A.G. Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) essential oils. **Biochemical systematics and ecology**, v. 36, n. 9, p. 737-740, 2008.

LENNETTE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER, W.J.; SHADOWMY, H.J. **Manual of Clinical Microbiology** (American Society for Microbiology, Washington, D.C.) 1985.

LINHARES NETO, M.V.; DA SILVA, R.O.; DE OLIVEIRA, F.F.; COSTA, L.C.B.; CONCEIÇÃO, A.O.; DE OLIVEIRA, R.A. Avaliação anti-Candida de óleos essenciais de três espécies medicinais (Asteraceae). **South African Journal of Botany**, v. 115, p. 132-137, 2018.

LV, F.; LIANG, H.; YUAN, Q.; LI, C. *In vitro* antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. **Food Research International**, v. 44, n. 9, p. 3057-3064, 2011.

MACGOWAN, A.P. Clinical implications of antimicrobial resistance for therapy. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 62, n. suppl_2, p. ii105-ii114, 2008.

MAHBOUBI, M.; KAZEMPOUR, N. Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 83-87, 2014.

MAZZARRINO, G.; PAPARELLA, A.; CHAVES-LÓPEZ, C.; FABERI, A.; SERGI, M.; SIGISMONDI, C.; COMPAGNONE, D.; SERIO, A. *Salmonella* enterica and *Listeria monocytogenes* inactivation dynamics after treatment with selected essential oils. **Food Control**, v. 50, p. 794-803, 2015.

MELO, A.D.B.; AMARAL, A.F.; SCHAEFER, G.; LUCIANO, F.B.; DE ANDRADE, C.; COSTA, L.B.; ROSTAGNO, M.H. Antimicrobial effect against different bacterial strains and bacterial adaptation to essential oils used as feed additives. **Canadian journal of veterinary research**, v. 79, n. 4, p. 285-289, 2015.

MILLEZI, A. F.; BAPTISTA, N. N.; CAIXETA, D. S.; ROSSONI, D. F.; CARDOSO, M. G.; PICCOLI, R. H. Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 1, p. 18-24, 2014.

MINTEGUIAGA, M.; MERCADO, M.I.; PONESSA, G.I.; CATALÁN, C.A.; DELLACASSA, E. Morphoanatomy and essential oil analysis of *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) from Uruguay. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 488-498, 2018.

MITROPOULOU, G., FITSIOU, E.; SPYRIDOPOULOU, K.; TIPTIRI-KOURPETI, A.; BARDOUKI, H.; VAMVAKIAS, M.; KOURKOUTAS, Y. Citrus medica essential oil exhibits significant antimicrobial and antiproliferative activity. **LWT**, v. 84, p. 344-352, 2017.

MORAIS, L.A.S.; CASTANHA, R.F. Chemical composition of essential oil from two samples of carqueja (*Baccharis* sp.) collected in Paty do Alferes-Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. Special issue, p. 628-632, 2011.

MOSCATO, A.M.; FEKSA, K.B.; PACHECO, O.S.; KUBIÇA, T.F.; ALVES, S.H.; SHIMÓIA, E.P.; VEIGA, V.V.; HEINZMANN, B.M.; SILVA, L.L. Composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha spicata* e *Mentha piperita* L. cultivadas por hidroponia. **Multiciência online**, v.1, 123-139, 2016.

NABIHA, B.; ABDEL FATTEH, E.O.; FATEN, K.; HERVÉ, C.; MONCEF, C.M. Chemical composition of bergamot (*Citrus bergamia* Risso) essential oil obtained by hydrodistillation. **Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 4, p. 29, 2010.

OLIVEIRA, A.C.M; FONTANA, A.; NEGRINI, T.C.; NOGUEIRA, M.N.M.; BEDRAN, T.B.L.; ANDRADE, C.R.; SPOLIDORIO, L.C.; SPOLIDORIO, D.M.P. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Revista brasileira de plantas mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 492-499, 2011.

OLIVEIRA, S.Q.; TRENTIN, V.H.; KAPPEL, V.D.; BARELLI, C. GOSMANN, G.; REGINATTO, F.H. Screening of Antibacterial Activity of South Brazilian Baccharis. Species. **Pharmaceutical biology**, v. 43, n. 5, p. 434-438, 2005.

OSTROSKY, E.A.; MIZUMOTO, M.K.; LIMA, M.E.; KANEKO, T.M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas mediciniais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PALÁCIO, C.P.A.M.; BIASI, L.A.; NAKASHIMA, T.; SERRAT, B.M. Biomass and carqueja essential oil (*Baccharis trimera* (Less) DC.) Under the influence of sources and doses of nitrogen. **Revista brasileira de plantas mediciniais**, v. 9, n. 3, p. 58-63, 2007.

PALERMO-NETO, J. O problema do uso inadequado de antibióticos na produção de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. s199-s208, 2007.

PALERMO-NETO, J.; ALMEIDA, R.T. Antimicrobials as additives in farm animals. In:

Pharmacology applied to veterinary medicine (Ed. Spinoza H, Górnica SL & Bernardi MM; Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brazil), 2006, 641-658.

QUIRINO, A.; MORELLI, P.; CAPUA, G.; ARENA, G.; MATERA, G.; LIBERTO, M.C.; FOCÀ, A. Synergistic and antagonistic effects of *Citrus bergamia* distilled extract and its major components on drug resistant clinical isolates. **Natural product research**, v. 34, n. 11, p. 1626-1629, 2020.

RAO, J.; CHEN, B.; MCCLEMENTS, D.J. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action. **Annual review of food science and technology**, v. 10, p. 365-387, 2019.

REGITANO, J. B.; & LEAL, R. M. P. Performance and environmental impact of antibiotics in animal production in Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 3, p. 601-616, 2010.

ROCA, I.; AKOVA, M.; BAQUERO, F.; CARLET, J.; CAVALERI, M.; COENEN, S. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. **New microbes and new infections**, v. 6, p. 22-29, 2015.

ROLDÁN, L.P.; DÍAZ, G.J.; DURINGER, J.M. Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the Lamiaceae family against pathogenic and beneficial bacteria. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 23, n. 4, p. 451-461, 2010.

ROSADO A.I.R. **Molecular bases of virulence and antibiotic resistance in *Escherichia coli*: mutation, recombination and horizontal transfer**. Ph.D. thesis, Sevilla University, Sevilla, 2019.

SAH, Archana N.; JUYAL, Vijay; MELKANI, Anand B. Antimicrobial activity of six different parts of the plant *Citrus medica* Linn. **Pharmacognosy journal**, v. 3, n. 21, p. 80-83, 2011.

SANTOS, V.M.F. **Characterization of the terpenic volatile fraction of bitter gorse samples (*Baccharis trimera*)**, monography, Unirio, Rio de Janeiro, 2018.

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

SCHMIDT, F.B.; MARQUES, L.M.; MAYWORM, M.A.S. Efeito da sazonalidade sobre o potencial antibacteriano de extratos etanólicos de *Baccharis trimera* (Less.) DC.(Asteraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, p. 1-5, 2008.

SILVA, F.; PARK, K.J.; MAGALHÃES, P.M.; MARTINS, G.N.; GAMA, E.V.S. Avaliação do teor de óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em diferentes embalagens durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 54-58, 2013.

SIMÕES-PIRES, C.A.; DEBENEDETTI, S.; SPEGAZZINI, E.; METZ, L.A.; MATZENBACHER, N.I.; LIMBERGER, R.P. & HENRIQUES A.T. Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belong to sect. Caulopterae (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach. **Plant Systematics and Evolutions**, 253: 23-32, 2005.

SINGH, R.; SHUSHNI, M.A.M.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 322-328, 2015.

SOKOVIĆ, M, D.; VUKOJEVIĆ, J.; MARIN, P.D.; BRKIĆ, D.D.; VAJS, V.; VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. Chemical composition of essential oils of thymus and mentha species and their antifungal activities. **Molecules**, v. 14, n. 1, p. 238-249, 2009.

SOUZA, E.L. **Antimicrobial potential of oregano essential oil (*Origanum vulgare*): An approach for use in food preservation systems**. Ph.D. thesis, Federal University of Pernambuco, Recife, 2006.

SUZUKI, E.Y.; CANESCHI, C.A.; COSTA, R.F.; BRANDÃO, M.A.F.; REZENDE, N.B.P. Aceite esencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Carqueja-amarga): actividad antimicrobiana. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 3, p. 346-358, 2016.

TRAJANO, V.N.; LIMA, E.D.O.; SOUZA, E.L.D.; TRAVASSOS, E.R.A. Antibacterial property of spice essential oils on food contaminating bacteria. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.

TYAGI, A.K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food control**, v. 22, n. 11, p. 1707-1714, 2011.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R.H.; CARDOSO, M.G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

VERZERA, A.; TROZZI, A.; GAZEA, F.; CICCARELLO, G.; COTRONEO, A. Effects of rootstock on the composition of bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 1, p. 206-210, 2003.

WAYNE, P.A. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-fourth informational supplement, M100-S24, **CLSI**, 34, 2014.

WHO. (2016). WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: Foodborne disease burden epidemiology reference group (2007-2015). In WHO Library Cataloguing in - Publication Data, 2016. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165eng.pdf?ua=>>. Acessado em 15 de maio de 2021.

Zhang, X.; Guo, Y.; Guo, L.; Jiang, H.; Ji, Q. In vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Melaleuca alternifolia* essential oil. **BioMed research international**, v. 2018, 2018.

ZIMERMAN, R.A. **Indiscriminate use of antimicrobials and microbial resistance**. (OPAS Brasília, DF: Brazil), 1, 2010.

5. CAPÍTULO III

TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE BACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* FRENTE A SOROVARES DE *Salmonella* spp.

TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE BACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* FRENTE A SOROVARES DE *Salmonella* spp.

RESUMO

A busca por novas substâncias antimicrobianas naturais efetivas contra cepas *Salmonella* spp. têm se tornado cada vez mais necessárias. Isso ocorre devido aos elevados percentuais de resistência aos antibióticos comerciais que são utilizados na produção animal no Brasil. Antimicrobianos derivados de plantas têm se destacado em pesquisas devido as suas propriedades bioativas que atuam impedindo a seleção de cepas resistentes. Objetivou-se com este estudo analisar a susceptibilidade bacteriana de *Salmonella* spp., compreendendo 8 sorovares; e determinar Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *Mentha piperita*. As cepas de *Salmonella* spp. utilizadas no estudo pertencem a coleção do Laboratório Bactérias Anaeróbicas do Hospital Veterinário da UESC. A susceptibilidade aos antibióticos (antibiograma) foi determinada pelo método de disco-difusão, em ágar Mueller-Hinton, na qual foram utilizados discos contendo quantidades de antibióticos, utilizados para combater a bactéria. A atividade antimicrobiana do óleo essencial foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), por meio da técnica da Microdiluição em caldo e pela determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), através da semeadura em placas de petri. 50% dos sorovares de *Salmonella* apresentaram resistência à 66,66% dos antibióticos utilizados. Verificou-se que 62,5% dos sorovares sofreram efeito bacteriostático e 37,5% dos sorovares sofreram efeito bactericida à concentração de 1,56 mg/mL de Óleo essencial de *M. piperita*.

Palavras-chave: Hortelã pimenta, antibiograma, bactérias patogênicas.

BACTERIAL SUSCEPTIBILITY TESTS OF THE ESSENTIAL OIL OF *Mentha piperite* IN FRONT OF SOROVARES OF *Salmonella spp.*

ABSTRACT

The search for new natural antimicrobial substances effective against *Salmonella spp.* have become more and more necessary. This is due to the high percentages of resistance to commercial antibiotics that are use in animal production in Brazil. Plant-derived antimicrobials have been highlighted in research due to their bioactive properties that act preventing the selection of resistant strains. The objective of this study was to analyze the bacterial susceptibility of *Salmonella spp.*, Comprising 8 serovars; and determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the essential oil of *Mentha piperita*. The strains of *Salmonella spp.* used in the study belong to the collection of the Anaerobic Bacteria Laboratory of the Veterinary Hospital of UESC. The susceptibility to antibiotics (antibiogram) determined by the disk-diffusion method, on Mueller-Hinton agar, in which disks containing quantities of antibiotics used, used to fight the bacteria. The antimicrobial activity of the essential oil evaluated by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), using the broth microdilution technique and by determining the Minimum Bactericidal Concentration (MBC), by sowing it in petri dishes. 50% of *Salmonella* serovars showed resistance to 66.66% of the antibiotics used. It was found that 62.5% of the serovars suffered a bacteriostatic effect and 37.5% of the serovars suffered a bactericidal effect at a concentration of 1.56 mg / mL of essential oil of *M. piperita*.

Keywords: Peppermint, antibiogram, pathogenic bacteria.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos comerciais tem aumentado, devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos no tratamento das doenças infecciosas, ou mesmo no uso como melhoradores de desempenho na produção animal (FURTADO, et al. 2019). O uso abusivo desses fármacos pode originar bactérias multirresistentes, como aquelas não suscetíveis a pelo menos, um agente em três ou mais categorias de antimicrobianos (ALÓS, 2015; MAGIORAKOS, et al. 2012). O uso massivo desses melhoradores de desempenho em animais de produção, pode ser uma das possíveis causas no número elevado de cepas de *Salmonella* resistentes (JEYAKUMAR, et al. 2011; OLIVEIRA et al. 2005; SILVA; DUARTE 2002).

O surgimento de várias pesquisas com a finalidade de avaliar a susceptibilidade da *Salmonella* spp. frente a diferentes antimicrobianos vêm se destacando, por revelar altos percentuais de resistência. Estando entre os principais patógenos presentes na avicultura, tem se tornado um crescente problema econômico e de saúde pública (LIMA et al. 2019). No Brasil, a espécie entérica é a que mais acomete os seres humanos por meio da ingestão de água e alimentos contaminados, sendo segundo maior causador de doença que abrange os surtos de doenças transmitidas por alimentos (CORTEZ et al., 2006; CARDOSO et al., 2006; RIBEIRO et al. 2006; DUARTE et al. 2009; SOUZA et al. 2010; DOS SANTOS, et al. 2020).

Entretanto, substitutos naturais, como os óleos essenciais (OLES), têm ganhado evidência, devido seu potencial antimicrobiano ainda não totalmente desvendado. A planta *Mentha piperita* tem se revelado como um importante fitoterápico devido seu potencial antibacteriano. Além disso, apresenta propriedades farmacoterapêuticas que a coloca como possível alternativa ao uso dos antibióticos.

Dentre várias plantas, a *M.piperita* possui uma grande variedade de substâncias bioativas presentes em seus extratos e OLES que são de grande interesse para o tratamento de diversas patologias. Os polifenóis presentes na planta têm características antioxidantes que retardam a degradação oxidativa de lipídios, melhorando a qualidade e o valor nutricional dos alimentos, que a torna de grande interesse para a indústria avícola. De tal modo, a *M.piperita* pode ser considerada uma planta promissora, e ser empregada como estratégia alternativa de baixo custo para utilização na indústria de alimentos (TREVISAN, et al. 2017).

No entanto, há necessidade de uma uniformização das concentrações e dosagens dos OLES da *M. piperita* com intuito de estabelecer uma padronização na sua utilização, e assim resultar no eficiente combate as cepas de *Salmonella* sp O uso responsável dos antimicrobianos e a procura por agentes antimicrobianos alternativos, pode ser enérgico para

o controle e prevenção destes patógenos (HERRO, et al. 2010; PANDINI, et al. 2014; SINGH, et al. 2015;). Sendo assim, objetivou-se analisar a susceptibilidade bacteriana de *Salmonella* spp., compreendendo 8 sorovares; e determinar Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *M. piperita*.

MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio biológicos

Este estudo foi conduzido no Laboratório Bactérias Anaeróbicas do Hospital Veterinário. – UESC, município de Ilhéus - BA, Brasil. As cepas de *Salmonella* spp. utilizadas no estudo pertencem a coleção do próprio laboratório, sendo elas: *Salmonella enterica* subespécie *houtenae*; *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipos Agona, Brandenburg, Carrau, Enteritidis, Gafsa, Rubislaw; e uma cepa rugosa de *Salmonella* spp. As cepas foram reativadas em caldo Mueller Hinton a 37° C e foram testadas frente ao óleo essencial de *M. piperita*. Para a condução do estudo, suspensões dos microrganismos foram preparadas em solução salina, sob a concentração $1,5 \times 10^6$ ufc/mL, equivalente ao tubo 0,5 da Escala de MacFarland.

Material vegetal e extração dos óleos essenciais

Os OLES foram adquiridos através de empresa referência na comercialização de produtos químicos aromáticos para perfumaria e seus derivados, localizada no estado do Paraná, Brasil, e o processamento industrial ocorreu por meio da utilização das folhas para a *M. piperita* (hortelã-pimenta). A extração do óleo essencial ocorreu por hidrodestilação, utilizando um aparelho de Clevenger modificado adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade de 4 litros, por um período de 2 horas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). O material obtido foi centrifugado por 5 minutos, e, os óleos foram acondicionados e armazenados em frascos de vidro âmbar.

Teste de susceptibilidade antimicrobiana (Antibiograma)

A susceptibilidade aos antibióticos foi determinada pelo método de disco-difusão, em ágar Mueller-Hinton (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.), com suspensão bacteriana de turbidez igual a escala McFarland 0.5, de acordo com a metodologia Kirby-Bauer (BAUER, et al. 1966),

conforme as instruções estabelecidas pelo Clinical Laboratory Standards Institute (WAYNE, 2014). Foram utilizados discos contendo quantidades de antibióticos (LABORCLIN – Produtos para Laboratórios Ltda; Pinhais – Paraná; Brasil), utilizados para combater a bactéria. As culturas de *Salmonella* spp. foram utilizadas para o controle de qualidade do teste.

Teste da ação antimicrobiana

A ação do óleo essencial de *M. piperita* foi testada pelo método de microdiluição em caldo, “Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactérias de Crescimento Aeróbico”, padronizada pela Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2005), com algumas modificações.

O meio de cultura dos testes foi preparado com caldo Mueller Hinton (CMH) e solução solvente composta por água destilada, 10% DMSO e *Tween* 80 a 1% de acordo com a metodologia de Linhares Neto et al. (2018). A diluição seriada do óleo essencial foi realizada na microplaca de 96 poços com concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25; 3,15 e 1,56 mg/mL.

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

A técnica da microdiluição em caldo (SOUZA, 2006) foi realizada para se estimar a concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial para as amostras de *Salmonella* spp, em triplicata. A CIM foi definida como a menor concentração do extrato em mg.mL⁻¹, capaz de impedir o crescimento microbiano. Já a Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi determinada com base na metodologia de Santurio, et al. (2008) e Lennette, et al. (1985), através da semeadura em placas de petri.

Para a preparação das microplacas de 96 poços foram depositados 100µL de CMH aos poços e em seguida foram realizadas diluições seriadas adicionado alíquotas de 100µL do óleo essencial dissolvidos na solução solvente. Por fim, foi adicionada, em todos os poços, 10µL de suspensão dos microrganismos preparadas em solução salina, sob a concentração $1,5 \times 10^6$ micro-organismos/mL, equivalente a 0,5 da Escala de MacFarland. Ainda foram adicionados os controles: controle positivo (C+) (CMH e bactéria), controle (C1) (meio de cultura e diluente), controle neutro (C0) (somente o meio de cultura) e o controle negativo (C-) (meio de cultura, bactéria e antibiótico). Utilizou-se como controle negativo o antimicrobiano

ciproflaxacina 100mg/mL (CLSI, 2005), para verificar se o mesmo possuía algum efeito sobre as bactérias. A microplaca foi incubada estaticamente a 37°C por 24 horas.

Após o período de incubação de 24 horas, foi realizado o método colorimétrico com a resazurina sódica 0,01%, aplicando-se 10µL da solução em cada poço e esperando-se uma hora para realizar a leitura visual dos resultados, em que o azul caracteriza a inatividade bacteriana e o vermelho a atividade (ARAUJO e LONGO, 2016).

Além da determinação da CIM, foi estipulado a Concentração Bactericida Mínima (CBM). Após um período de 24 horas da inoculação nas microplacas, o conteúdo foi coletado a partir de cada poço, e aplicado em placas de petri, contendo Ágar Mueller Hinton (AMH), para que em seguida, fossem incubadas em estufa por 24 horas a 37°C.

Onde não foi observado crescimento bacteriano no ágar, e ao mesmo tempo se observou uma concentração menor do óleo presente, considerou-se como a CBM (LENNETTE, et al. 1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste de susceptibilidade antimicrobiana (Antibiograma)

A análise do antibiograma (Tabela 1) revelou resistência 50% dos sorovares de *Salmonella* aos antibióticos Gentamicina, Amicacina, Cloranfenicol, Piperacilina / Tazobactan, Tobramicina, Norfloxacina, Lomefloxacina, Sulfazotrin, Trimetropim, Imipenem, ou seja, à 66,66% dos antibióticos utilizados.

Pandini et al. (2014) verificando o perfil de resistência de diferentes sorotipos de *Salmonella* spp. isolados em aviários de frango de corte determinou o perfil de resistência para 19 sorotipos de *Salmonella* em relação a 12 antimicrobianos comerciais. Os resultados indicaram que 51% dos sorotipos de *Salmonella* apresentaram resistência a um ou mais antimicrobianos. O maior percentual de resistência foi verificado à tetraciclina (30,8%), e o menor à gentamicina e cloranfenicol (2,6%). Corroborando com os resultados do presente estudo.

Abd-Elghany et al. (2015) pesquisaram a presença de *Salmonella* spp. em amostras de frango. Os testes de sensibilidade antimicrobiana dos isolados de *Salmonella* revelou que 100% eram resistentes a cada uma das eritromicinas, penicilina e amoxicilina, enquanto 98,8%, 96,4%, 95,2% e 91,6% eram resistentes ao ácido nalidíxico, sulfametoxazol,

oxitetraciclina e ampicilina, respectivamente. A resistência a múltiplas drogas foi evidente para 92,8% dos isolados.

Tabela 1. Padrões de resistência a antibióticos de oito sorovares de *Salmonella* spp.

Sorovares	Perfil de resistência		
	Sensível	Intermediário	Resistente
<i>S. houtenae</i>	AMI, AMC, ASB, PPT, GEN, CLO, CPM, CFO, CIP		IPM, TOB, NOR, LMX, SUT, TRI
<i>S. Agona</i>	AMI, AMC, ASB, PPT, CPM, CFO, CIP, IPM, TOB, NOR, LMX, SUT, TRI, CLO		GEN
<i>S. Brandenburg</i>	AMC, ASB, PPT, CPM, CFO, CIP, IPM, NOR, LMX, TRI, CLO	AMI, GEN, TOB, SUT	
<i>S. Carrau</i>	AMC, ASB, PPT, CPM, CFO, CIP, IPM, GEN, NOR, LMX, TRI, CLO	TOB	AMI, CLO
<i>S. Enteritidis</i>	AMI, AMC, ASB, PPT, OPM, GEN, TOB, NOR, LMX, SUT, TRI, CLO	CPM, CFO, CIP	
<i>S. Gafsa</i>	AMI, AMC, ASB, IPM, GEN, CLO, CPM, CFO, CIP		PPT, TOB, NOR, LMX, SUT, TRI
<i>S. Rubislaw</i>	AMI, AMC, ASB, PPT, IPM, GEN, TOB, NOR, LMX, SUT, TRI, CLO, CPM, CFO, CIP		
<i>Salmonella</i> spp. cepa rugosa	AMI, AMC, ASB, PPT, IPM, GEN, TOB, NOR, LMX, SUT, TRI, CLO, CPM, CFO, CIP		

* AMC – Amoxicilina / Acido clavulânico 20/10µg; AMI – Amicacina 30 µg; ASB – Ampicilina/Sulbactam 10/10 µg; CFO – Cefoxitina 30 µg; CIP – Ciproflaxina 5 µg; CLO – Cloranfenicol 30 µg; CPM – Cefepime 30 µg; GEN – Gentamicina 10 µg; IPM – Imipenem 10 µg; LMX – Lomefloxacin 10 µg; NOR – Norfloxacin 10 µg; PPT – Piperacilina / Tazobactan 100/10 µg; SUT – Sulfazotrin 25 µg; TOB – Tobramicina 10 µg; TRI – Trimetropim 5 µg.

Centeno et al. (2018) utilizaram 50 isolados de *Salmonella* entérica, frente a 20 antibióticos de relevância na medicina humana e veterinária. Os resultados mostraram que 96% (48/50) dos isolados foram resistentes a pelo menos um antibiótico. As maiores frequências de resistência foram apresentadas para cloranfenicol (94%), tobramicina (72%). Baixa resistência foi observada em gentamicina (2%), resistência intermediária à ciprofloxacina (4%) e alta sensibilidade (100%) para amicacina. Neste presente estudo, pode-se observar que a amicacina o cloranfenicol apresentaram resistência para a *Salmonella carrau*, a tobramicina para as *S. gafsa* e *S. houtenai* e a gentamicina para *S. agona*.

Maciel, et al. (2004) identificou a presença de *Salmonella* spp em amostras fecais de cães. 9,47% dos 190 animais foram considerados positivos. A *S. Gafsa* representou o sorotipo mais prevalente (38,9%), seguido pela *S. Rubislaw* (27,8%), *S. Carrau* (16,7%) e *S. houtenae* (11,1%). A gentamicina, seguida pela ampicilina, se mostraram eficazes no antibiograma sendo a primeira a droga mais potente, *in vitro*, para o tratamento das salmonelas encontradas. Neste estudo, pode ser observado que a *S. Agona* apresentou perfil de resistência para a gentamicina, e intermediária para *S. Brandenburg*, contudo se manteve

eficaz no tratamento dos sorovares *S. Gafsa*, *S. Carrau* e *S. houtenae*, a ampicilina foi eficiente em todos os tratamentos das salmonellas.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial

A tabela 2 registra os resultados dos testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *M. piperita* frente a cepas de *Salmonella* spp.

Tabela 2. Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) e Concentrações Bactericidas Mínimas (CBM) em mg/mL do óleo essencial de *M. piperita*, frente a cepas de *Salmonella* spp.

Sorovares	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>S. Agona</i>	1,56	6,25
<i>S. Brandenburg</i>	1,56	1,56
<i>S. Carrau</i>	1,56	1,56
<i>S. Gafsa</i>	1,56	3,12
<i>Salmonella</i> spp. cepa rugosa	1,56	1,56
<i>S. Enteritidis</i>	3,12	6,25
<i>S. Rubislaw</i>	3,12	3,12
<i>S. houtenae</i>	6,25	12,5

Quanto aos resultados dos testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM), verificou-se que 62,5% dos sorovares foram susceptíveis às menores concentrações do óleo essencial de *M. piperita* (1,56 mg/mL), 25% dos sorovares foram susceptíveis à concentração de 3,12 mg/mL, sendo que apenas um único sorovar (*S. houtenae*) foi susceptível à 6,25 mg/mL. Isso pode evidenciar que o óleo essencial de *M. piperita*, possui elevada atividade bacteriostática frente aos sorotipos de salmonelas testadas, onde os valores mínimos testados foram suficientes em sua maioria.

Desam et al. (2017) estudou a atividade antibacteriana do óleo essencial de *M. piperita* onde o mesmo mostrou atividade antibacteriana e antifúngica significativa. Dentre os microrganismos testados, a *S. Enteritidis* e *S. typhimurium* tiveram a CIM de 1,50 µg/mL e concluiu que óleos essenciais derivados da espécie *M. piperita* podem ser utilizados na atividade antimicrobiana como fonte natural.

Quanto aos resultados dos testes de Concentração Bactericida Mínima (CBM), verificou-se que 37,5% dos sorovares foram susceptíveis às menores concentrações do do óleo essencial de *M. piperita* (1,56 mg/mL), 25% dos sorovares foram susceptíveis à

concentração de 3,12 mg/mL, 25% dos sorovares foram susceptíveis à concentração de 6,25 mg/mL, sendo que apenas um único sorovar (*S. houtenai*) foi susceptível à 12,5 mg/mL.

No estudo de Ebani, et al. (2019) foi investigada a atividade antimicrobiana *in vitro* de alguns OLES dentre eles o de *M. piperita*, contra cepas de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* previamente isoladas de aves. Seus resultados revelaram que as duas bactérias apresentaram valores de CIM de 18,24 mg/mL, o que fica acima dos valores apresentados por este estudo, sendo que a *S. houtenai* é o sorovar que apresentou maior CIM com 6,25 mg/mL. Deste modo, demonstrando que apesar de apresentar efeito antimicrobiano, o óleo essencial de *M. piperita*, ainda não possui padronização das concentrações que podem ser efetivas, sendo assim, necessário mais testes para que ocorra a uniformidade das dosagens.

Majolo (2013) avaliou a atividade bacteriana *in vitro* do óleo essencial de *M. piperita* contra 20 cepas de salmonela entérica encontrou uma variação na CIM de 4,0 a 16,0 mg/ml e de 4,0 a 32 mg /ml para a CBM. O intervalo de variação compreende os valores apresentados no respectivo estudo, sendo assim, o óleo essencial de *M. piperita*

Muitos estudos na literatura que avaliaram o potencial antibiótico do óleo essencial de *M. piperita*, contra *Salmonella* spp. correlacionaram o efeito antimicrobiano devido a influência do composto, menthol, este além de estar em maior porcentagem no óleo essencial, apresenta intensa capacidade inibitória de cepas bacterianas (TRAJANO, et al. 2009; JEYAKUMAR e TRIPTI PAL, 2011; VALERIANO, et al. 2012; EBANI, et al. 2018).

Konuk e Ergüden, (2020) relatam que o efeito antibacteriano do menthol está relacionado ao seu grupo hidroxila, onde ao liberar seu próton pode causar dano nas membranas das bactérias. Além disso, Lim, et al. (2018), constatou que o óleo essencial de hortelã-pimenta é eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo esta última correspondente a bactéria *Salmonella* spp.

CONCLUSÃO

Cinquenta por cento (50%) dos sorovares de *Salmonella* apresentaram resistência à 66,66% dos antibióticos comerciais utilizados. Verificou-se que 62,5% dos sorovares sofreram efeito bacteriostático e 37,5% dos sorovares sofreram efeito bactericida à concentração de 1,56 mg/mL de óleo essencial de *M. piperita*. Os resultados encontrados mostraram que existem sorovares resistentes aos antibióticos e que a determinação do CIM e CBM do óleo essencial de *M. piperita* foi bem-sucedida, apresentando inibição do crescimento bacteriano da *Salmonella* spp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-ELGHANY, S. M.; SALLAM, K. I.; ABD-ELKHALEK, A.; TAMURA, T. Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from chicken meat and giblets. **Epidemiology & Infection**, v.143, p. 997–1003, 2015.

ALÓS, J. I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. **Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica**. v. 33(10):692-9, 2015.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**. v. 45, p. 493-496. 1966.

CARDOSO, M.O.; RIBEIRO, A.R.; SANTOS, L.R.; PILOTTO, F.; MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; ROCHA, S.L.S.; NASCIMENTO, V.P. Antibiotic resistance in *Salmonella Enteritidis* isolated from broiler carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology**, Passo Fundo, v.37, p.299-302, 2006.

CENTENO, S.; SALVATIERRA, G.; CALLE, S. Detección de fenotipos de resistencia ACCSuT, BLEE y AmpC en Cepas de *Salmonella* entérica aisladas de infecciones en animales. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 29(2), p. 580-587. 2018.

CORTEZ, A.L.L.; CARVALHO, A.C. F.B.; IKUNO, A.A.; BÜRGER, K.P.; VIDAL-MARTINS, A.M.C. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.2, p.157-163, 2006.

DESAM, N. R.; AL-RAJAB, A. J.; SHARMA, M.; MYLABATHULA, M. M.; GOWKANAPALLI, R. R.; ALBRATTY, M. Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha Piperita* L. (peppermint) essential oils. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31(4), p. 528-533. 2019.

DOS SANTOS, K.P.O.; FARIA, A.C.D.S.R.; SILVA, D.P.A.; LISBOA, P.F.; DE PINA COSTA, A.; KNACKFUSS, F.B. *Salmonella* spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **PUBVET**, v. 14, p. 148, 2020.

DUARTE, D.A.M.; RIBEIRO, A.R.; VASCONCELOS, A.M.M.; SANTOS, S.B.; SILVA, J.V.D.; ANDRADE, P.L.A.; FALCÃO, L.S.P.C.A. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.40, p.569-573, 2009.

EBANI, V. V.; NARDONI, S.; BERTELLONI, F.; TOSI, G.; MASSI, P.; PISTELLI, L.; MANCIANTI, F. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils against *Salmonella enterica* serotypes Enteritidis and Typhimurium strains isolated from poultry. **Molecules**, v. 24(5), p. 900(1-9). 2019.

EBANI, V.V.; NAJAR, B.; BERTELLONI, F.; PISTELLI, L.; MANCIANTI, F.; NARDONI, S. Chemical composition and in vitro antimicrobial efficacy of sixteen essential oils against *Escherichia coli* and *Aspergillus fumigatus* isolated from poultry. **Veterinary sciences**, v. 5, n. 3, p. 62, 2018.

FURTADO, D. M. F.; SILVEIRA, V. S.; CARNEIRO, I. C. R. S; FURTADO, D. M. F.; KILISHEK, M. P. Consumo de antimicrobianos e o impacto na resistência bacteriana em um hospital público do estado do Pará, Brasil, de 2012 a 2016. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.10, p.1-8, 2019.

HERRO, E.; JACOB, S. E. *Mentha piperita* (hortelã-pimenta). **Dermatite**, v.21 (6), 327-329. 2010.

JEYAKUMAR, E.; LAWRENCE, R.; PAL, T. Comparative evaluation in the efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) oil with standards antibiotics against selected bacterial pathogens. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.1 (2), p.253-257. 2011.

KONUİK, H.B.; ERGÜDEN, B. Phenolic–OH group is crucial for the antifungal activity of terpenoids via disruption of cell membrane integrity. **Folia microbiologica**, p. 1-9, 2020.

LENNETTE, E. H.; BALOWS, A.; HAUSLER, W.J.; SHADOWMY, H.J. Manual of Clinical Microbiology. **American Society for Microbiology**, Washington, D.C., 1985.

LIM, H.W.; KIM, H.; KIM, J.; BAE, D.; SONG, K.Y.; CHON, J.W.; SEO, K.H. Antimicrobial effect of *Mentha piperita* (peppermint) oil against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*,

Cronobacter sakazakii, and *Salmonella* Enteritidis in various dairy foods: Preliminary study. **Journal of Dairy Science and Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 146-154, 2018.

LIMA, L.D.A.; SILVA, F.B.D.; DIAS, M.; STELLA, A.E.; JUNQUEIRA, O.M. Manejo sanitário de aviário de pequeno porte de frangos de corte e presença de *Salmonella* spp. **Higiene alimentar**, p. 1923-1927, 2019.

MAGIORAKOS, A. P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R. B; CARMELI, Y.; FALAGAS, M. E.; GISKE, C. G. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18(3), p. 268-81. 2012.

MAJOLO, C. **Antimicrobial activity of the essential oil of medicinal plants against serovars of *Salmonella enterica***. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, Brasil, 89 p. 2013.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Eighth Edition**. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

OLIVEIRA, S.D.; FLORES, F.S.; SANTOS, L.R.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.97, n.3, p.297-305, 2005.

PANDINI, J. A.; PINTO, F. G. D. S.; MULLER, J. M.; WEBER, L. D.; & MOURA, A. C. D. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82. 2014.

RAEISI, M.; HASHEMI, M.; ANSARIAN, E.; HEJAZI, J.; HASSANZAD AZAR, H.; DANESHAMOOZ, S.; AMINZARE, M. Antibacterial effect of *Mentha piperita* essential oil against foodborne pathogens in minced meat during storage at abuse refrigeration temperature. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v.7 (8), p. 720-726. 2019.

RIBEIRO, A.R.; KELLERMANN, A.; SANTOS, L.R.; FITTÉL, A.P.; NASCIMENTO, V.P. Resistência antimicrobiana em *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* sorovar Hadar isoladas de carcaças de frango. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.3, p.357-360, 2006.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808. 2007.

SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella Enteritidis* em aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.4, n.2, p.85-100, 2002.

SINGH, J.; SETHI, A. P. S.; SIKKA, S.S.; CHATLI, M.K.; KUMAR, P.. Effect of sun dried whole bulb garlic powder on growth, carcass characteristics and meat quality of commercial broilers. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 85, n. 1, p. 67–71. 2015.

SOUZA, R.B.; FERRARI, R.G.; MAGNANI, M.; KOTTWITZ, L.B.M.; ALCO CER, I.; TOGNIM, M.C.B.; OLIVEIRA, T.C.R.M. Ciprofloxacin susceptibility reduction of *Salmonella* strains isolated from outbreaks. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.41, n.1, p.497-500, 2010

TRAJANO, V.N.; LIMA, E.D.O.; SOUZA, E.L.D.; TRAVASSOS, E.R.A. Antibacterial property of spice essential oils on food contaminating bacteria. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.

TREVISAN, S.C.C.; MENEZES, A.P.P.; BARBALHO, S.M.; GUIGUER, É.L. Propriedades da mentha piperita: uma breve revisão. **World Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, v. 3, n. 1, pág. 309-13, 2017.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R.H.; CARDOSO, M.G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

WAYNE, P. A. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-fourth informational supplement, M100-S24. **Clinical and Laboratory Standards Institute** (CLSI), v. 34, n. 1, 2014.

6. CAPÍTULO IV

COMPOSIÇÃO, DIVERSIDADE DO MICROBIOMA E MORFOMETRIA INTESTINAL DE CODORNAS ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS

COMPOSIÇÃO, DIVERSIDADE DO MICROBIOMA E MORFOMETRIA INTESTINAL DE CODORNAS ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS

RESUMO

Um dos maiores desafios na produção de aves é a manutenção da integridade da mucosa e o equilíbrio da microbiota intestinal. Antimicrobianos alternativos seguros, que possam regular a comunidade microbiana através da alimentação animal, tem sido alvo de pesquisas na produção avícola. Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do uso dos óleos essenciais (OLES) de *Mentha piperita* e *Melaleuca alternifolia* sobre a morfometria intestinal e o microbioma intestinal de codornas de corte, sob condições normais de alimentação. Para o estudo da morfometria intestinal foi utilizado o delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial: quatro rações experimentais x três segmentos intestinais (4x3), com cinco repetições. As variáveis estudadas foram área das vilosidades intestinais, altura das vilosidades intestinais, profundidade da cripta intestinal, relação altura de vilosidade x profundidade de cripta, relação de criptas por vilosidade intestinal, relação de largura x altura das vilosidades intestinais, altura do epitélio intestinal e altura da musculatura intestinal. Para o estudo do microbioma intestinal foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, sendo 4 tratamentos (controle, bacitracina de zinco) e OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*, com 8 repetições de 7 aves totalizando 224 aves na fase de 1 a 42 dias. As aves abatidas tiveram seu conteúdo intestinal coletado para avaliações do perfil do microbioma intestinal do trato digestório das codornas. O uso de OLES de *M. alternifolia* (50 mg/kg de ração) na dieta das codornas de corte promoveu melhores resultados para morfometria intestinal se equivalendo aos resultados obtidos com o uso de Bacitracina de zinco (15%). O uso de *M. piperita* e *M. alternifolia* promoveu melhores resultados para morfometria intestinal, alterou o microbioma intestinal das codornas e reduziu a diversidade bacteriana patogênica.

Palavras-chave: microbiota, histologia, *Coturnix coturnix*.

COMPOSITION, DIVERSITY OF MICROBIOMA AND INTESTINAL MORPHOMETRY OF MEAT QUAILS FED WITH DIETS CONTAINING ESSENTIAL OILS

ABSTRACT

One of the biggest challenges in poultry production is maintaining the integrity of the mucosa and the balance of the intestinal microbiota. Safe alternative antimicrobials, which can regulate the microbial community through animal feed, has been the subject of research in poultry production. The aim of this study was to evaluate the effect of using essential oils (ESOL) from *Mentha piperita* and *Melaleuca alternifolia* on intestinal morphometry and / or intestinal microbiome of meat quails, under normal feeding conditions. For the study based on intestinal morphometry, a completely randomized design was used, in a factorial scheme: four experimental diets x three intestinal segments (4x3), with five repetitions. The variables studied were area of intestinal villi, height of intestinal villi, depth of intestinal crypt, ratio of villus height to depth of crypt, ratio of cryptades to intestinal villi, ratio of intestinal villi, ratio of intestinal villi of intestinal musculature. For the study of the intestinal microbiome, a completely randomized design was used, with 4 treatments (control, zinc bacitracin) and ESOL of *M. piperita* and *M. alternifolia*, with 8 repetitions of 7 birds totaling 224 birds in the phase from 1 to 42 days. The slaughtered birds had their intestinal contents collected for comments on the profile of the intestinal microbiome of the quail digestive tract. Or the use of *M. alternifolia* ESOL (50 mg / kg of feed) in the diet of the cut quail promoted better results for intestinal morphometry if equivalent to the results obtained with or use of zinc bacitracin (15%). Or use of *M. piperita* and *M. alternifolia* promoted better results for intestinal morphometry, altered or intestinal microbiome of quails and reduced pathogenic bacterial diversity.

Keywords: microbiota, histology, *Coturnix coturnix*.

INTRODUÇÃO

No intestino o microbioma é caracterizado como um conjunto de microrganismos que colonizam este órgão, sendo que estas populações estão localizadas entre a mucosa e o lúmen intestinal (BEDANI e ROSSI, 2009; THOMAS e GREER, 2010). O trato gastrointestinal (TGI) de codornas de corte (*Coturnix coturnix coturnix*) abriga comunidades microbianas únicas que desempenham um papel essencial em sua saúde e bem-estar. No entanto, ainda são poucos os estudos em relação ao microbioma dessa espécie (WILKINSON, et al. 2016). O microbioma intestinal, age de forma direta na saúde do animal, impactando na imunologia, fisiologia do TGI e no desempenho (CLAVIJO e FLOREZ, 2017).

Um dos maiores desafios na produção de aves é a manutenção da integridade da mucosa e o equilíbrio da microbiota intestinal. Os antibióticos melhoradores de desempenho têm sido utilizados na tentativa de, por meio de exclusão competitiva, manter o equilíbrio da microbiota do TGI resultando na melhora da imunidade do hospedeiro e maior desempenho (BELLONI et al. 2012, LEMOS et al. 2016). Contudo, com as restrições ao uso dos antimicrobianos como melhoradores de desempenho, alternativas passaram a ser pesquisadas a fim de manter os padrões produtivos previamente estabelecidos (BRENES e ROURA, 2010; KOIYAMA et al. 2014).

Antimicrobianos alternativos seguros, que possam regular a comunidade microbiana através da alimentação animal, tem sido alvo de pesquisas na produção avícola. O uso de melhoradores de desempenho à base de plantas como extratos, probióticos, prebióticos, acidificantes e óleos essenciais (OLES), promovem melhorias na eficiência alimentar e do estado de saúde dos animais, devido a grande quantidade de moléculas com potencial medicinal (PIZZIOLO et al. 2011; KLASSA et al. 2013; HAJIAGHAPOUR e REZAEIPOUR, 2018; REDA, et al. 2020; ALAGAWANY et al. 2021).

Dentre os antimicrobianos alternativos os OLES são o principal grupo de aditivos fitogênicos obtidos de plantas que podem afetar favoravelmente as funções intestinais, estimulando secreções digestivas, aumentando a atividade enzimática e reduzindo a aderência de patógenos (HALL et al. 2021; PAJAPATI, et al. 2021).

O óleo essencial de hortelã-pimenta especificamente de *Mentha piperita* é conhecido por exibir propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antivirais, anti-hipertensivas, antioxidantes, antialérgicas biopesticida e larvicida. Esse óleo essencial contém dois componentes ativos principais; menthol e mentona, os quais estudos vêm demonstrando ser benéficos na melhoria da saúde intestinal de aves de produção (MAHENDRAN e RAHMAN, 2020; OLUWAFEMI et al. 2020)

Outro óleo essencial é o da árvore-chá ou *tea tree* (*Melaleuca alternifolia*) pertencente à família Myrtaceae, está incluído na lista de substâncias fitogênicas que exerce atividades antimicrobiana, antifúngica, anti-helmíntica, antiviral, antitumoral e anti-inflamatória (NEPOMOCENO e PIETROBON, 2020). A *M. alternifolia* possui o terpinen-4-ol e γ -terpineno como componentes majoritários responsáveis pelas suas propriedades medicinais e seu resultado como antimicrobiano melhorador de desempenho tem sido positivo quando suplementados em dietas para aves, obtendo altos efeitos sobre o desempenho e a produtividade (PUVACA et al. 2019).

Assim, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do uso dos OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* sobre o microbioma e a morfometria intestinal de codornas de corte, sob condições normais de alimentação.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, Ilhéus, BA, Brasil, protocolo nº 016/18. A pesquisa foi desenvolvida entre os meses de outubro e dezembro de 2019 no galpão experimental de coturnicultura do Laboratório de Avicultura, situado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, localizado no *Campus*, no município de Itapetinga, Bahia, Brasil, no paralelo 15° 09' 07" Sul, no meridiano 40° 15' 32" Oeste de Greenwich e a 268 metros de altitude.

Foram utilizadas 224 codornas de um dia de idade, 50% de cada sexo, adquiridas à Fazenda Aya, localizada no município de Suzano - SP. As aves foram alojadas de 1 a 42 dias de idade em galpão de cria equipado com 32 gaiolas experimentais. As aves receberam fotoperíodo de 24 horas diárias de luz.

As codornas possuem necessidades nutricionais que variam conforme as fases de seu desenvolvimento, necessitando de alimentação específica de acordo com o período de dias de vida. O programa de alimentação foi dividido em duas fases, sendo a primeira fase, Inicial, de 1 a 21 dias de idade, e a segunda, Crescimento, de 22 a 42 dias de idade.

As dietas (Tabela 1) foram fareladas e formuladas a base de milho e farelo de soja de acordo com as exigências nutricionais e a composição dos alimentos preconizadas por Silva e Costa (2009). O valor de energia metabolizável utilizado como referência para óleo de soja foi baseado em Rostagno et al. (2017).

Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais*

Ingredientes (%)	Inicial (1 a 21 dias)				Crescimento (22 a 42 dias)			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Milho	52,85	52,82	52,85	52,85	59,99	59,97	59,97	59,97
Farelo de Soja	42	42	42	42	35,4	35,39	35,39	35,39
MHL - Metionina (84%)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,45	0,45	0,45	0,45
Sulfato de Lisina (55%)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
L- Treonina (98%)	0,25	0,25	0,25	0,25	0	0	0	0
Calcário calcítico	1,02	1,02	1,02	1,02	0,96	0,96	0,96	0,96
Fosfato Bicálcico	1,32	1,32	1,32	1,32	0,87	0,87	0,87	0,87
Sal Comum	0,4	0,4	0,4	0,4	0,33	0,33	0,33	0,33
Premix**	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Óleo de soja	1,16	1,16	1,06	1,05	1,5	1,5	1,38	1,36
Óleo de <i>M. piperita</i>	-	-	0,096	-	-	-	0,125	-
Óleo de <i>M. alternifolia</i>	-	-	-	0,113	-	-	-	0,147
Bacitracina de Zinco	-	0,03	-	-	-	0,03	-	-
Composição calculada	Níveis nutricionais							
Energia metabolizável, kcal/kg	2900	2900	2900	2900	3025	3025	3025	3025
Proteína bruta, %	23,72	23,72	23,72	23,72	21,34	21,34	21,34	21,34
Fibra bruta, %	2,82	2,82	2,82	2,82	2,61	2,61	2,61	2,61
Cálcio, %	0,92	0,92	0,92	0,92	0,76	0,76	0,76	0,76
Fósforo disponível, %	0,42	0,42	0,42	0,42	0,33	0,33	0,33	0,33
Lisina dig., %	1,51	1,51	1,51	1,51	1,34	1,34	1,34	1,34
Metionina dig., %	0,77	0,77	0,77	0,77	0,7	0,7	0,7	0,7
Metionina + cistina dig., %	0,73	0,73	0,73	0,73	0,68	0,68	0,68	0,68
Treonina dig., %	1,17	1,17	1,17	1,17	0,84	0,83	0,83	0,83
Valina dig., %	1,15	1,15	1,15	1,15	1,03	1,03	1,03	1,03
Sódio, %	0,17	0,17	0,17	0,17	0,14	0,14	0,14	0,14
Ácido linoleico, %	1,22	1,22	1,22	1,22	1,3	1,3	1,3	1,3

*T1: Dieta basal (grupo controle negativo); T2: Dieta basal e Bacitracina de Zinco 15%; T3: Dieta basal e óleo essencial de *Mentha piperita* e T4: Dieta basal e óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*. **Níveis de garantia por kg de ração para a fase inicial: Vitamina A 9996 U.I.; Vitamina D3 1248 U.I.; Vitamina E 20,16 U.I.; Vitamina K3 3 mg; Vitamina B1 3 mg; Vitamina B2 6 mg; Vitamina B6 4 mg; Vitamina B12 0,01008 mg; Niacina 40000mg; Ácido Pantotênico 30 mg; Colina 260 g; Ácido Fólico 0,48 mg; Metionina 1580 mg; Cobre 7,99 mg; Ferro 499 mg; Manganês 0,07 mg; Zinco 49,99 mg; Iodo 1,20 mg; Selênio 0,19 mg; Salinomicina 550 mg. Níveis de garantia por kg de ração para a fase final: Vitamina A 12000 U.I.; Vitamina D3 3600 U.I.; Vitamina E 180 U.I./kg; Vitamina K3 3,00 mg; Vitamina B1 3,60 mg; Vitamina B2 9,00 mg; Vitamina B6 6,00 mg; Vitamina B12 0,021 mg; Niacina 600 mg; Ácido Pantotênico 22,50 mg; Ácido Fólico 0,150 mg; Colina 510 mg; Ferro 7500 mg; Manganês 105 mg; Zinco 75 mg; Cobre 15 mg; Iodo 1,80 mg; Selênio 0,30 mg.

Os OLES, foram adicionados de forma homogênea na ração adaptado de Dairiki, et al. (2013), onde o grupo controle recebeu ração padrão para codornas, para os tratamentos do grupo experimental, para cada quilograma de ração, foi adicionado uma mistura de óleo de soja e óleo essencial. De acordo com da Silveira Deminicis, et al. 2021, não existe dados padronizados de dosagens de OLES fornecidas as aves de produção, de tal modo, foram utilizadas dosagens correspondentes a concentração bactericida mínima (CBM) *in vitro* dos óleos essenciais, *M. piperita* (12,5 mg/kg de ração) e *M. alternifolia* (50 mg/kg de ração), as

quais foram determinadas por meio de teste de microdiluição em um estudo prévio realizado pela nossa equipe (dados não publicados).

Após 42 dias de vida as aves foram pesadas e após a pesagem das aves, uma com peso médio de cada parcela foi separada para realização das coletas. Foram ao todo 32 aves abatidas. As aves receberam alimento e água à vontade durante todo o período experimental, até o momento do abate, que ocorreu por insensibilização por deslocamento cervical, por um profissional treinado e em seguida aconteceu a exsanguinação.

Para o estudo do microbioma intestinal foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo 4 tratamentos (controle, bacitracina de zinco e OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*), com 8 repetições, totalizando 32 aves na fase de 1 a 42 dias. As aves abatidas tiveram todo seu conteúdo intestinal coletado para avaliações do perfil do microbioma intestinal do trato digestório das codornas. Para o diagnóstico do microbioma intestinal das aves foi feito um “pool” do conteúdo intestinal coletado por tratamento.

Foi feita a Análise de sequenciamento de nova geração (alto desempenho), das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA desenvolvida na Neoprosecta Microbiome Technologies, Brasil, (CHRISTOFF, et al. 2019) e os resultados foram registrados em abundância relativa, em porcentagem de sequências lidas.

Foi realizada à amplificação com primers para região V3-V4 do gene rRNA 16S, (341 FCCTACGGGRSGCAGCAG, WHIPPS, (2001) e 806R GGACTACHVGGGTWTCTAAT, (BALKWIL, et al. 2003). A primeira PCR foi realizada com os primers universais V3 / V4 contendo um adaptador Illumina parcial, baseado no adaptador de estrutura TruSeq (Illumina, EUA), que permite uma segunda PCR com as sequências de indexação semelhantes aos procedimentos descritos anteriormente por Caporaso, et al. (2011).

Foi adicionado índices duplos únicos por amostra na segunda PCR. Dois microlitros de DNA das amostras foram usados como entrada em cada primeira reação de PCR. As reações de PCR foram realizadas usando Platinum Taq (Invitrogen, EUA) com as condições: 95°C por 5 min, 25 ciclos de 95°C por 45 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 45 segundos e uma extensão final de 72°C por 2 minutos para PCR 1. Na PCR 2, as condições foram 95°C por 5 minutos, 10 ciclos de 95°C por 45 segundos, 66°C por 30 segundos e 72°C por 45 segundos e uma extensão final de 72°C. C por 2 min. Todas as reações de PCR foram realizadas em triplicatas e em cada lote de PCR, um controle de reação negativo (CNR) foi incluído. As reações finais de PCR foram limpas com esferas AMPureXP (Beckman Coulter, EUA) e as amostras foram reunidas nas bibliotecas de sequenciamento para quantificação. As bibliotecas foram sequenciadas utilizando-se o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA) e o kit V2, com 300 ciclos e sequenciamento *single-end*.

Uma concentração de DNA das bibliotecas foi estimada com ensaios Picogreen dsDNA (Invitrogen, EUA) e, em seguida, à medida que as bibliotecas agrupadas foram diluídas para quantificação precisa de qPCR usando o KAPA Library Quantification Kit para plataformas Illumina (KAPA Biosystems, MA). Os conjuntos de bibliotecas foram ajustados para uma concentração final de 11,5 pM (para kits V2) ou 18 pM (para kits V3) e sequenciados em um sistema MiSeq (Illumina, EUA), usando os primers Illumina padrão fornecidos no kit do fabricante. Execuções de ciclo único de 300 ciclos foram realizadas usando kits de sequenciamento V2x300, V2x300 Micro, V2x500 ou V3x600 (Illumina, EUA), sempre gerando amplificadores de tamanho de 283pb adequados para análise. Cobertura de 10.000 reads foi definida para cada amostra sequenciada.

Todas as sequências de DNA analisadas resultantes passaram, individualmente, por um filtro de qualidade, utilizando como base o somatório das probabilidades de erro de suas bases, permitindo no máximo 1% de erro acumulado. As sequências que passaram pelos procedimentos iniciais e que tiveram 100% de identidade foram agrupadas em filotipos/clusters e foram utilizadas para identificação taxonômica, por comparação com banco de dados de sequências acuradas de 16S rRNA (NeoRef, Neoprosecta Microbiome Technologies, Brasil) (CHRISTOFF, et al. 2019).

A análise estatística foi realizada com o software GraphPad 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). A análise estatística da microbiota foi realizada com STAMP software (PARKS et al. 2014). As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Para o estudo da morfometria intestinal foi utilizado o DIC, em esquema fatorial (4x3): quatro rações experimentais (sendo 4 tratamentos: controle, bacitracina de zinco, e óleos essenciais de *M. piperita* e *M. alternifolia*) x três segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo), com cinco repetições, sendo utilizada apenas uma (01) ave por unidade experimental, resultando em 20 aves abatidas, totalizando 60 amostras (fragmentos intestinais).

Os fragmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) foram coletados 3 cm a partir da moela, até 3 cm antes da proção final (ceco) e foram mantidos em solução de formol tamponado a 10% para sua fixação por 48 horas. Após a colheita, as amostras foram lavadas em solução salina, fixados em formol 10%, e em seguida desidratadas em uma série de concentrações crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina.

Após a microtomia, foram obtidos cinco cortes transversais e semisseriados de 7µm de espessura e corados pelo método de Hematoxilina-Eosina e PAS (ácido periódico de Shif), e ao final os espécimes foram montados entre lâmina e lamínula com resina Entellan® (Merk). A análise das imagens histológicas, do duodeno, jejuno e íleo foram realizadas em

microscopia óptica, utilizando microscópio marca Leica M10, usando-se uma rotina computacional semi-automática por meio do programa Image Pro-Plus 4.5 (IPP4.5), como descrito em Reis et al. (2016).

Foram coletados dados de morfometria das vilosidades das três porções do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), para a coleta da área das vilosidades, altura das vilosidades, profundidade das criptas, largura das vilosidades, altura de epitélio, altura da musculatura e relação vilo e cripta. Realizaram-se 10 medições por amostra, por meio do programa Image Pro Plus 4.5.

As análises para observação dos efeitos significativos de tratamento (Controle, Bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia*), segmentos do intestino e da interação tratamento e segmento do intestino, foram realizadas por meio do “proc mixed” do SAS (2008). Quando da ocorrência da interação significativa, as médias ajustadas foram regredidas para cada segmento, obtendo-se os níveis máximo ou mínimo quando as regressões foram quadráticas. Quando as interações não foram significativas e o efeito do tratamento apresentou-se significativo, as regressões foram aplicadas para as médias ajustadas e obtidas para ambos os segmentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Microbioma intestinal de codornas de corte

O microbioma intestinal atua de modo multiforme e possui papel significativo na saúde e desempenho das aves (WILKINSON et al., 2016). No estudo do microbioma intestinal das codornas de corte, foi observado grupos de bactérias que foram mais abundantes no nível do filo (Figura 1a), sendo as Firmicutes (abundância média de 90,05%), seguido por Actinobacteria (abundância média 9,19%), os demais grupos de bactérias no nível de filo (Verrumicrobia, Proteobacteria, Fusobacteria, Euryarchaeota e Bacteroidetes) somados apresentaram a abundância média de 0,76%.

Alterações nas populações de bactérias intestinais ocorrem devido ao efeito adverso dos agentes antimicrobianos, que podem levar a mudanças na estrutura da parede celular intestinal e até mesmo superação de patógenos, o que é uma importante preocupação ao utilizar esses agentes na nutrição animal (KÜREKCI et, 2020). Logo, é desejável manter em equilíbrio o microbioma natural dos tratos digestivos.

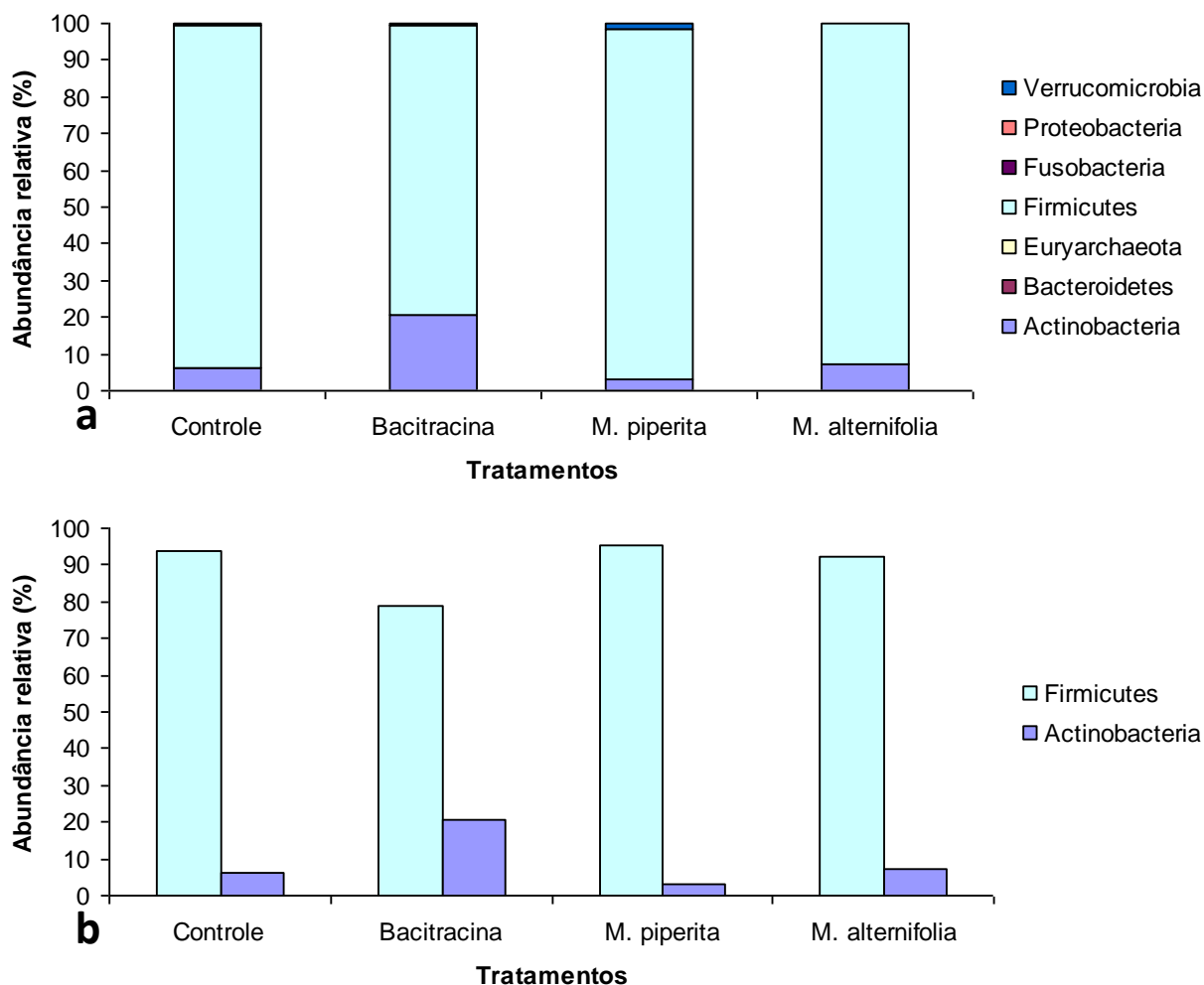


Figura 1. Alterações dos Filos. a) Abundância relativa (%) de todos os filos das bactérias de acordo com o tratamento, b) Abundância relativa (%) de Firmicutes e Actinobactéria (%). As amostras estão apresentadas como média, $n = 4$, $p < 0,05$.

Quando se analisa os dois filos predominantes, há uma mudança nas proporções das bactérias entre tratamentos (Figura 1b). Observa-se que o filo Firmicutes ele está em maior abundância relativa nos tratamentos Controle (93,65%), *M. piperita* (95,35%), *M. alternifolia* (92,41%) e na Bacitracina (78,79%). O filo Actinobactéria o segundo mais abrangente atingiu de abundância relativa 20,54% no tratamento com a Bacitracina, estando mais abundante que nos demais, Controle (5,95%) e *M. piperita* (2,91%) e *M. alternifolia* (7,35%).

No Estudo de Souza et al. (2015) foi identificado em camundongos e humanos adultos com sobrepeso e obesos, a existência de uma modificação na composição da microbiota intestinal, e apontaram que esta relação da composição corporal do indivíduo e as proporções dos filos estão intimamente ligadas, segundo eles, a razão Firmicutes / Bacteroidetes mais

alta é considerado um bom biomarcador para obesidade e em contraste, o aumento na proporção relativa de Bacteroidetes, acarreta numa redução de Firmicutes e Actinobacteria.

Neste trabalho pode se observar que a relação entre Firmicutes / Actinobactérias estão em maiores proporções, e que o percentual de Bacteroidetes estão em valores minoritários (aproximadamente de 0,1%). Paixão e Castro (2016) revelam que o filo Firmicutes dificulta a conversão de energia alimentar e conseqüentemente pode comprometer o aumento do peso corporal das aves. Tendo em vista essa afirmativa, é importante ressaltar que as codornas utilizadas para coleta do microbioma intestinal, apresentavam-se todas com a média de peso considerada normal para a espécie criada em clima quente aos 42 dias de vida (aproximadamente 250 a 280g), possivelmente este fato pode elucidar esta relação de filos encontrada.

Estes resultados corroboram com os encontrados por Du et al (2020), na qual caracterizaram o microbioma intestinal de codornas, e os resultados mostraram que o filo Firmicutes foi amplamente dominante no intestino delgado e que o filo Actinobacteria estava dentro dos cinco filos mais abundantes no trato intestinal de codornas. Kürekci et (2020) também verificou que o microbioma de codornas é composto principalmente pelo filo Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes e Proteobacteria.

Wilkinson et al. (2016) revela em seu estudo que o principal filo taxonômico é composto principalmente por Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria e como novidade o Tenericutes no intestino de codornas. Além disso, é interessante observar que no atual estudo os tratamentos com OLES não alterou profundamente o perfil microbiano existente, quando comparado ao grupo Controle, sugerindo o efeito não deletério destes produtos na comunidade bacteriana intestinal na concentração testada, colaborando para a variabilidade e a manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal.

Prever como a composição do microbioma pode afetar a fisiologia e a morfologia intestinal é um desafio (JASSENS, et al 2018), pois são escassos os estudos caracterizando a microbiota intestinal de codornas de corte. Precisamente por essa razão, ainda não está completamente elucidado o quanto uma variação na abundância relativa bacteriana pode de fato impactar a imunidade intestinal do hospedeiro (WILKINSON, et al. 2016; DU, et al. 2020; BORDA-MOLINA, et al. 2020; BROWN, et al. 2021).

Variações gerais de bactérias a nível de gênero foram registradas em todos os tratamentos (Figura 2a), em relação ao Controle, mas as alterações notáveis foram observadas nas aves tratadas com *M. alternifolia*. Entretanto, quase todos os gêneros foram

mantidos pelos tratamentos, apesar das mudanças em abundância relativa. Contudo foi verificada redução dos valores da abundância de *Lactobacillus* em todos os tratamentos Bacitracina (29,72%), *M. piperita* (37,98%) e *M. alternifolia* (11,45%), quando comparados com o controle (55,56%) (Figura 2b).

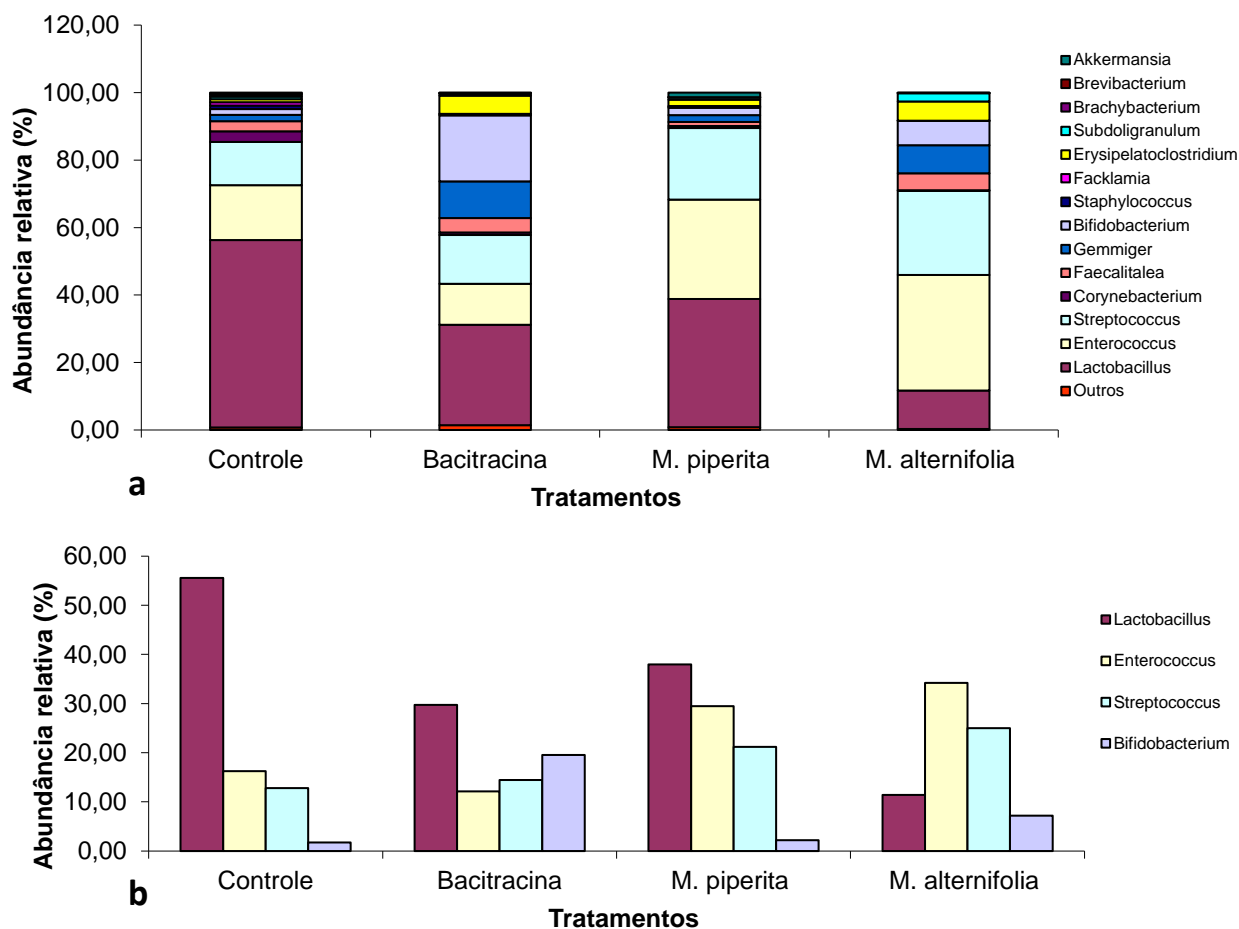


Figura 2. Alterações de Gênero. a) Todos os gêneros de acordo com o tratamento. b) Abundância relativa (%) de *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Streptococcus* (%) e de *Bifidobacterium* (%). As amostras estão apresentadas como média, $n = 4$, $p < 0,05$. Outros*. Correspondem aos gêneros *Aerococcus*, *Agrobacterium*, *Anaerotruncus*, *Arthrobacter*, *Bacteroides*, *Barnesiella*, *Blautia*, *Bosea*, *Butyricoccus*, *Clostridium*, *Dietzia*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Faecalicoccus*, *Fusobacterium*, *Globicatella*, *Helicobacter*, *Jeotgalicoccus*, *Kurthia*, *Lachnoclostridium*, *Lactococcus*, *Luteimonas*, *Methanobrevibacter*, *Ochrobactrum*, *Paracoccus*, *Pseudoclavibacter*, *Ralstonia*, *Rothia*, *Ruminiclostridium*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* e *Weissella*.

Os *Lactobacillus* são considerados benéficos para as aves, pois atuam impedindo o organismo patogênico de aderir ao epitélio intestinal (BORDA-MOLINA, et al 2016). Essa redução de *Lactobacillus*, pode estar associada provavelmente a um aumento do pH intestinal ou pela presença/aumento de bactérias de outros gêneros (BORDA-MOLINA, et al 2020). Essa diminuição possivelmente pode ter proporcionado condições, para o aumento da abundância de *Enterococcus* e *Streptococcus* (fermentadores de ácido lático), quando do uso

de *M. piperita* e *M. alternifolia*. Já as espécies do gênero *Bifidobacterium*, sofreram aumento nos tratamentos com Bacitracina (19,53%) e *M. alternifolia* (7,20%) em relação ao Controle e *M. piperita* (1,72 e 2,20%). Esse gênero corresponde a bactérias heterofermentativas, produzindo ácido acético e láctico, na proporção molar de 3:2 (MACEDO et al, 2008).

Segundo Gong et al., (2007) a comunidade colonizadora tende a ser dominada por fermentadores de ácido láctico. Por outro lado, os gêneros *Enterococcus* e *Streptococcus* que são bactérias Gram-positivas, aeróbicas facultativas ou obrigatórias, apresentam maiores problemas de resistência aos antibióticos (PILARSKI e SCHOCKEN-ITURRINO, 2010, LOUREIRO et al, 2016), talvez por essa razão tenham se destacado.

A bacitracina é um potente antibiótico, pois bloqueia a transformação do pirofosfotobactoprenol à fosfobactoprenol (BAPTISTA, 2013) que é um importante precursor da síntese de parede celular e carreador de membrana associado a processos anabólicos em bactérias gram-positivas (SCHNEIDER et al., 2009; COSTA e SILVA JUNIOR, 2017). Assim, o desequilíbrio ocasionado por fatores internos ou externos ao hospedeiro, incluindo a alimentação, o uso de antibióticos, idade, estresse, entre outros se reflete na modificação do microbioma intestinal, podendo ocorrer redução/aumento de bactérias patogênicas e não patogênicas, caracterizando um quadro de disbiose, o que na maioria das vezes não é positivo (ZHANG et al., 2015; CARDOSO, 2016, ARAÚJO et al, 2019).

Variações gerais de espécies patogênicas foram registradas em todos os tratamentos em relação ao controle, mas as alterações de Espécies Patogênicas mais evidentes foram notadas nas aves tratadas com *M. alternifolia* (Figura 3a).

Porém, ocorreu acentuada diminuição da abundância média de *Corynebacterium stationis* e *Enterococcus faecalis* em todos os tratamentos (2,07% e 2,62%), quando comparados com o Controle. Entretanto, foi verificado aumento da abundância relativa da bactéria *Enterococcus cecorum* quando do uso da bacitracina (84,04%) e dos tratamentos com *M. piperita* (95,28%) e *M. alternifolia* (98,92%) em relação ao controle (75,78%) (Figura 3b).

Estes patógenos em potencial habitam a microbiota intestinal, e dependendo de como estão dispostos podem estar presentes sem causar doenças, pois estão em níveis controlados (equilíbrio) no lúmen intestinal do hospedeiro. A perturbação desse balanço pode causar o crescimento anormal de microrganismos causando doenças (MACARI, et al 2014).

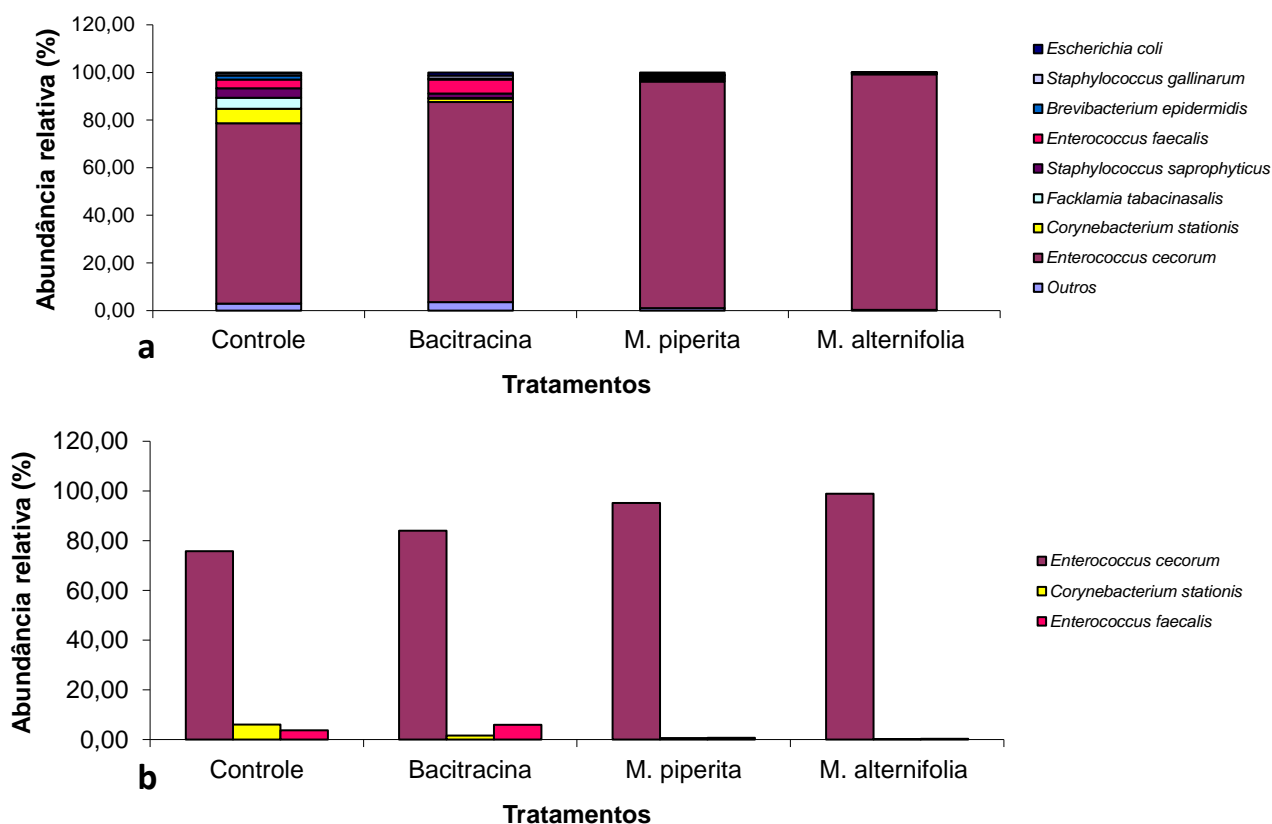


Figura 3. Alterações de Espécies. a) Todas as Espécies Patogênicas em trato gastrointestinal de codornas de corte alimentadas com rações contendo diferentes aditivos antimicrobianos (controle, Bacitracina de zinco, e os OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*). b) Abundância relativa (%) de *Enterococcus cecorum*, *Enterococcus faecalis* e *Corynebacterium stationis* (%). Tabela contendo Espécies com abundância relativa > 0,05. Outros*: correspondem as espécies patogênicas *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus gallolyticus*, *Bosea thiooxidans*, *Fusobacterium mortiferum*, *Pseudoclavibacter faecalis*, *Staphylococcus lentus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus pluranimalium*, [*Clostridium*] clostridioforme, *Aerococcus viridans*, *Rothia nasimurium* *Corynebacterium terpenotabidum*, *Streptococcus infantarius*, *Methanobrevibacter woesei*, *Corynebacterium falsenii*, *Dietzia maris*, *Enterobacter cloacae*, *Corynebacterium variabile*, *Anaerotruncus colihominis*, *Ralstonia pickettii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Ochrobactrum anthropi* *Globicatella sanguinis*, *Brevibacterium senegalense*, *Enterococcus avium*, *Enterobacter hormaechei*, *Streptococcus hyovaginalis*, *Helicobacter pullorum* e *Enterococcus casseliflavus*.

As cepas de *E. cecorum* eram consideradas como um comensal inofensivo do TGI de aves, mas nos últimos 15 anos, cepas patogênicas de *E. cecorum* se tornaram uma causa significativa de morbidade e mortalidade em matrizes de frangos de corte sendo considerado como um patógeno emergente na indústria avícola em todo o mundo, onde as cepas que carregam maior resistência antimicrobiana, apresentam patogenicidade aumentada além de compartilhar vários genes de virulência putativos (DOLKA, et al. 2017; JUNG et al. 2018).

Considerando a figura 3, pode-se observar que no grupo controle a bactéria *E. cecorum* encontrou condições de baixa competitividade em relação aos outros tipos de bactérias

presentes. Quando se avalia o efeito dos antimicrobianos testados, seja o comercial (bacitracina) ou alternativos (*M. piperita* e *M. alternifolia*), é notável que foram capazes de combater as cepas dos outros tipos de bactérias presentes, mas não apresentou efetividade para as cepas do *E. cecorum*, e assim possivelmente, este fator contribuiu para que desempenhasse domínio no ambiente intestinal diminuindo a diversidade bacteriana patogênica.

Foram observadas alterações gerais de espécies consideradas na literatura como não-patogênicas em todos os tratamentos, em relação ao Controle, mas as alterações mais evidentes foram notadas nas aves tratadas com *M. alternifolia* (Figura 4a).

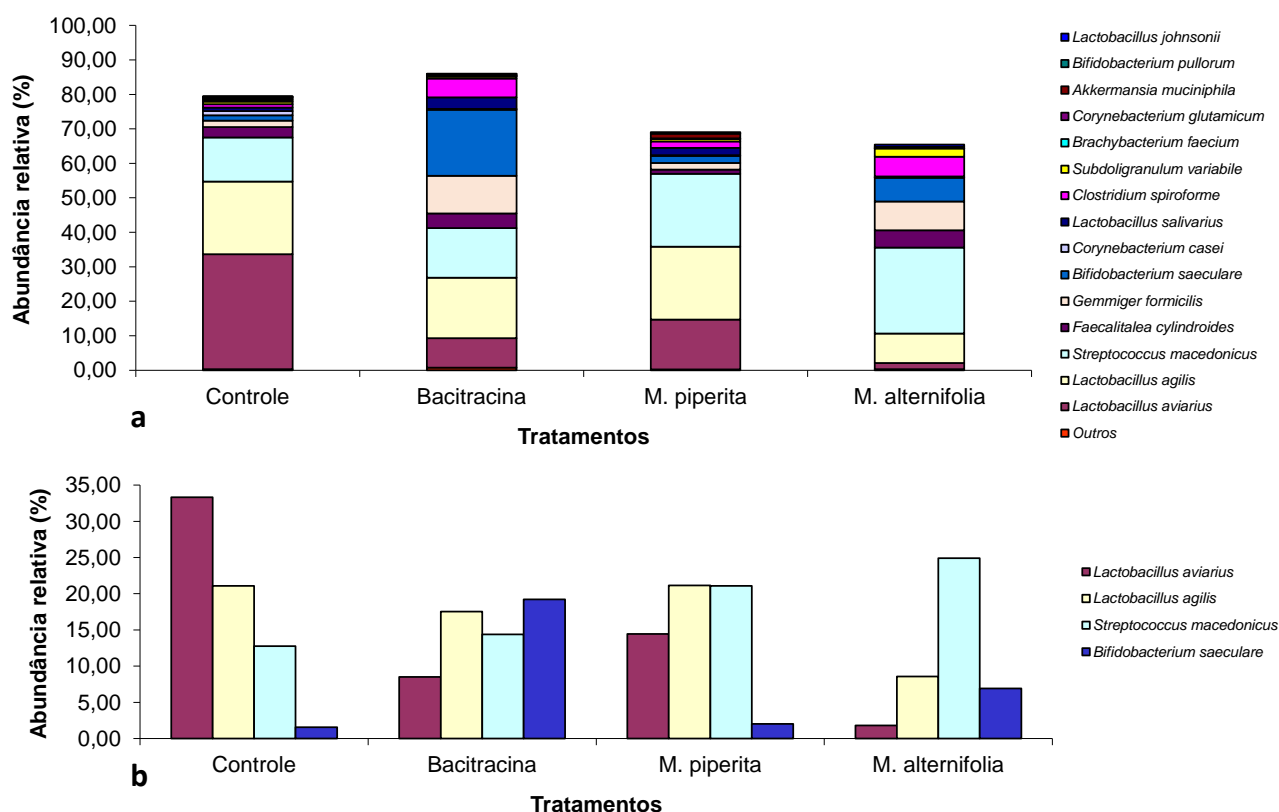


Figura 4. Alterações de Espécies. a) Todas as Espécies Não – Patogênicas em trato gastrointestinal de codornas de corte alimentadas com rações contendo diferentes aditivos antimicrobianos (controle, Bacitracina de zinco, e os OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*). b) Abundância relativa (%) de *Lactobacillus aviarius*, *Lactobacillus agilis*, *Streptococcus macedonicus* e *Bifidobacterium saeculare*. Tabela contendo Espécies com abundância relativa (%) > 0,05. Outros*: correspondem as bactérias não- patogênicas *Lactobacillus reuteri*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Kurthia zopfii*, *Butyricoccus pullicaecorum*, *Lactococcus lactis*, *Bacteroides coprophilus*, *Arthrobacter protophormiae*, *Bacteroides salanitronis*, *Corynebacterium freneyi*, *Paracoccus thiocyanatus*, *Bacteroides coprocola*, *Barnesiella intestinhominis*, *Bifidobacterium gallinarum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Enterococcus mundtii*, *Jeotgalicoccus huakuii*, *Lactobacillus vaginalis*, *Bacteroides uniformis*, [*Clostridium*] *leptum*, *Lactobacillus ingluviei*, *Blautia glucerosea*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus equinus*, *Bacteroides barnesiae*, *Clostridium ruminantium*, *Bacteroides plebeius*, *Weissella thailandensis*, *Weissella paramesenteroides* e *Corynebacterium nuruki*.

Houve acentuada diminuição da abundância de *Lactobacillus aviarius* em todos os tratamentos onde permaneceram as abundâncias relativas Bacitracina (8,51%), *M. piperita* (14,44%) e *M. alternifolia* (1,80%) quando comparados com o Controle (33,31%), e diminuição de *Lactobacillus agilis* quando do uso de *M. alternifolia* (8,58%), contudo os demais tratamentos Controle, Bacitracina e *M. piperita* permaneceram em porcentagens maiores de *Lactobacillus agilis* (21,07%, 17,55% e 21,16%). Também foi verificado aumento, expressivo, da abundância de *Streptococcus macedonicus* quando do uso *M. piperita* e *M. alternifolia* (21,09% e 24,91%) e o *Bifidobacterium saeculare* apresentou abundância relativa maior nos tratamentos com Bacitracina (19,21%) e *M. alternifolia* (6,93%), já os grupos Controle e *M. piperita* tiveram foram abaixo de 2% (Figura 4b).

Chang et al. (2020), avaliando três tipos de probióticos (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei* e *Candida utilis*) em dietas para frangos de corte, verificaram que a bactéria intestinal predominante foi a *Lactobacillus aviarius*. Sugerindo que esta espécie pode desempenhar um papel importante no restabelecimento de uma nova comunidade microbiana saudável, para mitigar a toxicidade por micotoxinas em frangos de corte. Wiersema et al. (2020) estudando a permeabilidade intestinal, morfologia e o microbioma intestinal de galinhas de postura, notaram que a *Lactobacillus aviarius* e a *Lactobacillus kitasatonis* foram as mais abundantes.

Histomorfometria intestinal de codornas de corte

A conformação da histológica do TGI é um fator de grande importância para a saúde de seu hospedeiro, pois é por meio dela que acontece a absorção dos nutrientes dos alimentos ingeridos, impactando em sua imunidade. O perfil do microbioma intestinal pode influenciar a morfologia e morfometria intestinal, podendo interferir também na função do mesmo, alterando a absorção de nutrientes por exemplo. A morfologia intestinal das codornas submetidas aos tratamentos (Controle, Bacitracina, *M. piperita* e *M. alternifolia*) podem ser percebidos nas fotomicrografias do duodeno, jejuno e íleo Figura 5.

Quando há mudanças no perfil do microbioma do lúmen intestinal, pode ser observado efeitos que podem trazer benefícios ou malefícios na morfologia e morfometria das vilosidades, resultando em mudanças que afetam diretamente em seu papel absorção dos nutrientes, e a taxa de renovação celular. Analisando a figura 5 pode-se observar que os diferentes segmentos do intestino (duodeno, jejuno e íleo) possuem particularidades em razão do número e tamanho de vilosidades, bem como profundidade de cripta e altura de musculatura.

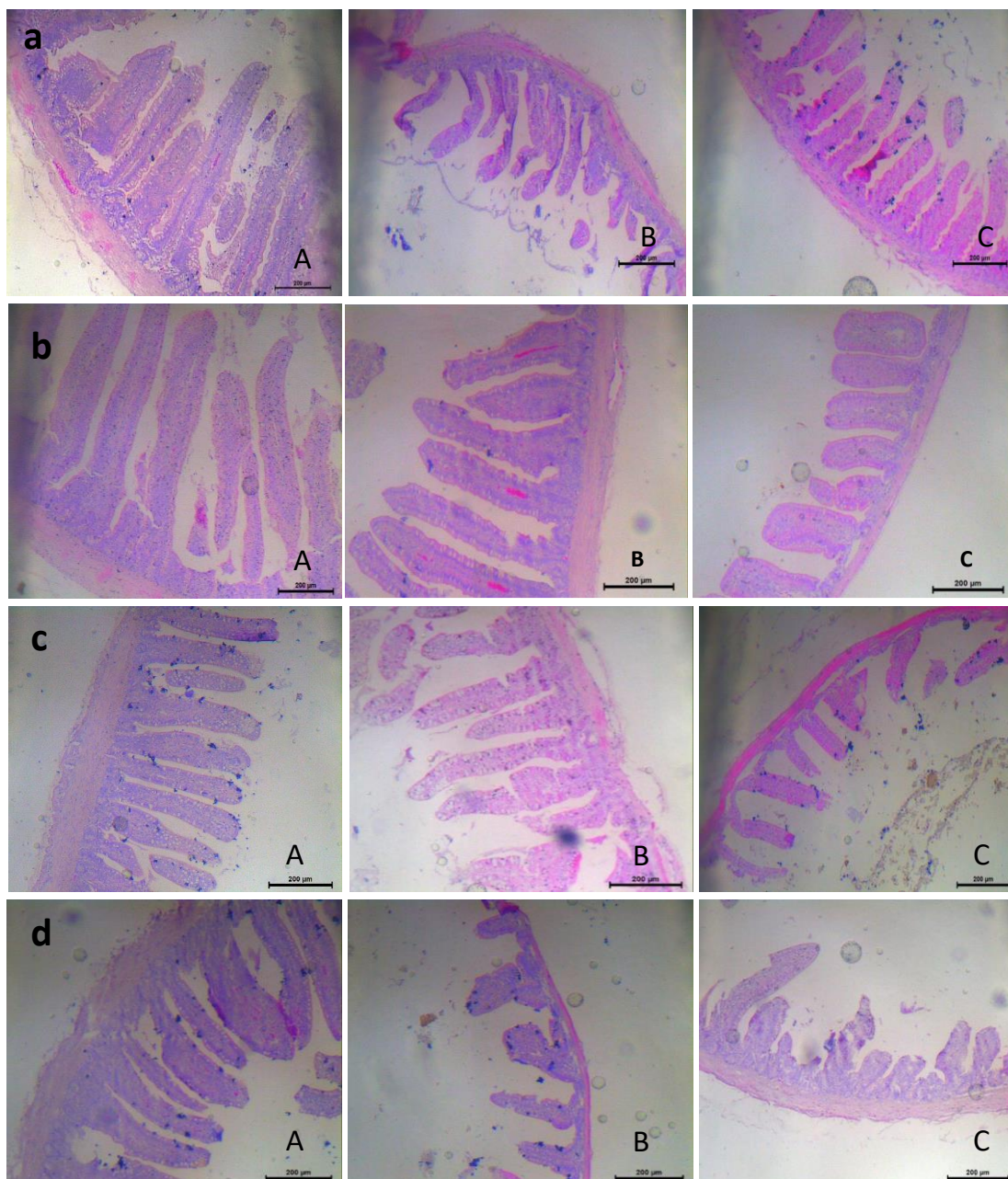


Figura 5. Fotomicrografias do duodeno (A), jejuno (B) e íleo (C) dos tratamentos a – controle, b- bacitracina, c- *M. piperita* e d- *M. alternifolia* utilizadas para tomada de medidas para análise histomorfométrica identificadas por técnica de PAS.

Isso tudo se deve pelo fato que nas diferentes porções do intestino há localidades onde há mais atividade de absorção do que em outros (no duodeno por exemplo), resultando nas diferenças de desenvolvimento e tamanho dos vilos de cada secção. Além desse fator, pode se notar que a depender do tratamento aplicado (Controle, Bacitracina, *M. piperita* e *M. alternifolia*), resultou em diferenças, mesmo entre segmentos equivalentes, transformando a morfologia do epitélio intestinal.

Os resultados do uso dos tratamentos (Controle, Bacitracina, *M. piperita* e *M. alternifolia*) sobre a morfometria intestinal estão dispostos na Tabela 2. A inclusão de OLES

e da bacitracina de zinco na dieta de codornas de corte, de 1 aos 42 dias, mostrou efeito ($P < 0,01$) dos tratamentos, da porção do intestino e da interação “tratamentos x porção do intestino”.

Tabela 2. Área das vilosidades, altura das vilosidades, profundidade da cripta, relação de criptas por vilosidade, relação de largura x altura das vilosidades e altura da musculatura intestinal em codornas de corte aos 42 dias de idade, alimentadas com dietas contendo OLES.

Área das vilosidades (μm^2)	Tratamentos				CV%
	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	
Duodeno	1381,87b	3427,06a	1342,58b	2385,28ab	43,57
Jejuno	1584,20a	1422,45a	1745,58a	1854,94a	30,91
Íleo	1114,38a	1030,75a	792,99a	1002,97a	31,09
Altura das vilosidades (μm)	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	CV%
Duodeno	569,94b	981,82a	545,94b	841,23a	21,57
Jejuno	651,12a	620,80a	755,23a	682,36a	22,56
Íleo	507,07a	464,94a	398,27a	437,20a	15,7
Profundidade da cripta (μm)	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	CV%
Duodeno	80,48bc	99,64ab	73,43c	106,17a	21,78
Jejuno	65,98b	67,42b	76,36ab	93,15a	16,66
Íleo	57,05a	65,56a	75,90a	56,59a	11,96
Altura de vilosidade / profundidade de cripta	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	CV%
Duodeno	2,42b	3,49a	2,46b	2,84ab	12,33
Jejuno	2,43a	2,29a	2,31a	2,72a	16,36
Íleo	2,20a	2,22a	1,99a	2,29a	13,9
Criptas / vilosidade	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	CV%
Duodeno	2,30a	2,80a	2,28a	2,70a	12,75
Jejuno	1,69a	2,04a	1,83a	2,13a	22,07
Íleo	1,60ab	1,50b	1,91ab	2,10a	12,69
Altura da musculatura (μm)	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	CV%
Duodeno	74,22b	105,60a	90,40ab	91,84ab	18,97
Jejuno	76,14a	82,38a	82,07a	94,46a	25,78
Íleo	71,68a	83,06a	90,93a	73,02a	16,29

* $P < 0,01$; Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Considerando os dados da tabela, nota – se que os tratamentos Bacitracina e *M. alternifolia* obtiveram resultados semelhantes para a área de vilosidades, mostrando a equivalência na resposta dos dois tratamentos para esta porção do intestino duodeno. Uma maior área de vilosidades é positivo para a absorção de nutrientes. O coeficiente de variação foi de 43,57% revelando o alto índice de heterogeneidade dos dados em relação a média entre os tratamentos testados para a porção do duodeno, isso revela os diferentes efeitos com que cada antimicrobiano, natural ou não, pode ocasionar, aumentando a variabilidade da resposta morfológica intestinal. As porções do jejuno e íleo não obtiveram diferenças estatísticas frente

aos diferentes tratamentos testados, e apresentaram dados mais homogêneos (31%) em relação ao duodeno.

De acordo com Rezaei et al (2018), aves que desenvolvem maior área de superfície de vilosidades intestinais têm maior absorção de nutrientes, justamente porque há menor proliferação de células da cripta. Os resultados do presente estudo corroboram para a ratificação destes dados, pois quando do uso da bacitracina e do OLES de *M. alternifolia*, houve aumento da área de superfície de vilosidades intestinais no duodeno, contudo não foi suficiente para gerar redução no número de células da cripta por vilosidade.

Em relação a altura de vilosidades, mais uma vez houve equivalência estatística dos resultados entre os tratamentos bacitracina e *M. alternifolia* para o segmento do duodeno além disso, os mesmos apresentaram maiores profundidades de cripta. No jejuno a profundidade de cripta dos tratamentos com os dois OLES foram os que se revelaram melhores estatisticamente. Os coeficientes de variação revelam que os dados estavam homogêneos entre os tratamentos ficando abaixo de 23% de variação.

Pelicano et al (2005), ao estudarem a suplementação de dois probióticos sobre a morfologia intestinal, observaram que tanto os probióticos como os prebióticos apresentaram maior altura de vilo nos três segmentos e maior comprimento de cripta no duodeno e no jejuno, em relação ao controle. Bueno et al (2012) avaliaram a influência da suplementação de probiótico (*Bacillus subtilis*, *Aspergillus oryzae* e *Saccharomyces cerevisiae*) sobre a morfologia intestinal de codornas, constataram que os probióticos causaram redução na profundidade de cripta, mas não afetaram a altura de vilos e a relação vilo/cripta.

Dunsford et al. (1989) relataram que várias mudanças podem ocorrer no intestino delgado, com referência especial à redução da altura das vilosidades e aumento na profundidade das criptas e proliferação celular, quando do uso de antimicrobianos, sejam eles de origem natural ou química. Há uma quantidade considerável de dados de pesquisa publicados na literatura sobre o uso de compostos naturais derivados de plantas a fim de melhorar o desempenho e condições de saúde de aves (CASTILLO-LÓPEZ et al., 2017; SHAH et al., 2014). Contudo, uma das preocupações práticas importantes em aplicar compostos derivados de plantas com sucesso são os efeitos colaterais devido à extensa variação (KÜREKCI et al, 2020). No entanto, os OLES administrados por via oral não exerceram efeitos tóxicos para influenciar a saúde do animal nas doses utilizadas no estudo atual. Além disso, a eficácia dos compostos fitogênicos ainda é conflitante e irregular.

A utilização de *M. alternifolia* e de Bacitracina de zinco na dieta proporcionaram aumentos similares na área e na altura das vilosidades intestinais, no duodeno, resultando em maior superfície de absorção no intestino delgado. Cardoso et al. (2012), estudando o uso de óleo de pimenta-preta (*Piper nigrum*) na dieta de frangos de corte observaram aumentos das vilosidades do duodeno e do íleo (altura x largura), ou seja, aumento da superfície de absorção no intestinal. Valladão et al. (2017) analisando a morfologia intestinal de peixes (*Oreochromis niloticus*) alimentados com óleo essencial de *M. alternifolia* constatou que houve uma maior altura de vilosidades em comparação com todos os outros grupos, apresentando maior superfície intestinal, resultando em melhor absorção e aproveitamento dos nutrientes.

Em relação a profundidade da cripta a porção do duodeno exibiu resultados equivalentes entre *M. alternifolia* e da bacitracina, superiores ao controle. Khodambash Emami et al. (2012), analisaram o efeito de *M. piperita* (200 mg/kg), como alternativa à virginiamicina, em frangos de corte e averiguaram que, no duodeno, a *M. piperita* proporcionou resultados análogos aos do antibiótico para a profundidade da cripta.

Os resultados do presente estudo corroboram com estes resultados, entretanto a concentração de óleo essencial de *M. piperita* utilizada no presente estudo foi de 12,5 mg/kg. Estes resultados possivelmente são justificados porque maiores valores de profundidade de cripta indicam maior atividade de proliferação celular, garantindo adequada taxa de renovação do epitélio (LOPES et al., 2011). Assim, o aumento na profundidade da cripta pode sugerir uma rápida taxa de renovação dos vilos, proporcionando no aumento da relação altura de vilosidade / profundidade de cripta.

Uma alta relação vilo/cripta pode estar relacionada a uma adequada diferenciação da mucosa do intestino impactando na melhor absorção e menor perda energética (ARRUDA, et al. 2008; JEURISSEN et al. 2002). Os resultados do presente estudo revelam que a relação vilo/cripta obtiveram significância no segmento do íleo, e corrobora com os resultados obtidos por Reis, et al. (2016), na qual avaliaram a morfometria intestinal por meio da inclusão de níveis de treonina digestível na dieta de codornas para corte em crescimento, e verificaram que a relação vilo/cripta, aos 42 dias, é maior no íleo.

A altura do epitélio intestinal em codornas de corte aos 42 dias não sofreu efeito ($P < 0,01$) dos tratamentos (OLES e da bacitracina de zinco) aplicados na dieta, da porção do intestino e da interação "tratamentos x porção do intestino". Entretanto a altura da musculatura intestinal sofreu efeito ($P < 0,01$) de forma que apenas o duodeno apresentou resultado. A musculatura do duodeno está fortemente correlacionada com a profundidade de cripta, além

de ser responsável pela movimentação, auxiliando a digestão e absorção, (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Segundo Paixão e Castro, (2016), o uso indiscriminado de antibióticos pode gerar resistência bacteriana, além de causar um desbalanço na microbiota intestinal. De forma alternativa, os OLES atuam na mucosa do epitélio intestinal auxiliando no controle e desenvolvimento da colonização de várias espécies de bactérias, sendo elas patogênicas e não patogênicas (WILLIAMS et al., 2008). Assim, a presença de determinados microrganismos no TGI, possivelmente, proporciona controle da composição do microbioma (BARBOSA et al., 2010) promovendo alterações positivas na histomorfometria intestinal, melhorando a capacidade de absorção de nutrientes.

O atual estudo mostra o efeito do uso de OLES sobre a morfologia do intestino delgado de codornas de corte. Mehri et al. (2015) e Kürekci et al. (2020) relatam que as alturas das vilosidades aumentaram, e as criptas se aprofundaram significativamente após a suplementação de *M. piperita* na dieta de codornas, o que não sucedeu neste estudo, para a mesma espécie de planta, esse fato ocorreu somente com os tratamentos com Bacitracina e *M. alternifolia*.

Saki et al (2017) notaram redução da altura das vilosidades e aumento da profundidade de cripta intestinal com presença de substâncias tóxicas na dieta. Tendo em vista isso, pode-se entender que nenhum antimicrobiano alternativo teve efeito deletério de toxicidade a ponto de interferir na redução da altura das vilosidades intestinais

CONCLUSÃO

O uso de OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* modificou o microbioma intestinal, causando redução na diversidade bacteriana patogênica e alterou a histomorfometria do intestino delgado das codornas de corte sob condições normais de alimentação.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMNEZHAD, H.Z.; GHALEHKANDI, J.G.; Growth performance and the intestine morphometry of Japanese quail that fed diets supplemented with vitamin e and selenium. **Iranian Journal of Veterinary Medicine**, v.12 (4): 323-334, 2018.

ALAGAWANY, M.; EL-SAADONY, M.T.; ELNESR, S.S.; FARAHAHAT, M.; ATTIA, G.; MADKOUR, M.; & REDA, F.M. Use of lemongrass essential oil as a feed additive in quail's

nutrition: its effect on growth, carcass, blood biochemistry, antioxidant and immunological indices, digestive enzymes and intestinal microbiota. **Poultry Science**, p. 101172, 2021.

ARAÚJO, D.G.S.; VASCONCELOS, L.P.F.; LIMA, A.K.B.S. Alteration of intestinal microbiota and associated pathologies: importance of the use of prebiotics and probiotics in their balance. **Temas em Saúde**, v. 19, n. 4, 2019.

ARRUDA, A.M.V.; FERNANDES, R.T.V.; SILVA, J.M.; LOPES, D.C. Avaliação morfohistológica da mucosa intestinal de coelhos alimentados com diferentes níveis e fontes de fibra. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 2, p. 1-11, 2008.

BAELE, M.; DEVRIESE, L.A.; HAESBROUCK, F. *Lactobacillus agilis* is an important component of the pigeon crop flora. **Journal of applied microbiology**, v. 91, n. 3, p. 488-491, 2001.

BALKWILL, D.L.; FREDRICKSON, J.K.; ROMINE, M.F. **Sphingomonas and related genera**. Pacific Northwest National Lab. (PNNL), Richland, WA (United States), 2003.

BAPTISTA, M.G.F.M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, 2013. 42f.

BARBOSA, F. et al. Microbiota indígena do trato gastrointestinal. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Aracaju, v. 10, n. 1, p. 78-93, 2010.

BEDANI, R; ROSSI, E.A. Microbiota Intestinal e probióticos: implicações sobre o câncer de cólon. **Jornal Português de Gastreenterologia**. v. 16, n. 1, p. 19-28, 2009.

BELLONI, M.; PAZ, I.C.L.A.; NÄÄS, I.A.A.; GARCIA, R.G.; BALDO, G.A.A.; CAVICHIOLO, F.; ALVES, M.C.F.; CALDARA, F.R. Morfometria intestinal de poedeiras suplementadas com própolis. **Revista Agrarian**, v.5 (16): 174-180, 2012.

BINDA, C.; LOPETUSOA, L.R.; RIZZATTIA, G.; GIBIINOVA, G.; CENNAMO, V.; GASBARRINIA, A. Actinobacteria: a relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. **Digestive and Liver Disease**, 50:421–428, 2018.

BORDA-MOLINA, D.; VITAL, M.; SOMMERFELD, V.; RODEHUTSCORD, M.; CAMARINHA-SILVA, A. Insights into Broilers' Gut Microbiota Fed with Phosphorus, Calcium, and Phytase Supplemented Diets. *Front. Microbiology*, 7, 2033, 2016.

BORDA-MOLINA, D. et al. Effects on the ileal microbiota of phosphorus and calcium utilization, bird performance, and gender in Japanese quail. *Animals*, v. 10, n. 5, p. 885, 2020.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, v.158, p.1-4, 2010.

BROWN, R.L.; LARKINSON, M.L.Y.; CLARKE, T.B. Immunological design of commensal communities to treat intestinal infection and inflammation. *PLoS pathogens*, v. 17, n. 1, p. e1009191, 2021

BUENO, R. et al. Efeito da influência de probiótico sobre a morfologia intestinal de codornas japonesas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 49, n. 2, p. 111-115, 2012.

CAPORASO, J.; LAUBER, C.; WALTERS, W.; BERG-LYONS, D.; LOZUPONE, C.; TURNBAUGH, P.J.; FIERERB, N.; KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v.108, p.4516 – 4522, 2011.

CARDOSO, V.S. et al. Piperine as a phytochemical additive in broiler diets. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 47, n. 4, p. 489-496, 2012.

CARDOSO, D.S.C. **Microbiota, probióticos e saúde**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina), Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016

CASTILLO-LÓPEZ, R.I., GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E.P., LEYVA-LÓPEZ, N., LÓPEZ-MARTÍNEZ, L.X.; HEREDIA, J. B. Natural alternatives to growth-promoting antibiotics (GPA) in animal production. *Journal of Animal and Plant Sciences*, v. 27, n. 2, p. 349-359, 2017.

CHANG, J. et al. Compound probiotics alleviating aflatoxin B1 and zearalenone toxic effects on broiler production performance and gut microbiota. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 194, p. 110420, 2020.

CHRISTOFF, A.P.; CRUZ, G.N.F.; SEREIA, A.F.R.; YAMANAKA, L.E.; SILVEIRA, P.P.; DE OLIVEIRA, L.F.V. End-to-end assessment of fecal bacteriome analysis: from sample processing to DNA sequencing and bioinformatics results. **BioRxiv**, 22, 2019.

CLAVIJO, V.; FLÓREZ, M.J.V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. **Poultry science**, 97(3), 1006-1021, 2018.

DA COSTA, A.L.P.; JUNIOR, A.C.S.S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

COSTA, A.N.; CAMPOS, S.V.; SALLES, R.K.; ATHANAZIO, R.A. Microbioma pulmonar: desafios de um novo paradigma. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.44(5): 424-432, 2018.

DAIRIKI, J.K., MAJOLO, C.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; OLIVEIRA, M.R.; MORAES, I.S. Procedimento para inclusão de óleos essenciais em rações para peixes. **Circular Técnica**, 42, Embrapa Amazônia Ocidental, Amazonas, 2013. 8 p.

DA SILVEIRA DEMINICIS, R.G.; MENEGHETTI, C.; DE OLIVEIRA, E.B.; JÚNIOR, A.A.P.G.; FARIAS FILHO, R.V.; & DEMINICIS, B.B. Systematic review of the use of phytobiotics in broiler nutrition. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 20(1), 098-106, 2021.

DE SOUZA, A.Z.Z.; ZAMBOM, A.Z.; ABBOUD, K.Y.; REIS, S.K.; TANNIHÃO, F.; GUADAGNINI, D.; & PRADA, P.O. Oral supplementation with L-glutamine alters gut microbiota of obese and overweight adults: A pilot study. **Nutrition**, 31(6), 884-889, 2015.

DOLKA, B.; CHROBAK-CHMIEL, D.; CZOPOWICZ, M.; SZELESZCZUK, P. Characterization of pathogenic *Enterococcus cecorum* from different poultry groups: Broiler chickens, layers, turkeys, and waterfowl. **PLoS One**, 12(9), e0185199, 2017.

DU, X. et al. Microbial community and short-chain fatty acid mapping in the intestinal tract of quail. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 1006, 2020.

DUNSFORD, B.R.; KNABE, D.A.; HAENSLY, W.E. Effect of dietary soybean meal on the microscopic anatomy of the small intestine in the early-weaned pig. **Journal of Animal Science**, 67, 1855–1863, 1989.

GEORGALAKI, M.D. et al. Propriedades bioquímicas de cepas de *Streptococcus macedonicus* isoladas de queijo grego Kasserli. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 5, pág. 817-825, 2000.

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

HAIAGHAPOUR, M.; REZAEIPOUR, V. Comparison of two herbal essential oils, probiotic, and mannan-oligosaccharides on egg production, hatchability, serum metabolites, intestinal morphology, and microbiota activity of quail breeders. **Livestock Science**, v.210, p. 93-98, 2018.

HALL, H. N.; WILKINSON, D. J.; LE BON, M. Oregano essential oil improves piglet health and performance through maternal feeding and is associated with changes in the gut microbiota. **Animal Microbiome**, v. 3(1), p. 1-17, 2021.

JANSSENS, Y.; NIELAND, T.J.; BRONSELAER, A.; DEBUNNE, N.; VERBEKE, F.; WYNENDAELE, E. et al. Disbiome database: linking the microbiome to disease. **BMC Microbiology**, 18(1):50, 2018.

JEURISSEN, S.H.M.; LEWIS, F.; KLIS, J.D.V.; MROZ, Z.; REBEL, J.M.J, HUURNE, A. A.H.M. Parameters and Techniques to Determine Intestinal Health of Poultry as Constituted by Immunity, Integrity and Functionality. **Current Issues of Intestinal Microbiology**, v.3, p. 1-14, 2002.

JUNG, A.; CHEN, L.R.; SUYEMOTO, M.M.; BARNES, H.J.; BORST, L.B. A review of *Enterococcus cecorum* infection in poultry. **Avian diseases**, 62(3), 261-271, 2018.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica-texto e atlas**. 11a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008.

KAJIKAWA, A.; SUZUKI, S.; IGIMI, S. The impact of motility on the localization of *Lactobacillus agilis* in the murine gastrointestinal tract. **BMC Microbiology**, v. 18, n. 1, p. 1-7, 2018.

KHODAMBASHI EMAMI, N., SAMIE, A., RAHMANI, H.R.; RUIZ-FERIA, C.A. The effect of peppermint essential oil and fructooligosaccharides, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, digestibility, gut morphology and immune response of male broilers. **Animal Feed Science and Technology**, 175 (1-2), 57–64. 2012.

KLASSA, B.; GROSSELI, M.M.; KIYOMURA, A.K.; ALVES, M.J.Q.F. Avaliação do efeito do alho (*Allium sativum* L.) sobre o colesterol plasmático em coelhos com hipercolesterolemia induzida. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15(4): 557-565, 2013.

SCHAUS KOCH, L.F. Importancia y funcionalidad de probióticos en la producción de pollos de engorde. **Trabajo de investigación**, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 26 p. 2020.

KOYAMA, N.T.G.; ROSA, A.P.; PADILHA, M.T.S.; BOEMO, L.S.; SCHER, A.; MELO, A.M. S.; FERNANDES, M.O. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49 (3): 225-231, 2014.

KÜREKCI, C. et al. Effect of essential oil supplementation to diet on meat quality, fatty acid composition, performance parameters and intestinal microbiota of Japanese quails. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 2020.

KUREKCI, C., AL JASSIM, R., HASSAN, E., BISHOP-HURLEY, S.L., PADMANABHA, J.; MCSWEENEY, C.S. Effects of feeding plant-derived agents on the colonization of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. **Poultry Science**, 93, 2337–2346, 2014.

LEMOS, M.J.; CALIXTO, L.F.L.; TORRES-CORDIDO, K.A.A.; REIS, T.L. Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.83 1-7, 2016.

LOPES, C.C; RABELLO, C.B; SILVA, V.A.; et al. Desempenho, digestibilidade, composição corporal e morfologia intestinal de pintos de corte recebendo dietas contendo levedura de cana-de-açúcar. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.33, p.33- 40, 2011.

LOUREIRO, R.J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A.T.; HERDEIRO, M.T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. v.34, nº.1, p.77-84, 2016.

MACARI, M. et al. **Microbiota intestinal de aves**. In: Facta (ed.) Produção de frangos de corte. Campinas. 2014.

MACEDO, L.N., LUCHESE, R.H., GUERRA, A.F.; BARBOSA, C.G. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. em leite. **Food Science and Technology**, 28(4), 935-942, 2008.

MAHENDRAN, G.; RAHMAN, L.U. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha piperita* L.) - A review. **Phytotherapy Research**, v. 34(9), p. 2088-2139, 2020.

MEHRI, M., SABAGHI, V., BAGHERZADEH-KASMANI, F. *Mentha piperita* (peppermint) in growing Japanese quails' diet: Serum biochemistry, meat quality, humoral immunity. **Animal Feed Science and Technology**, 206, 57–66, 2015.

NEPOMOCENO, T. A. R.; PIETROBON, A. J. *Melaleuca alternifolia*: uma revisão sistemática da literatura brasileira. **Revista uningá review**, v. 35, p. eRUR3409-eRUR3409, 2020.

OLUWAFEMI, R.A.; OLAWALE, I.; ALAGBE, J.O. Recent trends in the utilization of medicinal plants as growth promoters in poultry nutrition-A review. **Research in: Agricultural and Veterinary Sciences**, v. 4(1), p. 5-11, 2020.

PAIXÃO, L. A.; CASTRO, F. F. S. Colonization of the intestinal microbiota and its influence on health host. **Universitas: Ciências da Saúde**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 85-96, 2016.

PARKS, D.H., TYSON, G.W., HUGENHOLTZ, P., BEIKO, R.G. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. **Bioinformatics**, 30(21), 3123-3124, 2014.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; FIGUEIREDO, D.F.; BOIAGO, M.M.; CARVALHO, S.R.; BORDON, V.F. Intestinal mucosa development in broiler chickens feeds natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 7, n. 4, p. 221-229, 2005.

PILARSKI, F.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. Isolamento e resistência a antimicrobianos de cepas de *Streptococcus* spp. provenientes de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 5, p. 1275-1279, 2010.

PIZZIOLO, V. R.; BRASILEIRO, B. G.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J. Plantas com possível atividade hipolipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13(1): 98-109, 2011.

PRAJAPATI, D.R.; PATEL, V.R.; RAVAL, A.P.; PARMAR, A.B.; LONDHE, A.; & PATEL, S.S. Essential Oils: Alternative to Improve Production, Health and Immunity in Poultry. **Journal of Tropical Animal Research**, 1(3), 26-32, 2021.

PUVAČA, N.; ČABARKAPA, I.; PETROVIĆ, A.; BURSIĆ, V.; PRODANOVIĆ, R.; SOLEŠA, D.; & LEVIĆ, J. Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and its essential oil: antimicrobial, antioxidant and acaricidal effects in poultry production. **World's Poultry Science Journal**, 75(2), 235-246, 2019.

REDA, F. M. et al. Use of red pepper oil in quail diets and its effect on performance, carcass measurements, intestinal microbiota, antioxidant indices, immunity and blood constituents. **Animal**, v.14, n.5, p. 1025-1033, 2020.

REIS, J.S.; DIONELLO, N.J.L.; NUNES, A.P.; LOPES, D.C.N.; GOTUZZO, A.G.; TYSKA, D.U.; RUTZ, F. Morfometria intestinal em codornas de corte alimentadas com treonina digestível. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68 (4): 983-990, 2016.

REZAEI, M.; KARIMI TORSHIZI, M.A., WALL, H., IVARSSON, E. Body growth, intestinal morphology and microflora of quail on diets supplemented with micronised wheat fibre. **British poultry science**, v.59, n.4, p. 422-429, 2018.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; ABREU, M.L.T.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4a Ed, 2017.

SAKI, A.A.; SAHEBI ALA, F.; ZAMANI, P.; ALIPOUR, D.; ABBASINEZHAD, M. Japanese quail performance, intestinal microflora, and molecular responses to screened wheat and multienzyme diet. Turkish. **Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 41, 30–37, 2017.

SANDIKCI, M., EREN, U., ONOL, A., KUM, S. The effect of heat stress and the use of *Saccharomyces cerevisiae* or (and) bacitracin zinc against heat stress on the intestinal mucosa in quails. **Revue De Médecine Vétérinaire**, 155, 552–556, 2004.

SAS user's guide: statistics. Cary, NC: SAS Institut, 2008.

SCHNEIDER, T.; GRIES, K.; JOSTEN, M.; WIEDEMANN, I.; PELZER, S.; LABISCHINSKI, H.; SAHL, H.G. The Lipopeptide Antibiotic Friulimicin B Inhibits Cell Wall Biosynthesis through Complex Formation with Bactoprenol Phosphate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 4, p.1610-1618, 2009.

SHAH, M.A.; BOSCO, S.J.D.; MIR, S.A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, 98, 21–33, 2014.

SHAOXIAN, D.; YIFANG, Z.; JIE, Y.; SHAOGANG, D.; JINLING, Z.; YUNJUAN, Z.; NANA, Z.; JUN, C. **Lactobacillus agilis and its application**. Qujing Qiancun Agriculture and Animal Husbandry Technology Co., Ltd. CN105950496A, p.12, 2016.

SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P. **Tabela para codornas japonesas e europeias**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP. 110p. 2009.

SULTAN, A., ULLAH, I., KHAN, S., KHAN, R. U., UL HASSAN, Z. Impact of chlorine dioxide as water acidifying agent on the performance, ileal microflora and intestinal histology in quails. **Archives Animal Breeding**, 57, 1–9, 2014.

THOMAS. D, W. GREER. F.R: Probiotics and prebiotics in pediatrics. **Pediatrics**, v. 126, p. 1217-1231, 2010.

VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PALA, G.; JESUS, R.B.; KOTZENT, S.; COSTA, J.C.; SILVA, T.F.A.; PILARSKI, F. Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. **Aquaculture Research**. P.1–10, 2017.

VINCENT, S.J.F.; FABER, E.J.; NEESER, J.R.; STINGELE, F.; KAMERLING, J.P. Structure and properties of the exopolysaccharide produced by *Streptococcus macedonicus*. **Glycobiology**, 11(2), 131-139. 2001.

WIERSEMA, M.L. et al. Comparison of intestinal permeability, morphology, and ileal microbial communities of commercial hens housed in conventional cages and cage-free housing systems. **Poultry Science**, 2020.

WILKINSON, N.; HUGHES, R.J.; ASPDEN, W.J.; CHAPMAN, J.; MOORE, R.J.; STANLEY, D. The gastrointestinal tract microbiota of the Japanese quail, *Coturnix japonica*. **Applied microbiology and biotechnology**, v.100 (9): 4201-4209. 2016.

WILLIAMS, J.; MALLET, S.; LECONTE, M.; LESSIRE, M.; GABRIEL, I. The effects of fructo-oligosaccharides or whole wheat on the performance and digestive tract of broiler chickens. **British Poultry Science**, 49, 329–339, 2008.

XIA, Y.; KONG, J.; ZHANG, G.; ZHANG, X.; SEVIOUR, R.; & KONG, Y. Effects of dietary inulin supplementation on the composition and dynamics of cecal microbiota and growth-related parameters in broiler chickens. **Poultry science**, 98(12), 6942-6953, 2019.

ZHANG, Y.J. et al. Impacts of Gut Bacteria on Human Health and Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**. v.16, n.4, p.7493–7519. Hong Kong, 2015.

7. CAPÍTULO V

DESEMPENHO, QUALIDADE DA CARNE E LIPIDEMIA DE CODORNAS DE CORTE ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS

DESEMPENHO, QUALIDADE DA CARNE E LIPIDEMIA DE CODORNAS DE CORTE ALIMENTADAS COM RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS

RESUMO

O uso de antibióticos tem causado grande emergência com a possível transmissão e proliferação, ao longo da cadeia alimentar, de bactérias resistentes. A busca por antimicrobianos melhoradores de desempenho naturais vem se intensificando. Os óleos essenciais extraídos das plantas, possuem potencial antibiótico e tem sido uma importante alternativa utilizada na produção animal. Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do uso dos OLES de *Mentha piperita* e *M. alternifolia* sobre desempenho, rendimento de carcaça, peso relativo dos órgãos, qualidade da carne e lipidemia de codornas de corte. Para o estudo do desempenho foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos com 8 repetições, sendo 7 aves por repetição. Para o estudo da lipidemia utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial: 4x2, sendo quatro tratamentos (Controle, Bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia*) e duas condições de coleta (com jejum e sem jejum), com oito repetições, sendo uma ave por repetição. O uso de aditivos fitogênicos à base de OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* na dieta de codornas de corte, pode proporcionar desempenhos zootécnicos, rendimentos de carcaça quente e resfriada, pesos relativos dos órgãos, bem como características de qualidade da carne comparáveis ao uso de antibióticos promotores de crescimento. A adição de Bacitracina de zinco e de *M. piperita* e *M. alternifolia* na ração das codornas não alteraram o nível sérico de colesterol total, triglicerídeos e o peso das aves. A redução no nível de colesterol HDL foi notada nas aves tratadas com Bacitracina de zinco e com os OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*, em 8,12; 16,52 e 3,36% respectivamente. O uso da Bacitracina de zinco, da *M. piperita* e da *M. alternifolia* associado às diferentes condições de coleta não aumentaram os valores séricos de LDL, VLDL. Os coeficientes de variação aferidos na condição “após 12 horas de jejum” apresentaram-se 86% inferiores à condição “sem jejum”.

Palavras-chave: Consumo de ração, ganho de peso, colesterol.

PERFORMANCE, MEAT QUALITY AND LIPIDEMIA OF MEAT QUAILS FED WITH DIETS WITH DIFFERENT ESSENTIAL OILS

ABSTRACT

The use of antibiotics has caused a great emergency with the possible transmission and proliferation, along the food chain, of resistant bacteria. The search for natural performance-enhancing antimicrobials is intensifying. Essential oils extracted from plants have antibiotic potential and have been an important alternative used in animal production. The objective of this study was to evaluate the effect of using the essential oils (ESOL) of *M. piperita* and *M. alternifolia* on performance, carcass yield, relative weight of the organs, meat quality and lipidemia of meat quails. For the performance study, a completely randomized design was used, with 4 treatments with 8 repetitions, 7 birds per repetition. For the study of lipidemia, a completely randomized design was used in a factorial scheme: 4x2, with four treatments (Control, Zinc Bacitracin, *M. piperita* and *M. alternifolia*) and two collection conditions (with fasting and without fasting), with eight repetitions, one animal per repetition. Or the use of phyto-genic additives based on essential oils of *M. piperita* and *M. alternifolia* in the diet of meat quails, can provide zootechnical performances, especially of hot and cooled carcasses, relative weights of the organs, as well as meat quality characteristics the use of growth-promoting antibiotics. The addition of Bacitracin zinc, *M. piperita* and *M. alternifolia* in the quail diet did not alter the serum level of total cholesterol, triglycerides and the weight of the birds. The reduction in the level of HDL cholesterol was noticed in the birds treated with zinc Bacitracin and with the essentials of *M. piperita* and *M. alternifolia*, at 8.12; 16.52 and 3.36% respectively. Or use Bacitracin zinc, *M. piperita* and *M. alternifolia* associated with different collection conditions do not increase the serum values of LDL, VLDL. The coefficients of variation measured in the condition "after 12 hours of fasting" dissipate 86% lower than the condition "without fasting".

Keywords: Feed consumption, weight gain, cholesterol.

INTRODUÇÃO

No Brasil, durante décadas a carne de codornas era proveniente de aves de postura em final de produção destinadas ao abate. Com a introdução das linhagens específicas para corte, como a codorna europeia (*Coturnix coturnix coturnix*), iniciou-se a produção de carcaças maiores e com carnes mais macias, sem a perda de seu diferenciado sabor (REZENDE et al. 2004; MERSEGUEL et al. 2019).

Entre os fatores que incidem sobre o custo de produção das codornas, a alimentação pode representar mais de 70% do custo total. Dessa forma, existe grande preocupação em oferecer rações com níveis nutricionais mais adequados às aves, que propiciem melhor desempenho e, conseqüentemente, maior retorno econômico (TEIXEIRA et al. 2013). Justamente por isso, os antibióticos tiveram importante papel no desenvolvimento da avicultura, tendo possibilitado aumentos significativos de produtividade pela sua ação sobre a biota intestinal das aves (LEE et al. 2004).

Assim, o uso constante de antibióticos têm sido motivo de crescente preocupação, com a possível transmissão e proliferação, ao longo da cadeia alimentar, de bactérias resistentes. Em decorrência disso, vários países aboliram o emprego de antibióticos como melhoradores de desempenho na alimentação de animais (BRENES e ROURA, 2010; KOIYAMA et al. 2014, PINHEIRO et al. 2015).

Dessa forma, a busca por alternativas vem se intensificando, e os produtos extraídos de plantas com potencial de uso para esse fim têm representado importante fonte alternativa, considerando a grande quantidade de moléculas com potencial medicinal, seja para uso na produção animal ou na medicina humana, podendo contribuir efetivamente na busca de novos produtos bioativos (PERIĆ et al. 2009).

Deste modo, além da possibilidade de substituição parcial e/ou mesmo integral do uso de antibióticos por produtos vegetais, visando manutenção ou mesmo melhoria no rendimento produtivo, o uso destes produtos fitogênicos pode também dispor de agentes ativos que promovam alterações positivas no perfil lipídico dos animais o que tem levado a pesquisa de produtos naturais que tenham efeito na redução do colesterol e lipídeos plasmáticos (HARGIS, 1988; PIZZILO et al. 2011; KLASSA et al. 2013).

Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do uso dos OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* sobre desempenho, peso relativo dos órgãos, rendimento de carcaça, qualidade da carne e lipidemia de codornas de corte sob condições normais de alimentação.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos do presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, Ilhéus, BA, Brasil sob o protocolo nº 016/18.

2. Aves e Local

Um total de 224 codornas de corte de um dia de idade foram adquiridas de um incubatório comercial. Para o estudo das variáveis de desempenho, as codornas foram distribuídas aleatoriamente, com 4 tratamentos dietéticos (controle, bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia*), com 8 repetições, sendo 7 aves por repetição. Para o estudo da lipídemia foi utilizado o delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial: 4x2, sendo 4 tratamentos, com 8 repetições, sendo uma ave por repetição. Água e dietas experimentais foram fornecidas *ad libitum*. O programa de iluminação consistia em 23 horas de luz e 1 hora de escuridão. As médias de temperatura (°C) e umidade relativas do ar (% UR) médias (mínimas e máximas), registradas no interior do galpão no decorrer do período experimental, foram de 23,8 e 31,5°C e 42,3 e 75,62% respectivamente.

2.2. Dietas Experimentais

As aves foram alimentadas com as rações experimentais. Os tratamentos consistiram em duas fases, sendo a primeira fase, (Inicial), de 1 a 21 dias de idade, e a segunda, (Crescimento), de 22 a 42 dias de idade. As dietas experimentais foram formuladas para atender ou exceder as necessidades nutricionais de codornas corte, conforme indicado por Silva e Costa (2009). Os ingredientes, composição química e as energias das dietas para codornas são apresentadas na Tabela 1.

Os OLES, foram adicionados de forma homogênea na ração adaptado de Dairiki, et al. (2013), onde o grupo controle recebeu ração padrão para codornas, para os tratamentos do grupo experimental, para cada quilograma de ração, foi adicionado uma mistura de óleo de soja e óleo essencial. De acordo com da Silveira Deminicis, et al. (2021), não existe dados padronizados de dosagens de OLES fornecidas as aves de produção, de tal modo, foram utilizadas dosagens correspondentes a concentração bactericida mínima (CBM) *in vitro* dos óleos essenciais, *M. piperita* (12,5 mg/kg de ração) e *M. alternifolia* (50 mg/kg de ração), as quais

foram determinadas por meio de teste de microdiluição em um estudo prévio realizado pela nossa equipe (dados não publicados).

Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais*

Ingredientes (%)	Inicial (1 a 21 dias)				Crescimento (22 a 42 dias)			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Milho	52,85	52,82	52,85	52,85	59,99	59,97	59,97	59,97
Farelo de Soja	42	42	42	42	35,4	35,39	35,39	35,39
MHL - Metionina (84%)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,45	0,45	0,45	0,45
Sulfato de Lisina (55%)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
L- Treonina (98%)	0,25	0,25	0,25	0,25	0	0	0	0
Calcário calcítico	1,02	1,02	1,02	1,02	0,96	0,96	0,96	0,96
Fosfato Bicálcico	1,32	1,32	1,32	1,32	0,87	0,87	0,87	0,87
Sal Comum	0,4	0,4	0,4	0,4	0,33	0,33	0,33	0,33
Premix**	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Óleo de soja	1,16	1,16	1,06	1,05	1,5	1,5	1,38	1,36
Óleo de <i>M. piperita</i>	-	-	0,096	-	-	-	0,125	-
Óleo de <i>M. alternifolia</i>	-	-	-	0,113	-	-	-	0,147
Bacitracina de Zinco	-	0,03	-	-	-	0,03	-	-
Composição calculada	Níveis nutricionais							
Energia metabolizável, kcal/kg	2900	2900	2900	2900	3025	3025	3025	3025
Proteína bruta, %	23,72	23,72	23,72	23,72	21,34	21,34	21,34	21,34
Fibra bruta, %	2,82	2,82	2,82	2,82	2,61	2,61	2,61	2,61
Cálcio, %	0,92	0,92	0,92	0,92	0,76	0,76	0,76	0,76
Fósforo disponível, %	0,42	0,42	0,42	0,42	0,33	0,33	0,33	0,33
Lisina dig., %	1,51	1,51	1,51	1,51	1,34	1,34	1,34	1,34
Metionina dig., %	0,77	0,77	0,77	0,77	0,7	0,7	0,7	0,7
Metionina + cistina dig., %	0,73	0,73	0,73	0,73	0,68	0,68	0,68	0,68
Treonina dig., %	1,17	1,17	1,17	1,17	0,84	0,83	0,83	0,83
Valina dig., %	1,15	1,15	1,15	1,15	1,03	1,03	1,03	1,03
Sódio, %	0,17	0,17	0,17	0,17	0,14	0,14	0,14	0,14
Ácido linoleico, %	1,22	1,22	1,22	1,22	1,3	1,3	1,3	1,3

*T1: Dieta basal (grupo controle negativo); T2: Dieta basal e Bacitracina de Zinco 15%; T3: Dieta basal e óleo essencial de *Mentha piperita* e T4: Dieta basal e óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*. **Níveis de garantia por kg de ração para a fase inicial: Vitamina A 9996 U.I.; Vitamina D3 1248 U.I.; Vitamina E 20,16 U.I.; Vitamina K3 3 mg; Vitamina B1 3 mg; Vitamina B2 6 mg; Vitamina B6 4 mg; Vitamina B12 0,01008 mg; Niacina 40000mg; Ácido Pantotênico 30 mg; Colina 260 g; Ácido Fólico 0,48 mg; Metionina 1580 mg; Cobre 7,99 mg; Ferro 499 mg; Manganês 0,07 mg; Zinco 49,99 mg; Iodo 1,20 mg; Selênio 0,19 mg; Salinomicina 550 mg. Níveis de garantia por kg de ração para a fase final: Vitamina A 12000 U.I.; Vitamina D3 3600 U.I.; Vitamina E 180 U.I./kg; Vitamina K3 3,00 mg; Vitamina B1 3,60 mg; Vitamina B2 9,00 mg; Vitamina B6 6,00 mg; Vitamina B12 0,021 mg; Niacina 600 mg; Ácido Pantotênico 22,50 mg; Ácido Fólico 0,150 mg; Colina 510 mg; Ferro 7500 mg; Manganês 105 mg; Zinco 75 mg; Cobre 15 mg; Iodo 1,80 mg; Selênio 0,30 mg.

2.3 Desempenho e medições de carcaça

As variáveis de desempenho ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) foram analisadas em três períodos: inicial (1 aos 21 dias de idade), crescimento-terminação (22 aos 42 dias de idade) e total (1 aos 42 dias de idade), sendo pesadas aos 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 42 dias de idade. O índice de eficiência produtiva (IEP) foi realizado com dos dados do intervalo de 1 a 42 dias, calculado, conforme Koiyama et al. (2014), pela fórmula $IEP = \text{ganho de peso médio diário} \times (100 - \text{mortalidade}) / 10 \times \text{conversão alimentar}$. A ração fornecida e as sobras foram pesadas para o cálculo de consumo e conversão alimentar.

A avaliação do rendimento de carcaça quente foi realizada no 42º dia de idade utilizando-se duas aves por repetição, a avaliação do rendimento de carcaça resfriada foi realizada após 24 horas à 2 °C, conforme Pinheiro et al. (2015). Foram separadas duas aves por repetição (oito repetições), sendo a média das duas aves considerada como a unidade experimental, totalizando 64 aves. As codornas foram submetidas a jejum de doze horas, e na sequência foram pesadas, identificadas e submetidas ao abate de acordo com as seguintes etapas: insensibilização, sangria, escalda, depena, evisceração e resfriamento das carcaças. Foram pesadas as carcaças evisceradas quentes, desprovidas de cabeça e pés. Por meio do peso vivo de cada ave foi avaliado o rendimento de carcaça eviscerada quente e fria (após resfriamento à 2°C por 24 horas) e peso relativos de vísceras comestíveis (coração, fígado, moela). Os rendimentos de carcaça quente e resfriada foram realizados pelo peso da carcaça multiplicado por 100, dividido pelo peso vivo da ave. O peso relativo do baço, do coração e do fígado foi calculado com base no peso da carcaça quente.

As variáveis de qualidade analisadas foram: potencial hidrogeniônico (pH), capacidade de retenção de água (CRA%), perda de peso por cozimento (PPC%), cor e luminosidade (L^* , a^* , b^*). Para determinação do pH (média de três leituras), utilizou-se um eletrodo de penetração (Hanna Instruments), diretamente no músculo *Pectoralis major*.

A medida da capacidade de retenção de água foi realizada utilizando a metodologia citada por Ramos e Gomide (2007). A determinação foi baseada na medição da água liberada, quando aplicada uma pressão sobre o tecido muscular. Para isso, cubos de carne de 0,5 grama foram dispostos entre dois papéis de filtro (12,5cm de diâmetro) e estes entre duas placas de vidro (12x12x1cm), sobre o qual foi aplicado o peso de 10kg 5min^{-1} (10cm de diâmetro). As amostras de carne de peito, após a pressão, foram pesadas e, por diferença, calculou-se a quantidade de água perdida. O resultado foi expresso em porcentagem de água exsudada em relação ao peso inicial.

Para as análises de perda de peso por cozimento ou cocção, amostras de filés íntegros foram embaladas em papel metalizado, sendo cozidas em uma chapa metálica de dupla face, com aquecimento em ambas as faces, pré-aquecida e regulada para 150°C, permanecendo por quatro minutos para cada lado do filé, num total de oito minutos de cozimento ou até atingir uma temperatura interna de 82 a 85°C. Após o cozimento, os filés foram retirados do papel metalizado e resfriados sobre papel absorvente à temperatura ambiente. Posteriormente, as amostras foram pesadas para averiguação da perda de peso antes e após cozimento. A diferença entre o peso inicial (peito *in natura*) e final (peito cozido) correspondeu à perda de peso por cozimento.

A cor dos peitos foi determinada por uso de colorímetro (Minolta CR400), no sistema CIELAB, sendo avaliados os parâmetros L* (luminosidade), a* (teor de vermelho) e b* (teor de amarelo). Os valores L*, a* e b* foram medidos em três diferentes pontos na superfície ventral e no meio da seção cranial do músculo *Pectoralis major*.

2.4 Perfil lipídico das aves

Para avaliar os efeitos dos OLES de *M. piperita* e de *M. alternifolia* no metabolismo lipídico, no 42º dia experimental, 32 aves (8 por tratamentos) foram submetidas a jejum alimentar de 12h e outras 32 aves (8 por tratamentos) não foram submetidas a jejum alimentar de 12h e, em seguida, foi colhido, conforme Silva et al. (2012). O material foi colhido em tubos devidamente identificados, com anticoagulante heparina 0,05 mL / mL de sangue. Após, as amostras foram centrifugadas a 4000 x g, durante 15 minutos, para obtenção do soro. Posteriormente, separaram-se as alíquotas necessárias às dosagens das concentrações plasmáticas do triglicerídeos (TG), colesterol total (CT), colesterol HDL, colesterol VLDL, colesterol LDL e peso das aves. As absorbâncias delas foram analisadas em triplicata, por reação enzimática de ponto final com reação colorimétrica (kits comerciais Bioclin SA, Belo Horizonte, MG, Brasil) em espectrofotômetro de luz ultravioleta visível.

2.5 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados, para efeito dos tratamentos, pelo procedimento da análise de variância com uso do programa SAS (SAS Institute, Cary, NC, EUA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desempenho das aves

No período de 1 a 21 dias, não houve efeito dos tratamentos (controle, bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia*) sobre o ganho de peso e no período de 22 a 42 dias, também não foi verificado efeito sobre o ganho de peso (GP) (Tabela 2) durante todo o período (1 a 42 dias) não houve alteração do ganho de peso, mesmo sendo animais submetidos a dieta com bacitracina e OLES.

Quando da substituição do antibiótico melhorador de desempenho (bacitracina) pelos OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*, os resultados foram equivalentes em relação ao ganho de peso, isso é fator positivo, devido as inúmeras características benéficas aos animais que são promovidas por esses substitutos naturais como melhora na digestibilidade e absorção de nutrientes, aumento das secreções digestivas, , modificação da microbiota intestinal, estimulação do sistema imune e atividades antibacterianas (COSTA, et. al., 2011).

Tabela 2. Ganho de peso médio diário (GPD) nas fases de criação (1 a 21; 22 a 42) e no período total de crescimento (1 a 42 dias) de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de *M. piperita* e de *M. alternifolia*.

Variável	Tratamentos				CV%
	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	
GPD 1 a 21 dias	6,38a	6,39a	6,39a	6,42a	3,77
GPD 22 a 42 dias	5,57a	5,57a	5,51a	5,59a	10,33
GPD 1 a 42 dias	5,97a	5,98a	5,95a	6,01a	5,09

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Foi demonstrado que frangos de corte alimentados com OLES de orégano, sálvia, alecrim, pimenta, canela e erva doce obtiveram peso final e ganho de peso similares àqueles observados em animais suplementados com antibióticos melhoradores de desempenho (Traesel, et al., 2011; Franco, 2019).

O grupo controle, o qual recebeu dieta basal, não apresentou diferença no ganho de peso das codornas de corte, possivelmente esse episódio pode ter ocorrido devido a estes animais terem consumido maior quantidade de ração, em relação aos demais, assim permitindo a manutenção dos parâmetros de ganho de peso, haja visto que, do ponto de vista econômico, essa ação não é rentável, devido ao maior custo com alimentação para manutenção dessas aves.

Contudo, o consumo total de ração (CR), entre 1 a 42 dias, foi menor nas aves alimentadas com bacitracina, *M. piperita* e *M. alternifolia*, em consequência da resposta do menor consumo de ração do período de crescimento-terminação (22 a 42 dias) (Tabela 3).

Tabela 3. Consumo total de ração (CR) nas fases de criação e no período total de crescimento (1 a 42 dias) de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de *M. piperita* e de *M. alternifolia*.

Variável	Tratamentos				CV%
	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	
CR 1 a 21 dias	226,29a	230,22a	227,72a	226,06a	2,88
CR 22 a 42 dias	544,86a	416,43b	426,25b	435,70b	9,85
CR 1 a 42 dias	771,15a	646,65b	653,97b	661,76b	6,92

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pode-se observar, que os valores de consumo de ração (CR) para o tratamento controle foram equivalentes na fase de 1 a 21 dias de idade das codornas, porém analisou-se o período de 22 a 42 dias e o período de 1 a 42 dias de idade, notou-se que as mesmas consumiram mais ração que os animais dos demais tratamentos.

Nesta fase de vida, os animais já tiveram seu TGI colonizado por microrganismos aeróbicos e anaeróbicos, onde as alterações fisiológicas podem ser relacionadas com o aumento do comprimento do intestino, bem como ao aumento da capacidade de digestão e absorção do intestino, ratificando que essas aves consumiram mais ração, e assim mantiveram o padrão de ganho de peso equivalente aos demais (Murarolli, 2008).

Em relação ao menor CR dos demais tratamentos, possivelmente, fatores como o desenvolvimento de papilas gustativas nas aves, ou mesmo, pela melhor absorção intestinal dos nutrientes podem ter contribuído para esse menor consumo.

Apesar das aves não possuírem muitas papilas gustativas, a adição de níveis elevados de OLES pode refletir em menor consumo de ração entre os tratamentos, o que pode ser decorrente do sabor amargo (Castejon, 2013) ou forte odor do óleo, que pode ser determinante para esta redução. Segundo Migotto (2020), a semelhança entre os tratamentos com relação ao consumo de ração, traz consequências positivas, devido ao uso dos OLES não afetar o consumo voluntário das aves.

Na fase de crescimento (1–21 dias), não foi verificado efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar (CA) das aves (Tabela 4).

Tabela 4. Conversão alimentar (CA) nas fases de criação e índice de eficiência produtiva (IEP) no período total de crescimento (1 a 42 dias) e de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de *M. piperita* e de *M. alternifolia*.

Variável	Tratamentos				CV%
	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	
CA 1 a 21 dias	1,69a	1,72a	1,70a	1,68a	3,29
CA 22 a 42 dias	4,72a	3,57b	3,68b	3,74b	11,73
CA 1 a 42 dias	3,08a	2,58b	2,61b	3,63b	5,83
IEP%	19,38b	23,25a	22,75a	22,75a	7,59

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Já na fase de crescimento-terminação (22 a 42 dias), foi verificado efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar, na qual destaca-se que o tratamento controle apresentou os maiores valores, sendo superiores aos demais tratamentos, ou seja, quanto maiores os valores de conversão alimentar pior será o resultado de eficiência produtiva. Considerando todo o período de crescimento (1 a 42 dias), também foi verificado efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar, sendo equivalentes dentre os tratamentos com bacitracina e OLES.

Jang et al. (2007) não verificaram diferença no consumo de ração, no ganho total e na conversão alimentar entre frangos alimentados com dieta basal ou suplementada com mistura comercial de OLES (Crina Poultry, ingrediente ativo timol) ou com antibiótico, aos 35 dias. A falta de desafio sanitário pode ter sido a causa para a ausência de diferença, naquele experimento.

3.2. Rendimento e qualidade de carcaça

Para as características de rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça resfriada (RCF) e peso relativo de órgãos (PRO), não foi observado efeito ($P < 0,05$) dos tratamentos (controle, bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia* (Tabela 5).

A não diferença nos valores de rendimento de carcaça, pode nos revelar que todos os tratamentos estavam homogêneos e que o grupo controle devido ao seu maior CR obteve respostas semelhantes de GP, sustentando seu desenvolvimento equivalente aos dos outros grupos. Possivelmente este fator contribuiu para a resposta em relação ao rendimento de carcaça.

Tabela 5. Rendimento de carcaça quente (RCQ), rendimento de carcaça resfriada (RCF) e peso relativo de órgãos de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de *M. piperita* e de *M. alternifolia*.

Variável	Tratamentos				CV%
	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	
RCQ	74,05a	73,75a	74,11a	74,34a	6,39
RCF	66,58a	69,54a	68,34a	65,89a	7,23
Coração	2,12a	2,12a	2,24a	2,27a	13,26
Fígado	4,31a	4,03a	3,94a	5,04a	34,97
Moela	4,61a	4,70a	4,87a	5,02a	13,05
Intestino e pâncreas	6,39a	5,85a	6,08a	7,17a	15,55

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Rizzo et al. (2010) estudando o fornecimento de misturas de extratos vegetais nas dietas de frangos de corte, verificaram que dietas contendo misturas de extratos vegetais promovem desempenho semelhante ao obtido com dietas contendo antibiótico. O que também pode ser observado neste estudo, onde o uso de OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*, se mostraram estatisticamente equivalentes aos resultados promovidos pelo antibiótico bacitracina.

Pinheiro et al. (2015) avaliando diferentes níveis de proteína bruta e a suplementação de aminoácidos essenciais sobre o rendimento de carcaça de codornas de corte dos 28 aos 42 dias de idade, observaram rendimento médio de carcaça quente de 74,6% e rendimento médio de carcaça fria de 72,13%, resultados semelhantes aos que foram encontrados neste estudo.

Abreu et al. (2014) medindo o efeito de duas idades de abate sobre o rendimento de carcaça e propriedades finais da carne de codornas de corte abatidas aos 42 dias, notaram rendimento médio de carcaça quente de 80,5% e rendimento médio de carcaça fria de 78,39%. As dietas fornecidas influenciaram ($P \leq 0,05$) os parâmetros de qualidade da carne de codornas de corte aos 42 dias de idade, como: luminosidade (L^*), faixa de cor do peito para o amarelo (b^*), perda de peso por cozimento (PPC) e capacidade de retenção de água (CRA), mas não influenciaram ($P > 0,05$) para pH e coloração vermelha (a^*) (Tabela 6).

O pH da carne de codornas alimentadas com as dietas (controle, bacitracina, *M. piperita* e *M. alternifolia*), apresentaram valores aceitáveis e adequados para o consumo, ou seja, a carne atingiu no momento das transformações bioquímicas o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares (5,6 a 5,8), permitindo que ao serem consumidas estejam com pH entre 6,29 a 6,43, em média, o que indica menor risco de proliferação de microrganismo e maior vida de prateleira.

Tabela 6. Médias do pH, capacidade de retenção de água (CRA), perda de peso por cozimento (PPC), luminosidade (L*), faixa de cor para o vermelho (a*) e faixa de cor para o amarelo (b*) no peito de codornas de corte alimentadas com rações contendo bacitracina e OLES de *M. piperita* e de *M. alternifolia*.

Variável	Tratamentos				CV%
	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	
pH	6,29a	6,43a	6,32a	6,34a	2
L*	34,66c	37,58bc	41,33ab	44,11a	10,48
a*	7,14a	6,31a	6,81a	6,95a	15,01
b*	11,54ab	10,17b	11,01b	12,84a	11,51
PPC (%)	24,25a	22,50a	13,47b	13,94a	26,37
CRA (%)	43a	35b	37b	35b	9,16

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As médias do pH final da carne de peito das codornas de corte observadas mostraram-se com valores que se enquadram na faixa de pH estipulada para carne de peito de frango normal e corroboram com os resultados obtidos por Pinheiro et al. (2015). Este mesmo autor encontrou valores médios de 14,45 para tendência de cor para o vermelho (a*) num estudo realizado para avaliar diferentes níveis de proteína bruta e a suplementação de aminoácidos essenciais sobre o rendimento de carcaça e a qualidade da carne de peito de codornas de corte dos 28 aos 42 dias de idade, e concluíram que com a elevação do nível de proteína na ração, a carne de peito se tornou mais escura.

As fibras musculares podem ser identificadas como fibras oxidativas e glicolíticas, ambas estão diretamente relacionadas com a qualidade da carne, principalmente no que diz respeito a características sensoriais como cor, sabor, suculência, maciez (Braccini, et al., 2021). Por se tratar de uma carne que possui fibras glicolíticas o valor de L deveria ser maior que os apresentados, porém a tonalidade de “b” está proporcional aos valores determinados, o que pode indicar que as carnes devam apresentar fibras oxidativas-glicolíticas intermediárias (BOROSKY, et al. 2010).

Comparando os parâmetros descritos para a carne de avestruz com os obtidos no presente estudo observa-se que a carne de codornas tende a apresentar menor luminosidade (L*) quando submetida à dieta controle, entretanto a carne de codornas submetidas às dietas contendo Bacitracina ou *M. piperita* foram as que apresentaram menores valores para teor de amarelo (b*). Conforme Hoffman 2008 as codornas apresentam valores de luminosidade (L*) e teor de amarelo (b*) superiores que a carne de avestruz, no entanto apresentam menores resultados para teor de vermelho (a*). Estudos realizados por Santos et al. (2005) avaliando a coloração de carne de peito de linhagens comerciais de frango de corte e frangos caipiras observaram valores médios de teor de vermelho (a*) de 2,66 e 3,44, respectivamente.

Já Pinheiro et al. (2015) observaram que a carne de codornas apresenta valores médios de 10,67 evidenciando uma cor com tonalidade mais escura na mesma. Assim, evidencia-se que a carne de codorna possui uma aparência mais luminosa e clara que a de avestruz, mas menos luminosa e mais escura que a carne de frango, tanto de linhagens comerciais quanto de aves caipiras.

Lima et al. (2016) estudando os efeitos dos extratos de (*Stryphnodendron Adstringens*) e Pacari (*Lafoensia Pacari*) na estabilidade e qualidade oxidativa da carne de frangos e corte aos 42 dias de idade, verificaram que a suplementação alimentar com os extratos não afeta o pH e a cor, mas reduzem a força de cisalhamento da carne de peito em comparação com o controle negativo, que o *L. Pacari* aumenta a luminosidade (L^*), a tendência de cor para o amarelo (b^*) na carne da coxa em comparação com o controle.

Os valores da capacidade de retenção de água (CRA) estão diretamente proporcionais aos valores de luminosidade, pois quanto maior o valor de L^* menor a capacidade a carne tem de reter água, característica encontrada em carnes de fibra glicolítica e de fibra intermediária. Importante ressaltar que a CRA é um parâmetro físico-químico intrínseco a carne e que só pode ser modificada por influência genética ou nutricional, devido ao tipo de partição de nutrientes (BRIDI e DA SILVA, 2013).

A capacidade de retenção de água (CRA) se relaciona com o valor nutritivo da carne, onde a maior exsudação, pode gerar carnes mais secas e com menor maciez, já a perda de peso por cozimento (PPC), está relacionado ao aumento da permeabilidade das membranas, onde o calor facilita a interação entre agentes oxidantes, resultando nas perdas de peso decorrentes do processo de preparo da carne para o consumo (Luiggi et al., 2020; Sañudo et al., 1993). Neste estudo pode-se observar que os animais do grupo controle apresentaram uma melhor CRA, quando comparados ao uso da bacitracina e dos OLES, entretanto em relação ao PPC, os tratamentos com OLES foram os que menos tiveram exsudação.

Essa menor exsudação resultante dos tratamentos com OLES podem estar também relacionados a efeitos antioxidantes que alguns óleos essenciais podem exercer, onde pode haver a diminuição da interação desses agentes responsáveis pela oxidação com as membranas alterando assim sua permeabilidade. Segundo o estudo de Elmali et al. (2014) onde analisou os efeitos de extratos vegetais e mistura de óleos, à base de adição de hortelã-pimenta, tomilho e erva-doce à água de beber, sobre a qualidade da carne de peito de codornas, mostrou que a adição de extratos vegetais e mistura de óleo às águas de bebida aumentou significativamente as características antioxidantes da carne.

3.3 Lipidemia das aves

Em relação a lipidemia das aves, não foi verificada diferença a ($P < 0,05$) entre os tratamentos experimentais e para as condições de coleta (Após 12 horas de jejum e sem jejum) para as variáveis colesterol total e peso das aves (Tabela 7).

Os resultados obtidos, no presente estudo, para variável colesterol total não apresentou diferença significativa entre os grupos experimentais, corroborando com Silva et al. (2012), na qual examinaram o efeito de diferentes fontes de ácidos graxos essenciais ômega-3 e ômega-6 sobre o perfil lipídico de codornas japonesas, constataram que não houve diferença significativa entre os grupos experimentais (dieta-controle; OP 2%: óleo de peixe 2%; OP 4%: óleo de peixe 4%; OS 2%: óleo de soja 2%; OS 4%: óleo de soja 4%) para colesterol total.

Tabela 7. Valores médios obtidos para colesterol total (CT), HDL e triglicerídeos (TG) no sangue de codornas submetidas a diferentes dietas contendo OLES.

Após 12 horas de Jejum					
Variáveis	Tratamentos				CV%
	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	
CT (mg/dL)	205,37 Aa	210,87 Aa	202,87 Aa	197,0 Aa	9,78
TG (mg/dL)	90,12 Ba	89,87 Ba	88,0 Ba	97,87 Ba	13,6
HDL (mg/dL)	89,25 Ba	82,0 Ab	74,50 Ac	86,25 Aab	5,57
LDL (mg/dL)	98,12 Aa	110,75 Aa	110,87 Aa	92,12 Aa	19,26
VLDL (mg/dL)	18,0 Ba	18,0 Ba	17,5 Ba	18,5 Ba	13,69
Peso (g)	256,05 Aa	250,0 Aa	257,50 Aa	265,0 Aa	6,48
Sem Jejum					
Variáveis	Tratamentos				CV%
	Controle	Bacitracina	<i>M. piperita</i>	<i>M. alternifolia</i>	
CT (mg/dL)	205,50 Aa	214,0 Aa	199,50 Aa	196,25 Aa	9,02
TG (mg/dL)	156,62 Aa	163,37 Aa	155,25 Aa	137,12 Aa	18,42
HDL (mg/dL)	106,87 Aa	97,75 Aa	85,25 Aa	103,37 Aa	29,4
LDL (mg/dL)	67,25 Ba	83,50 Aa	83,25 Ba	65,37 Ba	45,78
VLDL (mg/dL)	31,25 Aa	32,75 Aa	31,25 Aa	27,37 Aa	18,58
Peso (g)	262,50 Aa	255,62 Aa	261,87 Aa	268,12 Aa	6,31

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna (dentro de cada tratamento), não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Por outro, lado, as variáveis HDL e triglicerídeos totais foram influenciadas pelas dietas experimentais. Khalifa e Noseer (2019) estudando o uso de *Lactobacillus*, *Saccharomyces* e gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de codornas, observaram que as aves que receberam dietas com gengibre apresentaram os níveis mais baixos de colesterol total, de Low Density Lipoproteins – (LDL) e de Lipoproteína de alta densidade (High Density Lipoprotein – HDL),

sendo assim concluíram que o uso de probióticos são a estratégia alternativa na criação de codornas em vez dos antibióticos.

No presente estudo, não foi verificado efeito dos tratamentos quando se isolou o efeito das condições da coleta sobre as variáveis triglicéridos, LDL, lipoproteínas de densidade muito baixa (Very Low Density Lipoprotein – VLDL). Porém, para a variável HDL, foi verificado efeito ($P < 0,05$) dos tratamentos na condição de coleta “após 12 horas de jejum”, mas para a condição de coleta “sem jejum” não foi verificado efeito dos tratamentos, conforme descrito na Tabela 7.

Não houve efeito ($P < 0,05$) da interação entre os tratamentos (Bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia*) e condições de coleta (Após 12 horas de jejum e sem jejum) sobre a variável lipoproteína de alta densidade (HDL), também não houve efeito da interação (tratamentos x condições de coleta) quando do uso de Bacitracina de zinco para a variável lipoproteínas de baixa densidade (LDL).

Entretanto, houve efeito ($P < 0,05$) da interação entre os tratamentos (Controle, Bacitracina de zinco, *M. piperita* e *M. alternifolia*) sobre as variáveis triglicéridos e lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), houve efeito ($P < 0,05$) da interação entre o tratamento controle e condições de coleta (Após 12 horas de jejum e sem jejum) sobre a variável lipoproteína de alta densidade (HDL) e houve efeito ($P < 0,05$) da interação entre os tratamentos (Controle, *M. piperita* e *M. alternifolia*) e condições de coleta (Após 12 horas de jejum e sem jejum) sobre a variável lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Segundo Faludi et al. (2017) o jejum não é necessário para realização do CT, HDL, justamente porque o estado pós-prandial não interfere na concentração destas partículas. Por essa razão, o consenso da European Atherosclerosis Society, a European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine e a American College of Cardiology Foundation recomendaram o fim do jejum para o perfil lipídico (Nordestgaard, 2016; Driver et al., 2016).

Contudo, no presente estudo os coeficientes de variação aferidos na condição de coleta “após 12 horas de jejum” apresentaram-se 86% inferiores aos verificados quando da realização das coletas de sangue na condição das aves sem passar por jejum prévio. Desta forma, observa-se maior desuniformidade dos resultados do perfil lipídico das aves quando não é realizado o jejum prévio de 12 horas.

4. CONCLUSÃO

O uso de aditivos fitogênicos à base de OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* na dieta de codornas de corte, pode proporcionar desempenhos zootécnicos, rendimentos de carcaça quente e resfriada, pesos relativos dos órgãos, bem como características de qualidade da carne comparáveis ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho. A redução no nível sérico de colesterol HDL foi observada nos grupos tratados com Bacitracina de zinco e com os OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*. Os coeficientes de variação aferidos na condição de coleta “após 12 horas de jejum” apresentaram-se 86% inferiores aos verificados quando da realização das coletas quando realizadas com jejum prévio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.R.A.; BOARI, C.A.; PIRES, A.V.; PINHEIRO, S.R.F.; OLIVEIRA, R.G.; OLIVEIRA, K.M.; GONÇALVES, F.M.; OLIVEIRA, F.R. Influência do sexo e idade de abate sobre rendimento de carcaça e qualidade da carne de codornas de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15 (1): p.131-140, 2014.

BOROSKY, J. C. et al. Características das fibras musculares do L. dorsi e qualidade da carne de suínos de quatro linhagens. **Archivos de zootecnia**, v. 59, n. 226, p. 277-286, 2010.

BRACCINI, V.P.; ARBELLO, D.D.R., JIMÉNEZ, M.S.E.; ERHARDT, M.M.; FERNANDO VILANI DE PELLEGRIN, L.; RICHARDS, N.S. Types of muscle fibers, identification, characteristics and quality of meat. **Brazilian Journal of Development**, 7(3), 21180 – 21190, 2021.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p.1-4, 2010.

BRIDI, A. M., & DA SILVA, C. A Qualidade da carne suína e fatores que a influenciam. **ANAIS DO VI SIMPÓSIO BRASIL SUL DE SUINOCULTURA E V BRASIL SUL PIG FAIR**, p. 46, 2013.

CASTEJON, F.V. **Adição de óleos de copaíba (Copaifera sp.) e sucupira (Pterodon sp.) a rações de frangos de corte.** Goiânia: Universidade Federal de Goiás. 2013.

DAIRIKI, J.K.; MAJOLO, C.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; OLIVEIRA, M.R.; MORAES, I.S. Procedimento para inclusão de óleos essenciais em rações para peixes. **Circular Técnica**, 42, Embrapa Amazônia Ocidental, Amazonas, 2013. 8 p.

ELMALI, D.A.; YAKAN, A.; KAYA, O.; ELMALI, M.; ONK, K.; SAHIN, T.; DURNA, O. Effects of plant extracts and (essential) oil mixture on breast meat quality of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Revue de Médecine Vétérinaire**, 165(3-4), 104-110, 2014.

DRIVER, S.L.; MARTIN, S.S.; GLUCKMAN, T.J. Fasting or nonfasting lipid measurements. it depends on the question. **Journal of the American College of Cardiology**. v.67(10):1227-34, 2016.

FALUDI, A.A.; IZAR, M.C.O.; SARAIVA, J.F. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.109, nº.2 supl.1, 2017.

FRANCO, C.R. **Inclusão de óleos essenciais em rações para frangos de corte de linhagem caipira criados na amazônia ocidental.** Rio Branco: Universidade Federal do Acre. 2019.

HARGIS, P. S. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl – a review. **Worlds Poultry Science Journal**, v.44 (1): 17-29, 1988.

HOFFMAN, L.C. The yield and nutritional value of meat from African ungulates, camelidae, rodents, ratites and reptiles. **Meat Science**, v.80, p.94–100, 2008.

JANG, I.S.; KO, Y.H.; KANG, S.Y.; LEE, C.Y. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, p.304-315, 2007.

KHALIFA, M.I.; NOSEER, E.A. Cholesterol quality of edible eggs produced by quail fed diets containing probiotic and/or ginger (*Zingiber officinale*). **Livestock Research for Rural Development**, v.31 (10), 2019.

KLASSA, B.; GROSSELI, M. M.; KIYOMURA, A. K.; ALVES, M. J. Q. F. Avaliação do efeito do alho (*Allium sativum* L.) sobre o colesterol plasmático em coelhos com hipercolesterolemia induzida. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15(4): 557-565, 2013.

KOIYAMA, N. T. G.; ROSA, A. P.; PADILHA, M. T. S.; BOEMO, L. S.; SCHER, A.; MELO, A. M. S.; FERNANDES, M. O. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49 (3): 225-231, 2014.

LEE, K. W.; EVERTS, H.; BEYNEN, A. C. Essential oils in broiler nutrition. **International Journal of Poultry Science**, v.3, p.738-752, 2004.

LIMA, C.B.; MIGOTTO, D.L.; OLIVEIRA, G.R.; SOUZA, T.C.; SANTANA, R.O.; CASTEJON, F.V.; TANURE, C.B.G.S.; SANTANA, A.P.; STRINGHINI, J.H.; RACANICCI, A.M.C. Dietary Supplementation of Barbatimão (*Stryphnodendron Adstringens*) and Pacari (*Lafoensia Pacari*) Extracts on the Oxidative Stability and Quality of Chicken Meat. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.18, p. 669-676, 2016.

LUIGGI, F.G.G.; PACHECO, P.D.G.; RACANICCI, A.M.C.; MUYNARSK, E.D.S.M.; FASANARO, R.; SARTORI, J.R. Use of bixin in the broiler diet and its effects on zootechnical performance and meat quality. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 25(1). 2020.

MERSEGUEL, C. E. B.; BURBARELLI, M. F. C.; POLYCARPO, G. V.; BORDIN, R. A.; MORO, M. E. G.; ALBUQUERQUE, R. Exigência de proteína bruta para codornas europeias. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.18 (3): 2019.

MIGOTTO, D.L. **Desempenho e digestibilidade de nutrientes para frangos de corte alimentados com rações contendo extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis*)**. Brasília: Universidade de Brasília, 2015.

MURAROLLI, V.D.A. **Effect of prebiotic, probiotic and symbiotic on performance, intestinal morphology and immunity of broilers.** 101f. Thesis (Master in Veterinary Medicine) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, Pirassununga – SP, 2008

NORDESTGAARD, B.G.; LANGSTED, A.; MORA, S. et al. European Atherosclerosis Society (EAS) and the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) joint consensus initiative. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points-a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. **European Heart Journal**, v.37(25):1944-58, 2016.

PERIĆ, L.; ŽIKIĆ, D.; LUKIĆ, M. Application of alternative of growth promoters in broiler production. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v.25, p.387-397, 2009.

PINHEIRO, S. R. F.; DUMONT, M. A.; PIRES, A. V.; BOARI, C. A.; MIRANDA, J. A.; OLIVEIRA, R.G. FERREIRA, C. B. Rendimento de carcaça e qualidade da carne de codornas de corte alimentadas com rações de diferentes níveis de proteína e suplementadas com aminoácidos essenciais. **Ciência Rural**, v.45(2): 292-297, 2015.

PIZZIOLO, V. R.; BRASILEIRO, B. G.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J. Plantas com possível atividade hipolipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13(1): 98-109, 2011.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Avaliação da qualidade de carnes - Fundamentos e metodologias. In: _____. **Avaliação de carnes anormais:** condições PSE e DFD. Viçosa: UFV, 2007a. Cap.10, p.531-575.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Avaliação da qualidade de carnes - Fundamentos e metodologias. In: _____. **Avaliação objetiva da cor.** Viçosa: UFV, 2007b. Cap.7, p.287-374.

REZENDE, M. J. M.; FLAUZINA, L. P.; MCMANUS, C.; OLIVEIRA, L. Q. M. Desempenho produtivo e biometria das vísceras de codornas francesas alimentadas com diferentes níveis

de energia metabolizável e proteína bruta. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences, v26(3): 353-358, 2004.

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

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4a Ed, 2017.

SANTOS, A.L.; SKOMURA, N.K.; FREITAS, E.R.; FORTES, C.M.L.S; CARRILHO, E.N.V.M.; FERNANDES, J.B.K. Growth, performance, carcass yield and meat quality of three broiler chickens strains. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1589-1598, 2005.

SAÑUDO, C.A. The organoleptic quality of the meat (IV): special reference to sheep. **Livestock World**. 2, 67-69, 1993.

SILVA, J. E. S.; MOURA, A. M. A.; NOGUEIRA, R. A. Efeito dos ácidos graxos essenciais sobre lipídeos e vascularização da membrana vitelina de codornas japonesas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.6, p.1603-1612, 2012.

SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P. **Tabela para codornas japonesas e europeias**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP. 110p. 2009.

TEIXEIRA, B.B.; PIRES, A. V.; VELOSO, R. C.; GONÇALVES, F. M.; DRUMOND, E. S. C.; PINHEIRO, S. R. F. Desempenho de codornas de corte submetidas a diferentes níveis de proteína bruta e energia metabolizável. **Ciência Rural**, v.43(3): 524-529, 2013.

TRAESELI, C.K.; LOPES, S.T.A.; WOLKMER, P.; SCHMIDT, C.; SANTURIO, J.M.; ALVES, S.H. Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**, v.41, n.2, p.278-284, 2011.

8. CONCLUSÃO GERAL

Os compostos majoritários de *M. piperita*, *M. alternifolia*, *B. trimera* e *C. bergamia*, foram respectivamente: mentol, terpinen-4-ol e acetato de carquejila, acetato de linalila. O uso de *M. alternifolia* na dieta das codornas de corte promoveu melhores resultados para morfometria intestinal se equivalendo ao uso de Bacitracina de zinco. O uso de *M. piperita* e *M. alternifolia* alterou o microbioma gastrointestinal das codornas de corte de forma negativa em relação às bactérias patogênicas, mas reduziu a diversidade bacteriana patogênica em relação ao controle. Houve redução no HDL nas aves tratadas com OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia*, mas não houve aumento dos valores de LDL e VLDL. O uso de OLES de *M. piperita* e *M. alternifolia* na dieta de codornas de corte, pode proporcionar desempenhos zootécnicos, rendimentos de carcaça quente e resfriada, pesos relativos dos órgãos, bem como características de qualidade da carne equivalentes ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS – GERAL

- ABD-ELGHANY, S. M.; SALLAM, K. I.; ABD-ELKHALEK, A.; TAMURA, T. Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from chicken meat and giblets. **Epidemiology & Infection**, v.143, p. 997–1003, 2015.
- ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2021**. Disponível em: < https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf>. Acesso em: 05 jul. 2021.
- ABREU, L.R.A.; BOARI, C.A.; PIRES, A.V.; PINHEIRO, S.R.F.; OLIVEIRA, R.G.; OLIVEIRA, K.M.; GONÇALVES, F.M.; OLIVEIRA, F.R. Influência do sexo e idade de abate sobre rendimento de carcaça e qualidade da carne de codornas de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15 (1): p.131-140, 2014.
- ADAMNEZHAD, H.Z.; GHALEHKANDI, J.G.; Growth performance and the intestine morphometry of Japanese quail that fed diets supplemented with vitamin e and selenium. **Iranian Journal of Veterinary Medicine**, v.12 (4): 323-334, 2018.
- ALAGAWANY, M.; EL-SAADONY, M.T.; ELNESR, S.S.; FARAHAT, M.; ATTIA, G.; MADKOUR, M.; & REDA, F.M. Use of lemongrass essential oil as a feed additive in quail's nutrition: its effect on growth, carcass, blood biochemistry, antioxidant and immunological indices, digestive enzymes and intestinal microbiota. **Poultry Science**, p. 101-172, 2021.
- ALCÂNTARA, A.L.; CARDOSO, R.C.; SOUZA, F.M.; ESPINHEIRA, M.J.C. Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Óleo Extraído da Cápsula do *Eucalyptus urograndis*: Uma Contribuição Significativa para o ramo Farmacêutico. **ID on line Revista de Psicologia**, v. 13, n. 43, p. 455-468, 2019.
- ALEIXO, Á. A. HERRERA, K.M.S.; RIBEIRO, R.I.M.D.A.; LIMA, L.A.R.D.S.; FERREIRA, J.M.S. Antibacterial activity of *Baccharis trimerica* (Less.) DC. (carqueja) against bacteria of medical interest. **Revista Ceres**, v. 60, n. 5, p. 731-734, 2013.
- ALÓS, J. I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. **Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica**. v. 33(10):692-9, 2015.
- Annual Report 2016-2017 AICRP on Poultry Breeding and Poultry Seed Project. Directorate of Poultry Research, Hyderabad: ICAR.
- ARAÚJO, D.G.S.; VASCONCELOS, L.P.F.; LIMA, A.K.B.S. Alteration of intestinal microbiota and associated pathologies: importance of the use of prebiotics and probiotics in their balance. **Temas em Saúde**, v. 19, n. 4, 2019.
- ARAUJO, M.M.; LONGO, P.L. *In vitro* antibacterial activity of *Origanum vulgare* (oregano) essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.
- ARRUDA, A.M.V.; FERNANDES, R.T.V.; SILVA, J.M.; LOPES, D.C. Avaliação morfohistológica da mucosa intestinal de coelhos alimentados com diferentes níveis e fontes de fibra. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 2, p. 1-11, 2008.
- ATAIDE, J.O.; FRAGOSO, D.F.M.; PRATISSOLI, D.; PINHEIRO, P.F. Os óleos essenciais de citrus tem ação inseticida sobre a lagarta do morango? **Nucleus**, v.16, n.1, 2019.
- BAELE, M.; DEVRIESE, L.A.; HAESBROUCK, F. *Lactobacillus agilis* is an important component of the pigeon crop flora. **Journal of applied microbiology**, v. 91, n. 3, p. 488-491, 2001.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BALKWILL, D.L.; FREDRICKSON, J.K.; ROMINE, M.F. **Sphingomonas and related genera**. Pacific Northwest National Lab. (PNNL), Richland, WA (United States), 2003.
- BAPTISTA, M.G.F.M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, 2013. 42f.
- BARBOSA, F. et al. Microbiota indígena do trato gastrointestinal. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Aracaju, v. 10, n. 1, p. 78-93, 2010.

- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**. v. 45, p. 493-496. 1966.
- BEDANI, R; ROSSI, E.A. Microbiota Intestinal e probióticos: implicações sobre o câncer de cólon. **Jornal Português de Gastreterologia**. v. 16, n. 1, p. 19-28, 2009.
- BEHNAM, S.; FARZANEH, M.; AHMADZADEH, M.; TEHRANI, A.S. Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavendula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, v. 71, n. 3 Pt B, p. 1321-1326, 2006.
- BELLONI, M.; PAZ, I.C.L.A.; NÄÄS, I.A.A.; GARCIA, R.G.; BALDO, G.A.A.; CAVICHIOLO, F.; ALVES, M.C.F.; CALDARA, F.R. Morfometria intestinal de poedeiras suplementadas com própolis. **Revista Agrarian**, v.5 (16): 174-180, 2012.
- BINDA, C.; LOPETUSOA, L.R.; RIZZATTIA, G.; GIBIINO, G.; CENNAMOB, V.; GASBARRINIA, A. Actinobacteria: a relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. **Dig. Liver Dis**, 50:421–428, 2018.
- BOMFIM, H.F. Avaliação in vitro do potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Lippia* ssp frente a leveduras de ocorrência na candidíase bucal. **Anais... Seminário de Iniciação Científica**, n. 22, 2019.
- BONAN, P.R.F.; CACIQUE, A.P.; BOTELHO, B.L.; FARIA, A.K.S.; NOBRE, S.A.M.; PRATA, E.R.B.A. Evaluation of the thermal stress of *Candida albicans* using microplates and resazurin as an oxidation indicator. In: Regional Development Forum **Proceedings... Unimontes commitment**, 4 (2010) (in press).
- BORDA-MOLINA, D. et al. Effects on the ileal microbiota of phosphorus and calcium utilization, bird performance, and gender in Japanese quail. **Animals**, v. 10, n. 5, p. 885, 2020.
- BORDA-MOLINA, D.; VITAL, M.; SOMMERFELD, V.; RODEHUTSCORD, M.; CAMARINHA-SILVA, A. Insights into Broilers' Gut Microbiota Fed with Phosphorus, Calcium, and Phytase Supplemented Diets. **Front. Microbiol.** 7, 2033, 2016.
- BORGES AM et al. 2012. Determination of essential oils of basil (*Ocimum gratissimum* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Medicinal Plants** 14: 656–665.
- BORGES, D.F. **Nematicidal effect of Cerrado plant extracts and essential oils**. M.Sc. Dissertation, Federal University of Viçosa, Rio Paranaíba, 2017.
- BOTREL, P.P.; PINTO, J.E.B.P.; FERRAZ, V.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FIGUEIREDO, F.C. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl, Lamiaceae em função da sazonalidade. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 533-538, 2010.
- BOZKURT M et al. 2014. Effects of selected herbs and essential oils on performance, egg quality and some metabolic activities in laying hens – a review. **European Poultry Science** 78: 1–15.
- BRACCINI, V.P.; ARBELLO, D.D.R., JIMÉNEZ, M.S.E.; ERHARDT, M.M.; FERNANDO VILANI DE PELLEGRIN, L.; RICHARDS, N.S. Types of muscle fibers, identification, characteristics and quality of meat. **Braz. J. of Develop.** 7(3), 21180 – 21190, 2021.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira** (Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, Brasil) 2010, 546.
- BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p.1-4, 2010.
- BROWN, R.L.; LARKINSON, M.L.Y.; CLARKE, T.B. Immunological design of commensal communities to treat intestinal infection and inflammation. **PLoS pathogens**, v. 17, n. 1, p. e1009191, 2021
- BUENO, R. et al. Efeito da influência de probiótico sobre a morfologia intestinal de codornas japonesas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 2, p. 111-115, 2012.

- CALVARANO M.; CALVARANO, I. La composizione delle essenze di bergamotto. Nota II. Contributo all'indagine analitica mediante spettrofotometria nell'UV e gascromatografia. **Essenz. Deriv. Agrum**, v. 34, p. 71-92, 1964.
- CAMARGO, S. B.; DE VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpene. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 381-387, 2014.
- CAPORASO, J.; LAUBER, C.; WALTERS, W.; BERG-LYONS, D.; LOZUPONE, C.; TURNBAUGH, P.J.; FIERERB, N.; KNIGHTA, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings... of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v.108, p.4516 – 4522, 2011.
- CARDOSO, D.S.C. **Microbiota, probióticos e saúde**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina), Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016
- CARDOSO, M.O.; RIBEIRO, A.R.; SANTOS, L.R.; PILOTTO, F.; MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; ROCHA, S.L.S.; NASCIMENTO, V.P. Antibiotic resistance in *Salmonella Enteritidis* isolated from broiler carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology**, Passo Fundo, v.37, p.299-302, 2006.
- CARDOSO, V.S. et al. Piperine as a phytochemical additive in broiler diets. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 489-496, 2012.
- CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **Journal of applied bacteriology**, v. 78, n. 3, p. 264-269, 1995.
- CASTEJON, F.V. **Adição de óleos de copaíba (Copaifera sp.) e sucupira (Pterodon sp.) a rações de frangos de corte**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás. 2013.
- CASTILLO-LÓPEZ, R.I., GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E.P., LEYVA-LÓPEZ, N., LÓPEZ-MARTÍNEZ, L.X.; HEREDIA, J. B. Natural alternatives to growth-promoting antibiotics (GPA) in animal production. **J. Anim. Plant Sci**, v. 27, n. 2, p. 349-359, 2017.
- CENTENO, S.; SALVATIERRA, G.; CALLE, S. Detección de fenotipos de resistencia ACCSuT, BLEE y AmpC en Cepas de Salmonella entérica aisladas de infecciones en animales. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 29(2), p. 580-587. 2018.
- CHANG, J. et al. Compound probiotics alleviating aflatoxin B1 and zearalenone toxic effects on broiler production performance and gut microbiota. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 194, p. 110420, 2020.
- CHO JH et al. 2014. Effects of phytochemical feed additive on growth Performance, digestibility, blood metabolites, intestinal microbiota, meat color and relative organ weight after oral challenge with *Clostridium perfringens* in broilers. **Livestock Science** 160:82-88.
- CHRISTOFF, A.P.; CRUZ, G.N.F.; SEREIA, A.F.R.; YAMANAKA, L.E.; SILVEIRA, P.P.; DE OLIVEIRA, L.F.V. End-to-end assessment of fecal bacteriome analysis: from sample processing to DNA sequencing and bioinformatics results. **BioRxiv**, 22, 2019.
- CLAVIJO, V.; FLÓREZ, M.J.V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. **Poultry science**, 97(3), 1006-1021, 2018.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**. CLSI document M100-S15 (ISBN 1- 56238-556-9). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
- CORREA, M.S.; SCHWAMBACH, J.; MANN, M.B.; FRAZZON, J.; FRAZZON, A.P.G. Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.
- CORTEZ, A.L.L.; CARVALHO, A.C. F.B.; IKUNO, A.A.; BÜRGER, K.P.; VIDAL-MARTINS, A.M.C. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.2, p.157-163, 2006.

- COSTA, A.N.; CAMPOS, S.V.; SALLES, R.K.; ATHANAZIO, R.A. Microbioma pulmonar: desafios de um novo paradigma. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.44(5): 424-432, 2018.
- COSTA, J.M.; MOURA, C.S.; PÁDUA, C.A.M.; VEGI, A.S.F.; MAGALHÃES, S.M.S.; RODRIGUES, M.B.; RIBEIRO, A.Q. Restrictive measure for the commercialization of antimicrobials in Brazil: results achieved. **Revista de saúde pública**, v. 53, p. 68, 2019.
- COSTA, L.B. et al. Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**, v.60, n.231, p.687-698, 2011.
- DA COSTA, A.L.P.; JUNIOR, A.C.S.S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.
- DA SILVA, A.R.H.; LOPES, L.Q.S.; CASSANEGO, G.B.; De JESUS, P.R.; FIGUEREDO, K.C.; SANTOS, R.C.V.; De FREITAS Bauermann, L. Acute toxicity and antimicrobial activity of leaf tincture *Baccharis trimera* (Less). **Biomed J.** 41 (3): 194–201.
- DA SILVEIRA DEMINICIS, R.G.; MENEGHETTI, C.; DE OLIVEIRA, E.B.; JÚNIOR, A.A.P.G.; FARIAS FILHO, R.V.; & DEMINICIS, B.B. Systematic review of the use of phytobiotics in broiler nutrition. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 20(1), 098-106, 2021.
- DAIRIKI, J.K., MAJOLO, C.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; OLIVEIRA, M.R.; MORAES, I.S. Procedimento para inclusão de óleos essenciais em rações para peixes. **Circular Técnica**, 42, Embrapa Amazônia Ocidental, Amazonas, 2013. 8 p.
- DAIRIKI, J.K.; MAJOLO, C.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; OLIVEIRA, M.R.; MORAES, I.S. Procedimento para inclusão de óleos essenciais em rações para peixes. **Circular Técnica**, 42, Embrapa Amazônia Ocidental, Amazonas, 2013. 8 p.
- DAVIES, N.W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. **Journal of chromatography**. A, v. 503, p. 1-24, 1990.
- DE SOUSA BARROS, A.; DE MORAIS, S.M.; FERREIRA, P.A.T.; VIEIRA, Í.G.P.; CRAVEIRO, A.A.; DOS SANTOS FONTENELLE, R.O.; DE SOUSA, H.A. Chemical composition and functional properties of essential oils from *Mentha* species. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 557-564, 2015.
- DE SOUZA, A.Z.Z.; ZAMBOM, A.Z.; ABOUD, K.Y.; REIS, S.K.; TANNIÃO, F.; GUADAGNINI, D.; & PRADA, P.O. Oral supplementation with L-glutamine alters gut microbiota of obese and overweight adults: A pilot study. **Nutrition**, 31(6), 884-889, 2015.
- DEL FIOLE, F.S.; LOPES, L.C.; TOLEDO, M.I.; BARBERATO-FILHO, S. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 68-72, 2010.
- DESAM, N. R.; AL-RAJAB, A. J.; SHARMA, M.; MYLABATHULA, M. M.; GOWKANAPALLI, R. R.; ALBRATTY, M. Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha x Piperita* L. (peppermint) essential oils. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31(4), p. 528-533. 2019.
- DI GIACOMO, A.; MINCIONE, B. **Citrus essential oils in Italy**. (Laruffa Editore, Reggio, Italy). 1994.
- DJENANE, D.; AÏDER, M.; YANGÜELA, J.; IDIR, L.; GÓMEZ, D. RONCALÉS, P. Antioxidant and antibacterial effects of Lavandula and Mentha essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157: H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. **Meat Science**, v. 92, n. 4, p. 667-674, 2012.
- DOLKA, B.; CHROBAK-CHMIEL, D.; CZOPOWICZ, M.; SZELESZCZUK, P. Characterization of pathogenic *Enterococcus cecorum* from different poultry groups: Broiler chickens, layers, turkeys, and waterfowl. **PLoS One**, 12(9), e0185199, 2017.
- DOMINGUES, R.M. et al. 2016. Blood parameters of broilers fed diets supplemented with dry seeds of Piper cubeba as a phyto-genic additive. **Brazilian Veterinary Research** 36: 1139-1144.

- DORMAN, H.D.; FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; DEANS, S.G. In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 15, n. 1, p. 12-16, 2000.
- DOS SANTOS, K.P.O.; FARIA, A.C.D.S.R.; SILVA, D.P.A.; LISBOA, P.F.; DE PINA COSTA, A.; KNACKFUSS, F.B. *Salmonella* spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **PUBVET**, v. 14, p. 148, 2020.
- DRIVER, S.L.; MARTIN, S.S.; GLUCKMAN, T.J. Fasting or nonfasting lipid measurements. It depends on the question. **Journal of the American College of Cardiology**. v.67, (10):1227-34, 2016.
- DU, X. et al. Microbial community and short-chain fatty acid mapping in the intestinal tract of quail. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 1006, 2020.
- DUARTE, D.A.M.; RIBEIRO, A.R.; VASCONCELOS, A.M.M.; SANTOS, S.B.; SILVA, J.V.D.; ANDRADE, P.L.A.; FALCÃO, L.S.P.C.A. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.40, p.569-573, 2009.
- DUGO, G.; BONACCORSI, I. **Citrus Bergamia: Bergamot and its derivatives**. (CCR Press, Boca Raton, FL, US, 2013), 2013, 592.
- DUNSFORD, B.R.; KNABE, D.A.; HAENSLY, W.E. Effect of dietary soybean meal on the microscopic anatomy of the small intestine in the early-weaned pig. **J. Anim. Sci.** 67, 1855–1863, 1989.
- EBANI, V. V.; NARDONI, S.; BERTELLONI, F.; TOSI, G.; MASSI, P.; PISTELLI, L.; MANCIANTI, F. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils against *Salmonella enterica* serotypes Enteritidis and Typhimurium strains isolated from poultry. **Molecules**, v. 24(5), p. 900(1-9). 2019.
- EBANI, V.V.; NAJAR, B.; BERTELLONI, F.; PISTELLI, L.; MANCIANTI, F.; NARDONI, S. Chemical composition and in vitro antimicrobial efficacy of sixteen essential oils against *Escherichia coli* and *Aspergillus fumigatus* isolated from poultry. **Veterinary sciences**, v. 5, n. 3, p. 62, 2018.
- ELMALI, D.A.; YAKAN, A.; KAYA, O.; ELMALI, M.; ONK, K.; SAHIN, T.; DURNA, O. Effects of plant extracts and (essential) oil mixture on breast meat quality of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Revue Méd Vét**, 165(3-4), 104-10, 2014.
- FALCI, S.P.P.; TEIXEIRA, M.A.; CHAGAS, P.F.D.; MARTINEZ, B.B.; LOYOLA, A.B.A.T.; FERREIRA, L.M.; VEIGA, D.F. Antimicrobial activity of *Melaleuca* sp. oil against clinical isolates of antibiotics resistant *Staphylococcus aureus*. **Acta Cir Bras**, v. 30, n. 7, p. 491-6, 2015.
- FALUDI, A.A.; IZAR, M.C.O.; SARAIVA, J.F. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.109, nº.2 supl.1, 2017.
- FASCINA VB et al. 2016. Effects of Phytogetic Additives and Organic Acids, alone or in combination, on the Performance, Intestinal Quality and Immune Responses of Broiler Chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science** 19:497–508.
- FERENHOF HA & FERNANDES RF. 2016. Demystifying literature review as a basis for scientific writing: SSF method. **Revista ACB** 21: 550-563.
- FERNANDES JIM et al. 2017. Evaluation of plant extracts on the immune response, productive performance and intestinal morphometry of broilers challenged with *Eimeria* sp. **Brazilian Journal of Health and Animal Production** 18: 127-139.
- FERNANDES RTV et al. 2015. Phytogetic additives in broiler feed: essential oils and spices. **Veterinary Publications** 9: 526-535.
- FERREIRA, P. de A. **Desenvolvimento de forma farmacêutica sólida à base de *Baccharis trimera* (Less.) DC. para o tratamento da artrite reumatoide**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

- FRANCO, C.R. **Inclusão de óleos essenciais em rações para frangos de corte de linhagem caipira criados na amazônia ocidental**. Rio Branco: Universidade Federal do Acre. 2019.
- FURTADO, D. M. F.; SILVEIRA, V. S.; CARNEIRO, I. C. R. S; FURTADO, D. M. F.; KILISHEK, M. P. Consumo de antimicrobianos e o impacto na resistência bacteriana em um hospital público do estado do Pará, Brasil, de 2012 a 2016. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.10, p.1-8, 2019.
- GABRIELE, M.; FRASSINETTI, S.; CALTAVUTURO, L.; MONTERO, L.; DINELLI, G.; LONGO, V.; PUCCI, L. *Citrus bergamia* powder: Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties. **Journal of Functional Foods**, v. 31, p. 255-265, 2017.
- GARCIA, F.A.O.; TANAE, M.M.; TORRES, L.M.B.; LAPA, A.J.; DE LIMA-LANDMAN M.T.R.; SOUCCAR, C. A comparative study of two clerodane diterpenes from *Baccharis trimera* (Less.) DC. on the influx and mobilization of intracellular calcium in rat cardiomyocytes. **Phytomedicine**, v. 21, n. 8-9, p. 1021-1025, 2014.
- GEORGALAKI, M.D. et al. Propriedades bioquímicas de cepas de *Streptococcus macedonicus* isoladas de queijo grego Kasserí. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 5, pág. 817-825, 2000.
- GLAMOCLIJAN et al. 2016. Effects of phytobiotics on Cobb broiler production results, meatiness and chemical composition. **Meat Technology** 57: 89–94.
- GONG, J. et al. 16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca. **FEMS Microbiological Ecology**, 59:147–157, 2007.
- HAFAEEZ, A. et al. Effect of supplementation of phytogenic feed additives (powdered vs. encapsulated) on performance and nutrient digestibility in broiler chickens. **Poultry Science**. v.95: 622–629. 2016.
- HAIJAGHAPOUR, M.; REZAEIPOUR, V. Comparison of two herbal essential oils, probiotic, and mannan-oligosaccharides on egg production, hatchability, serum metabolites, intestinal morphology, and microbiota activity of quail breeders. **Livestock Science**, v.210, p. 93-98, 2018.
- HALL, H. N.; WILKINSON, D. J.; LE BON, M. Oregano essential oil improves piglet health and performance through maternal feeding and is associated with changes in the gut microbiota. **Animal Microbiome**, v. 3(1), p. 1-17, 2021.
- HARGIS, P. S. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl – a review. **Worlds Poultry Science Journal**, v.44 (1): 17-29, 1988.
- HASHEMI SR & DAVOODI H. 2014. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. **Veterinary Research Communications** 35: 169–180.
- HASHEMIPOUR H et al. 2016. Effect of feed supplementation with a thymol plus carvacrol mixture, in combination or not with an NSP-degrading enzyme, on productive and physiological parameters of broilers fed on wheat-based diets. **Animal Feed Science and Technology** 211:117–131.
- HASSAN, H.M.A. et al. Adding Phytogenic Material and/or Organic Acids to Broiler Diets: Effect on Performance, Nutrient Digestibility and Net Profit. **Asian Journal of Poultry Science**. v.9(2):97-105, 2015.
- HERRO, E.; JACOB, S. E. *Mentha piperita* (hortelã-pimenta). **Dermatite**, v.21 (6), 327-329. 2010.
- HOFFMAN, L.C. The yield and nutritional value of meat from African ungulates, camelidae, rodents, ratites and reptiles. **Meat Science**, v.80, p.94–100, 2008.
- HOMER, L.E.; LEACH, D.N.; LEA, D.; LEE, L.S.; HENRY, R.J.; BAVERSTOCK, P.R. Natural variation in the essential oil content of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 4, p. 367-382, 2000.

- İPÇAK HH & ALÇIÇEK A. 2018. Addition of Capsicum oleoresin, Carvacrol, Cinnamaldehyde and their mixtures to the broiler diet II: Effects on meat quality. **Journal of Animal Science and Technology** 60: 1-11.
- JADHAV NV et al. 2016. Effect of calcium, phosphorus premix with synergistic herbs supplementation in improving overall performance, carcass quality and tibial mineralization in broiler chickens. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research** 3: 268–273.
- JANG, I.S.; KO, Y.H.; KANG, S.Y.; LEE, C.Y. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, p.304-315, 2007.
- JANSSENS, Y.; NIELAND, T.J.; BRONSELAER, A.; DEBUNNE, N.; VERBEKE, F.; WYNENDAELE, E. et al. Disbiome database: linking the microbiome to disease. **BMC Microbiol.** 18(1):50, 2018.
- JAYAPRAKASHA GK et al. 2002. Chemical composition of volatile oil from *Cinnamomum zeylanicum* buds. **Zeitschrift für Naturforschung** 57: 990-993.
- JEURISSEN, S.H.M.; LEWIS, F.; KLIS, J.D.V.; MROZ, Z.; REBEL, J.M.J, HUURNE, A. A.H.M. Parameters and Techniques to Determine Intestinal Health of Poultry as Constituted by Immunity, Integrity and Functionality. **Current Issues of Intestinal Microbiology**, v.3, p. 1-14, 2002.
- JEYAKUMAR, E.; TRIPTI PAL, R.L. Comparative evaluation in the efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) oil with standards antibiotics against selected bacterial pathogens. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 2, p. S253-S257, 2011.
- JIÃO Y et al. 2019. Effects of Salicornia herbacea on Growth Performance, Meat Quality, Excreta Microbial Populations, and Noxious Gas Emissions in Broiler Chicks. **Journal Poultry Science** 56: 44-51, 2019.
- JUNG, A.; CHEN, L.R.; SUYEMOTO, M.M.; BARNES, H.J.; BORST, L.B. A review of *Enterococcus cecorum* infection in poultry. **Avian diseases**, 62(3), 261-271, 2018.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica-texto e atlas**. 11a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008.
- KAJIKAWA, A.; SUZUKI, S.; IGIMI, S. The impact of motility on the localization of *Lactobacillus agilis* in the murine gastrointestinal tract. **BMC microbiology**, v. 18, n. 1, p. 1-7, 2018.
- KALANTAR M et al. 2017. Performance, Immune, and Carcass Characteristics of Broiler Chickens as Affected by Thyme and Licorice or Enzyme Supplemented Diets. **Open Journal of Animal Sciences** 7: 105–109.
- KHALIFA, M.I.; NOSEER, E.A. Cholesterol quality of edible eggs produced by quail fed diets containing probiotic and/or ginger (*Zingiber officinale*). **Livestock Research for Rural Development**, v.31 (10), 2019.
- KHATTAK FA et al. 2014. Effects of natural blend of essential oil on growth performance, blood biochemistry, cecal morphology, and carcass quality of broiler chickens. **Poultry Science** 93:132-137.
- KHODAMBASHI EMAMI, N., SAMIE, A., RAHMANI, H.R.; RUIZ-FERIA, C.A. The effect of peppermint essential oil and fructooligosaccharides, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, digestibility, gut morphology and immune response of male broilers. **Animal Feed Science and Technology**, 175 (1-2), 57–64. 2012.
- KIM YJ et al. 2016. Effect of fermented ginkgo biloba and camelia sinensis-based probiotics on growth performance, immunity and caecal microbiology in broilers. **International Journal of Poultry Science** 15: 62–71.
- KIM, T.; MUNDT, E. Metagenomic analysis of intestinal microbiomes in chickens. In: High-Throughput Next Generation Sequencing. **Humana Press**, Totowa, NJ, 2011. p. 185-194.
- KLASSA, B.; GROSSELI, M. M.; KIYOMURA, A. K.; ALVES, M. J. Q. F. Avaliação do efeito do alho (*Allium sativum* L.) sobre o colesterol plasmático em coelhos com hipercolesterolemia induzida. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15(4): 557-565, 2013.

- KOYAMA, N. T. G.; ROSA, A. P.; PADILHA, M. T. S.; BOEMO, L. S.; SCHER, A.; MELO, A. M. S.; FERNANDES, M. O. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49 (3): 225-231, 2014.
- KONUK, H.B.; ERGÜDEN, B. Phenolic–OH group is crucial for the antifungal activity of terpenoids via disruption of cell membrane integrity. **Folia microbiologica**, p. 1-9, 2020.
- KÜREKCI, C. et al. Effect of essential oil supplementation to diet on meat quality, fatty acid composition, performance parameters and intestinal microbiota of Japanese quails. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 2020.
- KUREKCI, C., AL JASSIM, R., HASSAN, E., BISHOP-HURLEY, S.L., PADMANABHA, J.; MCSWEENEY, C.S. Effects of feeding plant-derived agents on the colonization of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. **Poultry Science**, 93, 2337–2346, 2014.
- LAGO, J.H.G.; ROMOFF, P.; FAVERO, O.A.; SOUZA, F.O.; SOARES, M.G.; BARALDI P.T.; CORRÊA, A.G. Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) essential oils. **Biochemical systematics and ecology**, v. 36, n. 9, p. 737-740, 2008.
- LEE, K. W.; EVERTS, H.; BEYNEN, A. C. Essential oils in broiler nutrition. **International Journal of Poultry Science**, v.3, p.738-752, 2004.
- LEMO, M.J.; CALIXTO, L.F.L.; TORRES-CORDIDO, K.A.A.; REIS, T.L. Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.83 1-7, 2016.
- LENNETTE, E. H.; BALOWS, A.; HAUSLER, W.J.; SHADOWMY, H.J. Manual of Clinical Microbiology. **American Society for Microbiology**, Washington, D.C., 1985.
- LI HL et al. 2015. Phytoncide, phytogetic feed additive as an alternative to conventional antibiotics, improved growth performance and decreased excreta gas emission without adverse effect on meat quality in broiler chickens. **Livestock Science** 181:1–6.
- LIM, H.W.; KIM, H.; KIM, J.; BAE, D.; SONG, K.Y.; CHON, J.W.; SEO, K.H. Antimicrobial effect of *Mentha piperita* (peppermint) oil against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Cronobacter sakazakii*, and *Salmonella* Enteritidis in various dairy foods: Preliminary study. **Journal of Dairy Science and Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 146-154, 2018.
- LIMA, C.B.; MIGOTTO, D.L.; OLIVEIRA, G.R.; SOUZA, T.C.; SANTANA, R.O.; CASTEJON, F.V.; TANURE, C.B.G.S.; SANTANA, A.P.; STRINGHINI, J.H.; RACANICCI, A.M.C. Dietary Supplementation of Barbatimão (*Stryphnodendron Adstringens*) and Pacari (*Lafoensia Pacari*) Extracts on the Oxidative Stability and Quality of Chicken Meat. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.18, p. 669-676, 2016.
- LIMA, L.D.A.; SILVA, F.B.D.; DIAS, M.; STELLA, A.E.; JUNQUEIRA, O.M. Manejo sanitário de aviário de pequeno porte de frangos de corte e presença de *Salmonella* spp. **Higiene alimentar**, p. 1923-1927, 2019.
- LINHARES NETO, M.V.; DA SILVA, R.O.; DE OLIVEIRA, F.F.; COSTA, L.C.B.; CONCEIÇÃO, A.O.; DE OLIVEIRA, R.A. Avaliação anti-Candida of essential oils from three medicinal plants species (Asteraceae). **South African Journal of Botany**, v. 115, p. 132-137, 2018.
- LOPES, C.C; RABELLO, C.B; SILVA, V.A.; et al. Desempenho, digestibilidade, composição corporal e morfologia intestinal de pintos de corte recebendo dietas contendo levedura de cana-de-açúcar. **Acta Sci. Anim. Sci.**, v.33, p.33- 40, 2011.
- LOUREIRO, R.J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A.T.; HERDEIRO, M.T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. v.34, nº.1, p.77-84, 2016.
- LU, J. et al. Identification of chicken-specific fecal microbial sequence using a metagenomics approach. **Water Research**. v.41, n.16, p.3561-74, 2007.
- LUIGGI, F.G.G.; PACHECO, P.D.G.; RACANICCI, A.M.C.; MUYNARSK, E.D.S.M.; FASANARO, R.; SARTORI, J.R. Use of bixin in the broiler diet and its effects on zootechnical performance and meat quality. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. 25(1). 2020.

- LV, F.; LIANG, H.; YUAN, Q.; LI, C. *In vitro* antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. **Food Research International**, v. 44, n. 9, p. 3057-3064, 2011.
- MACARI, M. et al. **Microbiota intestinal de aves**. In: Facta (ed.) Produção de frangos de corte. Campinas. 2014.
- MACEDO, L.N., LUCHESE, R.H., GUERRA, A.F.; BARBOSA, C.G. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. em leite. **Food Science and Technology**, 28(4), 935-942, 2008.
- MACGOWAN, A.P. Clinical implications of antimicrobial resistance for therapy. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 62, n. suppl_2, p. ii105-ii114, 2008.
- MADHUPRIYA V et al. 2018. Phyto Feed Additives in Poultry Nutrition: A Review. **International Journal of Science Education** 7: 815–822.
- MAGIORAKOS, A. P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R. B; CARMELI, Y.; FALAGAS, M. E.; GISKE, C. G. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18(3), p. 268-81. 2012.
- MAHBOUBI, M.; KAZEMPOUR, N. Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil. **Songklanakar J. Sci. Technol**, v. 36, n. 1, p. 83-87, 2014.
- MAHENDRAN, G.; RAHMAN, L.U. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha piperita* L.) - A review. **Phytotherapy Research**, v. 34(9), p. 2088-2139, 2020.
- MAIDALA A et al. 2016. Carcass Yield and Gut Characteristics of Broiler Chickens Fed Different Types of Phytogetic Plant Leaf. **Journal of Science, Technology & Education** 4: 22–29.
- MAJID- ALI CHAND N et al. 2019. Anticoccidial effect of garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) against experimentally induced coccidiosis in broiler chickens. **Journal of Applied Animal Research** 47: 79–84.
- MAJOLO, C. **Antimicrobial activity of the essential oil of medicinal plants against serovars of *Salmonella enterica***. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, Brasil, 89 p. 2013.
- MAZZARRINO, G.; PAPARELLA, A.; CHAVES-LÓPEZ, C.; FABERI, A.; SERGI, M.; SIGISMONDI, C.; COMPAGNONE, D.; SERIO, A. *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* inactivation dynamics after treatment with selected essential oils. **Food Control**, v. 50, p. 794-803, 2015.
- MEHRI, M., SABAGHI, V., BAGHERZADEH-KASMANI, F. *Mentha piperita* (peppermint) in growing Japanese quails' diet: Serum biochemistry, meat quality, humoral immunity. **Animal Feed Science and Technology**, 206, 57–66, 2015.
- MELO, A.D.B.; AMARAL, A.F.; SCHAEFER, G.; LUCIANO, F.B.; DE ANDRADE, C.; COSTA, L.B.; ROSTAGNO, M.H. Antimicrobial effect against different bacterial strains and bacterial adaptation to essential oils used as feed additives. **Canadian journal of veterinary research**, v. 79, n. 4, p. 285-289, 2015.
- MERSEGUEL, C. E. B.; BURBARELLI, M. F. C.; POLYCARPO, G. V.; BORDIN, R. A.; MORO, M. E. G.; ALBUQUERQUE, R. Exigência de proteína bruta para codornas europeias. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.18 (3): 2019.
- MIGOTTO, D.L. **Desempenho e digestibilidade de nutrientes para frangos de corte alimentados com rações contendo extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis*)**. Brasília: Universidade de Brasília, 2015.
- MILLEZI, A. F.; BAPTISTA, N. N.; CAIXETA, D. S.; ROSSONI, D. F.; CARDOSO, M. G.; PICCOLI, R. H. Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de

- plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 1, p. 18-24, 2014.
- MINTEGUIAGA, M.; MERCADO, M.I.; PONESSA, G.I.; CATALÁN, C.A.; DELLACASSA, E. Morphoanatomy and essential oil analysis of *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) from Uruguay. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 488-498, 2018.
- MITROPOULOU, G., FITSIOU, E.; SPYRIDOPOULOU, K.; TIPTIRI-KOURPETI, A.; BARDOUKI, H.; VAMVAKIAS, M.; KOURKOUTAS, Y. Citrus medica essential oil exhibits significant antimicrobial and antiproliferative activity. **LWT**, v. 84, p. 344-352, 2017.
- MOHITI-ASLI M & RASHTI MG. 2018. Comparing the effects of a combined phytogenic feed additive with an individual essential oil of oregano on intestinal morphology and microflora in broilers. **Journal of Applied Animal Research** 46: 184-189.
- MONA AE et al. 2016. Effect of Phytobiotics, Probiotics and Toltrazuril on Chicken Coccidiosis. **Zagazig Veterinary Journal** 44: 214–223.
- MORAIS, L.A.S.; CASTANHA, R.F. Chemical composition of essential oil from two samples of carqueja (*Baccharis* sp.) collected in Paty do Alferes-Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. Special issue, p. 628-632, 2011.
- MOSCATO, A.M.; FEKSA, K.B.; PACHECO, O.S.; KUBIÇA, T.F.; ALVES, S.H.; SHIMÓIA, E.P.; VEIGA, V.V.; HEINZMANN, B.M.; SILVA, L.L. Composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha spicata* e *Mentha piperita* L. cultivadas por hidroponia. **Multiciência online**, v.1, 123-139, 2016.
- MURAROLLI, V.D.A. **Effect of prebiotic, probiotic and symbiotic on performance, intestinal morphology and immunity of broilers**. 101f. Thesis (Master in Veterinary Medicine) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, Pirassununga – SP, 2008
- MURUGESAN, G.R. et al. Phytogenic feed additives as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chickens. **Frontiers in Veterinary Science**. 2: 21, 2015.
- NABIHA, B.; ABDEL FATTEH, E.O.; FATEN, K.; HERVÉ, C.; MONCEF, C.M. Chemical composition of bergamot (*Citrus bergamia* Risso) essential oil obtained by hydrodistillation. **J. Chem. Chem. Eng**, v. 4, p. 29, 2010.
- NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Eighth Edition**. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
- NEPOMOCENO, T. A. R.; PIETROBON, A. J. *Melaleuca alternifolia*: uma revisão sistemática da literatura brasileira. **Revista uningá review**, v. 35, p. eRUR3409-eRUR3409, 2020.
- NIETO CA et al. 2018. Effect of two chemotypes of oregano essential oil on Broiler performance, nutrient balance, and lipid Peroxidation of breast meat during storage. **Brazilian Animal Science** 19: 1-15.
- NOLETO RA et al. 2018. Supplementation of copaiba or sucupira oils in broiler diets. **Brazilian Journal of Health and Animal Production** 19: 83-92.
- NORDESTGAARD, B.G.; LANGSTED, A.; MORA, S. et al. European Atherosclerosis Society (EAS) and the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) joint consensus initiative. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points—a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. **European Heart Journal**, v.37(25):1944-58, 2016.
- OLIVEIRA, A.C.M; FONTANA, A.; NEGRINI, T.C.; NOGUEIRA, M.N.M.; BEDRAN, T.B.L.; ANDRADE, C.R.; SPOLIDORIO, L.C.; SPOLIDORIO, D.M.P. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n. 4, p. 492-499, 2011.

- OLIVEIRA, S.D.; FLORES, F.S.; SANTOS, L.R.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella Enteritidis* strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. **International Journal of Food Microbiology**, v.97, n.3, p.297-305, 2005.
- OLIVEIRA, S.Q.; TRENTIN, V.H.; KAPPEL, V.D.; BARELLI, C. GOSMANN, G.; REGINATTO, F.H. Screening of Antibacterial Activity of South Brazilian *Baccharis* Species. **Pharmaceutical biology**, v. 43, n. 5, p. 434-438, 2005.
- OLUKOSI AO et al. 2014. Modification of digesta pH and intestinal morphology with the use of benzoic acid or phytobiotics and the effects on broiler chicken growth performance and energy and nutrient utilization. **Journal of Animal Science** 92: 3945–3953.
- OLUWAFEMI, R.A.; OLAWALE, I.; ALAGBE, J.O. Recent trends in the utilization of medicinal plants as growth promoters in poultry nutrition-A review. **Research in: Agricultural and Veterinary Sciences**, v. 4(1), p. 5-11, 2020.
- OSTROSKY, E.A.; MIZUMOTO, M.K.; LIMA, M.E.; KANEKO, T.M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.
- PAIXÃO, L. A.; CASTRO, F. F. S. Colonization of the intestinal microbiota and its influence on health host. **Universitas: Ciências da Saúde**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 85-96, 2016.
- PALÁCIO, C.P.A.M.; BIASI, L.A.; NAKASHIMA, T.; SERRAT, B.M. Biomass and carqueja essential oil (*Baccharis trimera* (Less) DC.) Under the influence of sources and doses of nitrogen. **Rev Bras Plantas Med**, v. 9, n. 3, p. 58-63, 2007.
- PALERMO-NETO, J. O problema do uso inadequado de antibióticos na produção de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. s199-s208, 2007.
- PALERMO-NETO, J.; ALMEIDA, R.T. Antimicrobials as additives in farm animals. In: **Pharmacology applied to veterinary medicine** (Ed. Spinoza H, Górnica SL & Bernardi MM; Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brazil), 2006, 641-658.
- PANDINI, J. A.; PINTO, F. G. D. S.; MULLER, J. M.; WEBER, L. D.; & MOURA, A. C. D. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82. 2014.
- PARASKEUAS, V. et al. Growth performance, nutrient digestibility, antioxidant capacity, blood biochemical biomarkers and cytokines expression in broiler chickens fed different phytogetic levels. **Animal Nutrition**. 3(2):114-120, 2017.
- PARKS, D.H., TYSON, G.W., HUGENHOLTZ, P., BEIKO, R.G. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. **Bioinformatics**, 30(21), 3123-3124, 2014.
- PATI P et al. 2015. Effect of inclusion of ginger (*Zingiber officinale*) waste meal in the diet on broiler performance. **Indian Journal of Animal Nutrition** 32: 305–309.
- PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; FIGUEIREDO, D.F.; BOIAGO, M.M.; CARVALHO, S.R.; BORDON, V.F. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 7, n. 4, p. 221-229, 2005.
- PELÍCIA VC et al. 2015. Tropic action of phytogetic additives, glutamine and glutamic acid on Bursa Fabricio and small intestines of broilers. **Brazilian Veterinary Research** 35: 691-699.
- PERIĆ, L.; ŽIKIĆ, D.; LUKIĆ, M. Application of alternative of growth promoters in broiler production. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v.25, p.387-397, 2009.
- PILARSKI, F.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. Isolamento e resistência a antimicrobianos de cepas de *Streptococcus* spp. provenientes de rês-touro (*Lithobates catesbeianus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 5, p. 1275-1279, 2010.
- PINHEIRO, S. R. F.; DUMONT, M. A.; PIRES, A. V.; BOARI, C. A.; MIRANDA, J. A.; OLIVEIRA, R.G. FERREIRA, C. B. Rendimento de carcaça e qualidade da carne de codornas de corte alimentadas com rações de diferentes níveis de proteína e suplementadas com aminoácidos essenciais. **Ciência Rural**, v.45(2): 292-297, 2015.

- PIZZIOLO, V. R.; BRASILEIRO, B. G.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J. Plantas com possível atividade hipolipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13(1): 98-109, 2011.
- PRAJAPATI, D.R.; PATEL, V.R.; RAVAL, A.P.; PARMAR, A.B.; LONDHE, A.; & PATEL, S.S. Essential Oils: Alternative to Improve Production, Health and Immunity in Poultry. **Journal of Tropical Animal Research**, 1(3), 26-32, 2021.
- PULICI PMM et al. 2014. Use of essential oil of oregano, salinomycin and zinc bacitracin in the diet of broilers. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** 51:131.
- PUVACA N et al. 2015. Effect of garlic, black pepper and hot red pepper on productive performances and blood lipid profile of broiler chickens. **European Poultry Science** 79.
- PUVAČA, N. et al. Beneficial effects of phytoadditives in broiler nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, n. 1, p. 27-34, 2013.
- PUVAČA, N.; ČABARKAPA, I.; PETROVIĆ, A.; BURSIĆ, V.; PRODANOVIĆ, R.; SOLEŠA, D.; & LEVIĆ, J. Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and its essential oil: antimicrobial, antioxidant and acaricidal effects in poultry production. **World's Poultry Science Journal**, 75(2), 235-246, 2019.
- QUIRINO, A.; MORELLI, P.; CAPUA, G.; ARENA, G.; MATERA, G.; LIBERTO, M.C.; FOCÀ, A. Synergistic and antagonistic effects of *Citrus bergamia* distilled extract and its major components on drug resistant clinical isolates. **Natural product research**, v. 34, n. 11, p. 1626-1629, 2020.
- RAEISI, M.; HASHEMI, M.; ANSARIAN, E.; HEJAZI, J.; HASSANZAD AZAR, H.; DANESHAMOOZ, S.; AMINZARE, M. Antibacterial effect of *Mentha piperita* essential oil against foodborne pathogens in minced meat during storage at abuse refrigeration temperature. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v.7 (8), p. 720-726. 2019.
- RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Avaliação da qualidade de carnes - Fundamentos e metodologias. In: _____. **Avaliação de carnes anormais: condições PSE e DFD**. Viçosa: UFV, 2007a. Cap.10, p.531-575.
- RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Avaliação da qualidade de carnes - Fundamentos e metodologias. In: _____. **Avaliação objetiva da cor**. Viçosa: UFV, 2007b. Cap.7, p.287-374.
- RAO, J.; CHEN, B.; MCCLEMENTS, D.J. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action. **Annual review of food science and technology**, v. 10, p. 365-387, 2019.
- RAPHAËL KJ et al. 2017. Effect of Dietary Mimosa Small Bell (*Dichostachys glomerata*) Fruit Supplement as Alternative to Antibiotic Growth Promoter for Broiler Chicken. **Journal of World's Poultry Research** 7: 27–34.
- RAZA T et al. 2016. Improving the fatty acid profile in egg yolk through the use of hempseed (*Cannabis sativa*), ginger (*Zingiber officinale*), and turmeric (*Curcuma longa*) in the diet of Hy-Line White Leghorns. **Archives Animal Breeding** 68:183–190.
- REDA, F. M. et al. Use of red pepper oil in quail diets and its effect on performance, carcass measurements, intestinal microbiota, antioxidant indices, immunity and blood constituents. **Animal**, v.14, n.5, p. 1025-1033, 2020.
- REGITANO, J. B.; & LEAL, R. M. P. Performance and environmental impact of antibiotics in animal production in Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 3, p. 601-616, 2010.
- REIS JH et al. 2018. Effects of phytogenic feed additive based on thymol, carvacrol and cinnamic aldehyde on body weight, blood parameters and environmental bacteria in broilers chickens. **Microbial Pathogenesis** 125: 168-176.
- REIS, J.S.; DIONELLO, N.J.L.; NUNES, A.P.; LOPES, D.C.N.; GOTUZZO, A.G.; TYSKA, D.U.; RUTZ, F. Morfometria intestinal em codornas de corte alimentadas com treonina

- digestível. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68(4): 983-990, 2016.
- REZAEI, M.; KARIMI TORSHIZI, M.A.; WALL, H.; IVARSSON, E. Body growth, intestinal morphology and microflora of quail on diets supplemented with micronised wheat fibre. **British poultry science**, v.59, n.4, p. 422-429, 2018.
- REZENDE, M. J. M.; FLAUZINA, L. P.; MCMANUS, C.; OLIVEIRA, L. Q. M. Desempenho produtivo e biometria das vísceras de codornas francesas alimentadas com diferentes níveis de energia metabolizável e proteína bruta. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v26(3): 353-358, 2004.
- RIBEIRO, A.R.; KELLERMANN, A.; SANTOS, L.R.; FITTÉL, A.P.; NASCIMENTO, V.P. Resistência antimicrobiana em *Salmonella enterica* subsp. Enterica sorovar Hadar isoladas de carcaças de frango. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.3, p.357-360, 2006.
- RIED K. 2016. Garlic Lowers Blood Pressure in Hypertensive Individuals, Regulates Serum Cholesterol, and Stimulates Immunity: An Updated Meta-analysis and Review. **Journal of Nutrition** 146: 389S-396S.
- RIZZO, P.V.; MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M.C.; TRALDI, A.B.; SILVA, C.S.S.; PEREIRA, P.W.Z. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.801-807, 2010.
- ROCA, I.; AKOVA, M.; BAQUERO, F.; CARLET, J.; CAVALERI, M.; COENEN, S. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. **New microbes and new infections**, v. 6, p. 22-29, 2015.
- ROLDÁN, L.P.; DÍAZ, G.J.; DURINGER, J.M. Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the Lamiaceae family against pathogenic and beneficial bacteria. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 23, n. 4, p. 451-461, 2010.
- ROSADO A.I.R. **Molecular bases of virulence and antibiotic resistance in *Escherichia coli*: mutation, recombination and horizontal transfer**. Ph.D. thesis, Sevilla University, Sevilla, 2019.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4a Ed, 2017.
- RUBEN NT et al. 2018. Effects of dietary thyme and oregano essential oils entrapped in chitosan and Canarium charcoal stable matrix on growth performances in broiler chickens. **International Journal of Innovation and Applied Studies** 22: 114-122.
- SAH, Archana N.; JUYAL, Vijay; MELKANI, Anand B. Antimicrobial activity of six different parts of the plant *Citrus medica* Linn. **Pharmacognosy journal**, v. 3, n. 21, p. 80-83, 2011.
- SAKI, A.A.; SAHEBI ALA, F.; ZAMANI, P.; ALIPOUR, D.; ABBASINEZHAD, M. Japanese quail performance, intestinal microflora, and molecular responses to screened wheat and multienzyme diet. Turkish. **Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 41, 30–37, 2017.
- SANDIKCI, M., EREN, U., ONOL, A., KUM, S. The effect of heat stress and the use of *Saccharomyces cerevisiae* or (and) bacitracin zinc against heat stress on the intestinal mucosa in quails. **Revue De Médecine Vétérinaire**, 155, 552–556, 2004.
- SANTOS, A.L.; SKOMURA, N.K.; FREITAS, E.R.; FORTES, C.M.L.S; CARRILHO, E.N.V.M.; FERNANDES, J.B.K. Growth, performance, carcass yield and meat quality of three broiler chickens strains. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1589-1598, 2005.
- SANTOS, V.M.F. **Characterization of the terpenic volatile fraction of bitter gorse samples (*Baccharis trimera*)**, monography, Unirio, Rio de Janeiro, 2018.
- SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela

- frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808. 2007.
- SAÑUDO, C.A. The organoleptic quality of the meat (IV): special reference to sheep. **Livestock World**. 2, 67-69, 1993.
- SAS user's guide: statistics. Cary, NC: SAS Institut, 2008.
- SCHAUS KOCH, L.F. Importancia y funcionalidad de probióticos en la producción de pollos de engorde. **Trabajo de investigación**, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 26 p. 2020.
- SCHMIDT, F.B.; MARQUES, L.M.; MAYWORM, M.A.S. Efeito da sazonalidade sobre o potencial antibacteriano de extratos etanólicos de *Baccharis trimera* (Less.) DC.(Asteraceae). **Rev Bras Plant Med**, v. 10, p. 1-5, 2008.
- SCHNEIDER, T.; GRIES, K.; JOSTEN, M.; WIEDEMANN, I.; PELZER, S.; LABISCHINSKI, H.; SAHL, H.G. The Lipopeptide Antibiotic Friulimicin B Inhibits Cell Wall Biosynthesis through Complex Formation with Bactoprenol Phosphate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 4, p.1610-1618, 2009.
- SHAH, M.A.; BOSCO, S.J.D.; MIR, S.A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, 98, 21–33, 2014.
- SHAOXIAN, D.; YIFANG, Z.; JIE, Y.; SHAOGANG, D.; JINLING, Z.; YUNJUAN, Z.; NANA, Z.; JUN, C. **Lactobacillus agilis and its application**. Qujing Qiancun Agriculture and Animal Husbandry Technology Co., Ltd. CN105950496A, p.12, 2016.
- SHEORAN N et al. 2017. Nutrigenomic evaluation of garlic (*Allium sativum*) and holy basil (*Ocimum sanctum*) leaf powder supplementation on growth performance and immune characteristics in broilers. **Veterinary World** 10: 121–129.
- SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella Enteritidis* em aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.4, n.2, p.85-100, 2002.
- SILVA, F.; PARK, K.J.; MAGALHÃES, P.M.; MARTINS, G.N.; GAMA, E.V.S. Avaliação do teor de óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em diferentes embalagens durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 54-58, 2013.
- SILVA, J. E. S.; MOURA, A. M. A.; NOGUEIRA, R. A. Efeito dos ácidos graxos essenciais sobre lipídemia e vascularização da membrana vitelina de codornas japonesas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.6, p.1603-1612, 2012.
- SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P. **Tabela para codornas japonesas e europeias**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP. 110p. 2009.
- SIMÕES CMO et al. 2017. **Pharmacognosy: from natural product to medicine**. Porto Alegre: Artmed.
- SIMÕES-PIRES, C.A.; DEBENEDETTI, S.; SPEGAZZINI, E.; METZ, L.A.; MATZENBACHER, N.I.; LIMBERGER, R.P. & HENRIQUES A.T. Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belong to sect. Caulopterae (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach. **Plant Systematics and Evolutions**, 253: 23-32, 2005.
- SINGH, J.; SETHI, A. P. S.; SIKKA, S.S.; CHATLI, M.K.; KUMAR, P.. Effect of sun dried whole bulb garlic powder on growth, carcass characteristics and meat quality of commercial broilers. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 85, n. 1, p. 67–71. 2015.
- SINGH, R.; SHUSHNI, M.A.M.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 322-328, 2015.
- SKOUFOS I et al. 2016. Effects of oregano essential oil and attapulgitite on growth performance, intestinal microbiota and morphometry in broilers. **South African Journal of Animal Science** 46: 77-88.
- SOKOVIĆ, M, D.; VUKOJEVIĆ, J.; MARIN, P.D.; BRKIĆ, D.D.; VAJS, V.; VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. Chemical composition of essential oils of thymus and mentha species and their antifungal activities. **Molecules**, v. 14, n. 1, p. 238-249, 2009.

- SOUZA, E.L. **Antimicrobial potential of oregano essential oil (*Origanum vulgare*): An approach for use in food preservation systems**. Ph.D. thesis, Federal University of Pernambuco, Recife, 2006.
- SOUZA, R.B.; FERRARI, R.G.; MAGNANI, M.; KOTTWITZ, L.B.M.; ALCOCCER, I.; TOGNIM, M.C.B.; OLIVEIRA, T.C.R.M. Ciprofloxacin susceptibility reduction of *Salmonella* strains isolated from outbreaks. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.41, n.1, p.497-500, 2010
- STANTON, T.B. A call for antibiotic alternatives research. **Trends in Microbiology**, v.21 (3): p 111-113, 2013.
- SULTAN, A., ULLAH, I., KHAN, S., KHAN, R. U., UL HASSAN, Z. Impact of chlorine dioxide as water acidifying agent on the performance, ileal microflora and intestinal histology in quails. **Archives Animal Breeding**, 57, 1–9, 2014.
- SUZUKI, E.Y.; CANESCHI, C.A.; COSTA, R.F.; BRANDÃO, M.A.F.; REZENDE, N.B.P. Aceite esencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Carqueja-amarga): actividad antimicrobiana. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 3, p. 346-358, 2016.
- TEIXEIRA, B.B.; PIRES, A. V.; VELOSO, R. C.; GONÇALVES, F. M.; DRUMOND, E. S. C.; PINHEIRO, S. R. F. Desempenho de codornas de corte submetidas a diferentes níveis de proteína bruta e energia metabolizável. **Ciência Rural**, v.43 (3): 524-529, 2013.
- THOMAS. D, W. GREER. F.R: Probiotics and prebiotics in pediatrics. **Pediatrics**, v. 126, p. 1217-1231, 2010.
- TRAESELI, C.K.; LOPES, S.T.A.; WOLKMER, P.; SCHMIDT, C.; SANTURIO, J.M.; ALVES, S.H. Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**, v.41, n.2, p.278-284, 2011.
- TRAJANO, V.N.; LIMA, E.D.O.; SOUZA, E.L.D.; TRAVASSOS, E.R.A. Antibacterial property of spice essential oils on food contaminating bacteria. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.
- TREVISAN, S.C.C.; MENEZES, A.P.P.; BARBALHO, S.M.; GUIGUER, É.L. Propriedades da mentha piperita: uma breve revisão. **World Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, v. 3, n. 1, pág. 309-13, 2017.
- TURCU RP et al. 2018. Effect of the dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) powder and oil on the balance of the intestinal microflora of broilers reared under heat stress (32°C). **Animal Science** 51: 77-86.
- TYAGI, A.K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food control**, v. 22, n. 11, p. 1707-1714, 2011.
- VALERIANO, C.; PICCOLI, R.H.; CARDOSO, M.G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.
- VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PALA, G.; JESUS, R.B.; KOTZENT, S.; COSTA, J.C.; SILVA, T.F.A.; PILARSKI, F. Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. **Aquaculture Research**. P.1–10, 2017.
- VÁZQUEZ RS et al. 2015. Performance of broiler chickens supplemented with Mexican oregano oil (*Lippia berlandieri Schauer*). **Brazilian Journal of Animal Science** 44: 283–289.
- VERZERA, A.; TROZZI, A.; GAZEA, F.; CICCARELLO, G.; COTRONEO, A. Effects of rootstock on the composition of bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 1, p. 206-210, 2003.
- VINCENT, S.J.F.; FABER, E.J.; NEESER, J.R.; STINGELE, F.; KAMERLING, J.P. Structure and properties of the exopolysaccharide produced by *Streptococcus macedonicus*. **Glycobiology**, 11(2), 131-139. 2001.

- WATI T et al. 2015. Comparative efficacy of a phytogetic feed additive and an antibiotic growth promoter on production performance, caecal microbial population and humoral immune response of broiler chickens inoculated with enteric pathogens. **Animal Nutrition** 1: 213–219.
- WAYNE, P. A. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-fourth informational supplement, M100-S24. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**, v. 34, n. 1, 2014.
- WHO. (2016). **Estimates of the global burden of foodborne diseases**: Foodborne disease burden epidemiology reference group (2007-2015). In WHO Library Cataloguing in - Publication Data, 2016. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165eng.pdf?ua=>>. Acessado em 15 de maio de 2021.
- WIERSEMA, M.L. et al. Comparison of intestinal permeability, morphology, and ileal microbial communities of commercial hens housed in conventional cages and cage-free housing systems. **Poultry Science**, 2020.
- WILKINSON, N.; HUGHES, R.J.; ASPDEN, W.J.; CHAPMAN, J.; MOORE, R.J.; STANLEY, D. The gastrointestinal tract microbiota of the Japanese quail, *Coturnix japonica*. **Applied microbiology and biotechnology**, v.100 (9): 4201-4209. 2016.
- WILLIAMS, J.; MALLET, S.; LECONTE, M.; LESSIRE, M.; GABRIEL, I. The effects of fructo-oligosaccharides or whole wheat on the performance and digestive tract of broiler chickens. **Br. Poult. Sci.** 49, 329–339, 2008.
- XIA, Y.; KONG, J.; ZHANG, G.; ZHANG, X.; SEVIOUR, R.; & KONG, Y. Effects of dietary inulin supplementation on the composition and dynamics of cecal microbiota and growth-related parameters in broiler chickens. **Poultry science**, 98(12), 6942-6953, 2019.
- YARI P et al. 2014. Productive and serum biological responses of broiler chicks to use of different patterns of diet formulation. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences** 4: 459-464.
- ZAMORA, GM et al 2017. Performance, blood parameters, and carcass yield of broiler chickens supplemented with Mexican oregano oil. **Brazilian Journal of Animal Science** 46: 515–520.
- ZHAI H et al. 2018. Pontential of essential oils for poultry and pigs. **Animal Nutrition** 4: 179-186.
- ZHANG, X.; GUO, Y.; GUO, L.; JIANG, H.; JI, Q. In vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Melaleuca alternifolia* essential oil. **BioMed research international**, v. 2018, 2018.
- ZHANG, Y.J. et al. Impacts of Gut Bacteria on Human Health and Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**. v.16, n.4, p.7493–7519. Hong Kong, 2015.
- ZIMERMAN, R.A. **Indiscriminate use of antimicrobials and microbial resistance**. (OPAS Brasília, DF: Brazil), 1, 2010.
- ZSAK, L. et al. The complete genome sequence and genetic analysis of ΦCA82 a novel uncultured microphage from the turkey gastrointestinal system. **Viol. J.** v.8, p.331, 2011.

ANEXO A**Certificado protocolo CEUA 016/2018**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 016/18**, relativo ao projeto intitulado, **“Aditivos fitogênicos em dietas de codornas de corte”** da **Dra. Camila Meneghetti**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UESC)**. Este protocolo foi aprovado dia 31/08/2018. Este certificado tem validade de 3 (três) anos, a partir da data de sua emissão.

Ilhéus, 31 de agosto de 2018

Rosana Maria de Oliveira Clark
Coordenadora da CEUA-UESC

Rosana Maria de Oliveira Clark
Coordenadora da CEUA-UESC
Cad.: 73.509.169-3