

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
AGRÍCOLA  
CURSO DE MESTRADO**

**EXTRATOS VEGETAIS COMO TRATAMENTO ALTERNATIVO  
PARA REUTILIZAÇÃO DE CAMA DE FRANGO**

**PEDRO PAULO DE JESUS PIMENTEL**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**JULHO - 2018**

# **EXTRATOS VEGETAIS COMO TRATAMENTO ALTERNATIVO PARA REUTILIZAÇÃO DE CAMA DE FRANGO**

**PEDRO PAULO DE JESUS PIMENTEL**

Biólogo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientadora: Isabella de Matos Mendes da Silva

Coorientador: Ricardo Mendes da Silva

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**JULHO – 2018**

## FICHA CATALOGRÁFICA

P644e	<p>Pimentel, Pedro Paulo de Jesus. Extratos vegetais como tratamento alternativo para reutilização de cama de frango / Pedro Paulo de Jesus Pimentel._ Cruz das Almas, BA, 2018. 90f.; il.</p> <p>Orientadora: Isabella de Matos Mendes da Silva. Coorientador: Ricardo Mendes da Silva.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrária, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Frango de corte – Alimentos. 2.Frango de corte – Microbiologia. 3.Extratos vegetais – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrária, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 636.5085</p>
-------	--

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.  
Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).  
Os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
AGRÍCOLA  
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
PEDRO PAULO DE JESUS PIMENTEL**

*Isabella de Matos Mendes da Silva*

---

Dra. Isabella de Matos Mendes da Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Orientadora

*Ludmilla Santana Soares e Barros*  
*Ludmilla Santana Soares e Barros*

---

Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

*Aline Simões da R. Bispo*

---

Dra. Aline Simões da Rocha Bispo  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

“Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola em \_\_\_\_\_ conferindo o grau de Mestre em Microbiologia Agrícola em \_\_\_\_\_.”

*À minha mãe Sonice, pelas orações, pela  
confiança e por sonhar os meus sonhos.  
Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus

Aos meus pais, Sonice e Adilson, por acreditarem em mim e me tornarem o que sou.

A Wellington Ramos, por todo amor, apoio em momentos difíceis, paciência, incentivo, confiança e companheirismo, demonstrados a cada dia, em todos os seus gestos.

A Cassio Duarte, meu amigo e irmão, por toda confiança depositada e nunca duvidar do meu potencial. *Demaaaais!*

A todos os amigos que sempre torcem por mim, emanam pensamentos positivos e vibram juntos a cada objetivo alcançado, em especial Tamires Teles, Gabriella Fiais, Millena Nicacio, Jadson Souza, Carine Brasil, Ediane Matos, Rafael Lopes, Joana Alves, Neuma Alves, Matheus Abdon, Neza Moura, Rafael Nunes, Lays Brito e Genesy Martins.

A Luan Deiró e Ynham Rafael Soares por todo apoio e torcida durante o processo seletivo no PPGMA. Vocês foram fundamentais!

A André Alves por toda paciência e delicadeza no auxílio das análises estatísticas.

A todas amigas da turma PPGMA 2016.2 – especialmente Daniela Freire e Mariana Real – pelos risos e abraços, essenciais para tornar essa trajetória menos solitária.

À Mestra Carla Barbosa pela paciência e por todo ensinamento sobre os testes de atividade antimicrobiana dos extratos vegetais.

Às professoras do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola pelos ensinamentos.

À professora Dra. Isabella de Matos Mendes da Silva pelo exemplo de profissionalismo, humanidade e sensibilidade com a profissão, cuja excepcional orientação foi essencial para realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Ricardo Mendes da Silva por todos os ensinamentos, confiança e auxílio na construção deste trabalho.

À Profa. Dra. Floricea Magalhães Araújo pela concessão do Laboratório de Química Orgânica e auxílio na análise fitoquímica dos extratos vegetais.

Ao Professor Dr. Fabio de Oliveira pela disponibilidade do Laboratório de Química.

Ao Professor Dr. Paulo José Lima Juiz pelas orientações na área dos extratos vegetais.

A Marcus Paulo de Matos Maturino pela disponibilidade da Granja Maturino para realização do estudo.

A Jocivaldo Silva pela troca de saberes e por todo apoio, acolhimento e auxílio nas coletas das amostras.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 2

Tabela 1 - Valores de Concentração Mínima Inibitória ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ) e Concentração Bactericida Mínima ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ) dos extratos aquosos de <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> e <i>Thymus vulgaris</i> frente a cepas padrão e microrganismos isolados em cama de frango.....	61
Tabela 2 - Prospecção fitoquímica de metabólitos secundários nos extratos aquosos das ervas condimentares. ....	65

### Capítulo 3

Tabela 1 – Comparação da presença de microrganismos em camas de frango nova e após criação de um lote de aves (usada).....	77
--	----



## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

Figura 1 – Prancha botânica de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	42
Figura 2 – Prancha botânica de <i>Thymus vulgaris</i> L. ....	44
Figura 3 – Prancha botânica de <i>Foeniculum vulgare</i> G.....	46

### Capítulo III

Figura 1 – Efeitos da aplicação do extrato aquoso de tomilho sobre a população de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> ( $\log_{10}$ UFC.g <sup>-1</sup> ).....	80
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
AOAC	Association of Analytical Communities
APEC	<i>Escherichia coli</i> Patogênica Para Aves
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	<i>Brian Heart Infusion</i>
BP	<i>Baird-Parker</i>
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CMH	Caldo <i>Müller Hinton</i>
DAEC	<i>Escherichia coli</i> que adere difusamente
DMSO	Dimetilsufóxido
DNC	Doença de Newcastle
DTA	Doenças Transmitidas Por Alimentos
EAEC	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa
EHEC	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva
EMB	Eosina Azul de Metileno
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatogênica
ETEC	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica
GLOBAL G.A.P	Good Agricultural Practices GAP

IA	Influenza Aviária
IN	Instrução Normativa
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NMEC	<i>Escherichia coli</i> meningite neonatal
SIF	Serviço de Inspeção Federal
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UPEC	<i>Escherichia coli</i> uropatogênica

# ÍNDICE

Página

**RESUMO**

**ABSTRACT**

**INTRODUÇÃO.....15**

## **CAPÍTULO 1**

Revisão de Literatura: Qualidade microbiológica de camas de frango e métodos de tratamentos visando a sua reutilização ..... 18

RESUMO..... 19

ABSTRACT .....21

PANORAMA DA AVICULTURA BRASILEIRA .....22

CAMA DE FRANGO.....23

REUTILIZAÇÃO DE CAMAS DE FRANGO .....26

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA CAMA DE FRANGO .....30

*Salmonella* spp..... 32

*Escherichia coli* .....34

*Staphylococcus* spp. ....36

ANTIMICROBIANOS NA INDÚSTRIA AVÍCOLA .....37

O USO DE FITOTERÁPICOS NA AVICULTURA .....39

ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.) .....42

TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.).....44

ERVA-DOCE (*Foeniculum vulgare* G.).....45

**REFERÊNCIAS.....43**

## **CAPÍTULO 2**

Atividade antimicrobiana de ervas condimentares frente a microrganismos isolados em cama de frango .....	56
RESUMO.....	57
ABSTRACT .....	57
INTRODUÇÃO .....	58
MATERIAL E MÉTODOS .....	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
CONCLUSÃO.....	67
AGRADECIMENTOS .....	67
LITERATURA CITADA.....	67

### **CAPÍTULO 3**

Extrato aquoso de tomilho reduz carga bacteriana em cama de frango .....	73
RESUMO.....	73
ABSTRACT .....	73
INTRODUÇÃO .....	74
MATERIAL E MÉTODOS .....	75
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
CONCLUSÃO.....	82
AGRADECIMENTOS .....	83
REFERÊNCIAS.....	83
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>86</b>

## RESUMO

### Pimentel, P. P de J. EXTRATOS VEGETAIS COMO TRATAMENTO ALTERNATIVO PARA REUTILIZAÇÃO DE CAMA DE FRANGO

O trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris* e *Rosmarinus officinalis* frente a cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. isoladas a partir de amostras de cama de frango e avaliar a eficácia do uso do extrato aquoso de *T. vulgaris* em diferentes concentrações para redução de *E. coli* e *S. aureus* em cama de frango. Os extratos vegetais foram produzidos pelo método de infusão e a avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, visando determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Para isolamento das cepas de *E. coli* e *Salmonella* sp. foi utilizado o ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) e para cepa de *S. aureus* foi utilizado o ágar *Baird Parker*. Os isolados foram preservados em glicerol 15% e em caldo *Brian Heart Infusion* (BHI) a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Realizou-se triagem fitoquímica para detectar a presença de metabólitos secundários nos extratos. Para avaliação dos efeitos do extrato de *T. vulgaris* sobre a microbiota da cama de frango foi realizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com dois fatores. Os resultados foram submetidos à análise variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o *software* estatístico R. O extrato de *T. vulgaris* apresentou maior atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados, com valores de CIM entre 20 e  $2,5\text{mg.mL}^{-1}$ , além de possuir todos os metabólitos secundários prospectados na triagem fitoquímica. O extrato de *F. vulgare* não foi capaz de inibir o crescimento de *E. coli* e não foi detectada a presença de alcaloides e saponinas nesse extrato. O extrato de *R. officinalis* não foi capaz de inibir o crescimento dos microrganismos testados, ao passo que foi o extrato com menor quantidade de metabólitos secundários prospectados na triagem fitoquímica. Foi possível observar que os fatores tempo e tratamento causam um efeito simultâneo na contagem das bactérias na cama de frango. Houve redução significativa de *E. coli* e *S. aureus* dois dias após aplicação do extrato de *T. vulgaris*. A aplicação do extrato na concentração de  $60\text{mg.mL}^{-1}$

apresentou melhores resultados quando comparados com a aplicação do extrato na concentração de 30mg.mL<sup>-1</sup> por exibir efeitos mais duradouros, inibindo o crescimento bacteriano por até cinco dias após a aplicação do extrato. A cama de frango nova, embora não tenha apresentando presença de *Salmonella* spp. e com baixa contagem de *S. aureus*, apresentou elevada contagem de *E. coli*, não diferindo significativamente ( $p>0,05$ ) da contagem na cama de frango após criação de um lote de aves. Os resultados encontrados nesta pesquisa apontam para o potencial antimicrobiano dos extratos vegetais contra microrganismos de origem avícola, além da potencialidade da utilização do extrato de *T. vulgaris* enquanto alternativa para o tratamento da cama de frango.

**Palavras-chave:** Avicultura. Compostos bioativos. Insumos avícolas. Tomilho. Alimentos seguros.

## ABSTRACT

### Pimentel, P. P de J. VEGETABLE EXTRACTS AS ALTERNATIVE TREATMENT FOR REUSE OF BROILER CHICKEN

The objective of this research was to evaluate an antimicrobial activity of the aqueous extract of *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris* and *Rosmarinus officinalis* against strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. isolated from broiler litter samples and evaluate the use of aqueous extract of *T. vulgaris* in different concentration for reduction of *E. coli* and *S. aureus* in broiler litter. The extracts were produced by the infusion method and by the evaluation of the antimicrobial activity, being determined by the broth microdilution method, directed to a Minimum Inhibitory Concentration (MIC). For the isolation of strains of *E. coli* and *Salmonella* spp. Methylene Blue Eosin (EMB) was used and Baird Parker was used for the *S. aureus* strain. Those were preserved in 15% glycerol and in Brian Heart Infusion broth (BHI) at -20°C. Phytochemical screening was performed to detect the presence of secondary metabolites in the extracts. To evaluate the effects of the *T. vulgaris* extract on the broiler litter microbiota, a completely randomized design (DIC) with two factors was performed. The results were submitted to the analysis of variance and the means were compared by the Tukey test at the level of 5% of significance, using statistical software R. The extract of *T. vulgaris* presented greater antimicrobial activity against all the microorganisms tested, with values of MIC between 20 and 2.5mg.mL<sup>-1</sup>, besides possessing all the secondary metabolites prospected in the phytochemical screening. The extract of *R. officinalis* was not able to inhibit the growth of the microorganisms tested, whereas the extract with less amount of metabolites was prospected in the phytochemical triage. From the DIC experiment it was possible to observe the time variables and the process caused a simultaneous effect on the counting of the bacteria in the broiler litter. By the Tukey test at the 5% level of significance, there was a significant reduction of *E. coli* and *S. aureus* two days after the application of the *T. vulgaris* extract. The application of the 60mg.mL<sup>-1</sup> extract yields positive results when compared to the extraction of 30mg.mL<sup>-1</sup> by presenting adverse effects, inhibiting bacterial growth



for up to five days after the application of the extract. A new broiler litter, though with the free *Salmonella* spp. and with the *S. aureus* count, abundant in the *E. coli* count, did not differ significantly ( $p < 0.05$ ) from the count in the broiler litter after the creation of a batch of birds. The results obtained were aimed at the antimicrobial potential of the plant extracts against microorganisms of aerial origin, besides the potential use of the extraction of *T. vulgaris* alternative alternative for the treatment of broiler litter.

**Keywords:** Poultry farming. *Rosmarinus officinalis*. Poultry inputs. Cellulitis. Safe food.

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a indústria avícola brasileira tem adquirido posição de destaque no cenário nacional e tem se tornado cada vez mais presente também no mercado internacional. Entre todos os produtos exportados, a carne de frango ocupa lugar de destaque, estando entre os 10 primeiros na pauta de exportação (ABPA, 2017).

Com os constantes investimentos no setor, sobretudo no que diz respeito às tecnologias de abate e produção, a avicultura brasileira mostra-se a cada dia uma atividade lucrativa e que representa impacto direto na economia do país, que alavanca o mercado agropecuário desde a produção de grãos até as exportações mundiais de carne.

O Brasil ocupa posição de destaque no mercado internacional, sendo considerado o segundo maior produtor de carne de frango do mundo. No mercado das exportações, em 2015 o país passou ocupar a primeira colocação entre os países exportadores, ao lado dos Estados Unidos e Tailândia. Paralelamente, a demanda do mercado interno cresce a cada dia, sendo a carne de frango a mais consumida em todo território nacional, alcançando consumo per capita expressivamente maior que outras carnes (BRASIL, 2015).

Entre os principais fatores que contribuem para o sucesso da atividade avícola nacional estão os baixos custos de produção, quando comparados com outras atividades e a busca contínua no atendimento às exigências de diferentes mercados, incluindo a sanidade dos lotes. Com isso, é crescente a demanda do mercado interno e externo, resultando na intensificação e aperfeiçoamento das atividades avícolas.

Impulsionada pela forte demanda do mercado, tanto interno quanto externo, a indústria avícola cresce a cada ano. O aumento do volume de produção está associado diretamente com maior demanda por infraestrutura e insumos (transporte, ração, pintos de um dia de vida, escoamento da produção etc.), como também resulta numa maior produção de resíduos oriundos da atividade, podendo gerar algum tipos de impacto, seja de natureza econômica, sanitária e/ou ambiental.

A cama de frango ou cama de aviário, ao passo que é um dos principais insumos, é também o resíduo de maior importância na indústria avícola. Por

definição, cama de frango, também conhecida como cama de aviário, é um subproduto derivado da criação industrial de frangos de corte. É resultado da mistura do material utilizado na forração do piso do galpão com todo material fecal, secreções, penas e descamações da pele que são produzidas pelas aves durante o ciclo de criação (SILVA, 2011b; RITZ; FAIRCHILD; LACY, 2014).

Em geral, após a criação de um lote de aves, a cama é submetida a algum tipo de tratamento como forma de diminuir a carga microbiana, visando a sua reutilização. Com isso, além de diminuir o impacto ambiental causado pela atividade, a reutilização da cama representa uma economia ao produtor, contribuindo para o barateamento dos custos de produção (GIROTTO; AVILA, 2003; ISLAM et al., 2013).

Entre os métodos frequentemente utilizados, estão a adição de cal virgem na cama e os métodos fermentativos. No entanto, esses métodos requerem um tempo elevado de vazio sanitário, período entre a saída de um lote de aves e a chegada de um novo, além de que seus resultados na eficácia da diminuição da carga microbiana têm sido questionados pela literatura científica (SILVA, 2011b). Neste cenário, torna-se necessário a busca por tratamentos alternativos que sejam, ao mesmo tempo, eficazes na diminuição da carga bacteriana indesejável na cama e que demandem pouco tempo, diminuindo, assim, o tempo de vazio sanitário.

Nos últimos anos, as substâncias antimicrobianas naturais têm sido empregadas na avicultura devido ao seu potencial como forma alternativa para o controle da coccidiose e como substâncias promotoras de crescimento, sobretudo após as restrições impostas pelo mercado internacional e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ao uso de antimicrobianos na forma terapêutica e como promotora de crescimento em animais destinados à produção de alimentos.

Contudo, não há relatos na literatura sobre o uso destes antimicrobianos naturais aplicados à cama de frango como tratamento alternativo para diminuição da carga microbiana indesejada. Neste sentido, é importante o desenvolvimento de estudos no intuito de avaliar o potencial de produtos naturais que quando incorporados à cama de frango atuem no controle da carga microbiana, ampliando, assim, a variedade de tratamentos em que a cama pode ser submetida, contribuindo para promoção da sanidade animal e produção de alimentos seguros.

Diante deste panorama, o trabalho foi dividido em três capítulos; no primeiro capítulo é apresentada a revisão de literatura que fundamenta teoricamente este trabalho; na sequência, o segundo capítulo é constituído pelos resultados dos testes para avaliação da sensibilidade de microrganismos isolados a partir de amostra de cama de frango frente a extratos vegetais aquosos de ervas condimentares; por fim, o terceiro capítulo apresenta os resultados da avaliação no uso do extrato aquoso de *Thymus vulgaris* como tratamento para alternativo para cama de frango.

---

## **CAPÍTULO 1**

**Revisão de Literatura: QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE  
CAMAS DE FRANGO E MÉTODOS DE TRATAMENTOS VISANDO  
A SUA REUTILIZAÇÃO**

---

## RESUMO

A indústria avícola brasileira caracteriza-se como uma das mais desenvolvidas do mundo. Com os crescentes investimentos tecnológicos na área, o país é o segundo maior produtor e maior exportador de carne de frango do mundo, abastecendo diversas regiões, como Oriente Médio, Ásia e África. Por ser um produto de menor custo quando comparado a outras carnes e de boa qualidade sanitária e nutricional, o consumo per capita nacional cresce a cada ano, alcançando, em 2017, a marca de 44,8kg. Devido à crescente demanda do mercado interno e externo, a indústria avícola gera uma grande quantidade de resíduos, entre eles a cama de frango, que consiste na mistura de um material absorvente, geralmente maravalha, utilizada na forração do piso do galpão mais o material excretado pelas aves, penas, descamações da pele, restos de água e alimentos. Uma das formas de diminuir os impactos causados ao meio ambiente e minimizar os custos da produção é a reutilização da cama de frango por vários lotes de criação das aves. Porém, a cama de frango por apresentar condições favoráveis para o crescimento de uma microbiota diversa, inclusive de bactérias indesejáveis para a saúde humana e animal, necessita ser submetida a algum método de tratamento a fim de reduzir a carga microbiana indesejada. Os métodos frequentemente empregados como forma de minimizar a carga bacteriana da cama de frango são a adição de cal e os métodos fermentativos, em leira ou fermentação plana. Entre as bactérias indesejáveis frequentemente encontradas na cama figuram a *Escherichia coli*, responsável por ocasionar colibacilose nas aves, *Salmonella* spp., importante patógeno humano e animal, e *Staphylococcus aureus*, patógeno oportunista causador de infecções articulares e sistêmicas nas aves. Neste cenário de intensificada produção avícola e problemas inerentes a esta atividade, torna-se necessário empreender esforços para encontrar formas de manejo da cama de frango, diminuindo a carga bacteriana indesejável, visando à sanidade avícola e a produção de alimentos seguros. Embora os compostos naturais sejam utilizados de várias formas pela indústria avícola, não há relatos sobre a sua utilização enquanto tratamento para cama de frango. Neste sentido, considerando o potencial antimicrobiano dos compostos naturais oriundos dos óleos e extratos vegetais, são necessárias pesquisas que avaliem a inserção destes compostos à cama de frango

enquanto método de tratamento, ampliando as possibilidades de tratamentos atualmente disponíveis ao produtor de frango de corte, com um método eficaz, de baixo custo e que demande pouco tempo de execução.

**Palavras-chave:** *Escherichia coli*. *Salmonella*. *Staphylococcus aureus*. Avicultura industrial. Extratos vegetais.

## ABSTRACT

The Brazilian poultry industry is characterized as one of the most developed in the world. With increasing technological investments in the area, the country is the second largest producer and largest chicken meat exporter in the world, supplying several regions, such as the Middle East, Asia and Africa. As it has Lower cost when compared to other meats of good sanitary and nutritional quality, national per capita consumption grows every year, reaching, in 2017, the 44.8kg mark. Due to the growing demand of the domestic and foreign market, the poultry industry generates a large amount of waste, among them the broiler litter, which consists of the mixture of an absorbent material, usually shaving, used in the flooring of the shed plus excreted material by birds, feathers, scales of skin, scraps of water and food. One way to reduce environmental impacts and minimize production costs is to reuse broiler litter for several poultry farms. However, the broiler litter because of favorable conditions for the growth of a diverse microbiota, including bacteria undesirable for human and animal health, needs to undergo some treatment method in order to reduce undesired microbial load. The methods frequently employed as a way of minimizing the bacterial load of the broiler litter are the addition of lime and the fermentative methods, in garden bed and flat fermentation. Among the undesirable bacteria frequently found in the litter are *E. coli*, responsible for causing colibacillosis in birds, *Salmonella* spp., An important human and animal pathogen and *S. aureus*, an opportunistic pathogen that causes joint and systemic infections in birds. In this scenario of intense poultry production and problems inherent to this activity, it is necessary to make efforts to find ways to manage broiler litter, reducing undesirable bacterial load, aiming at poultry sanitation and the production of safe food. Although natural compounds are used in various ways by the poultry industry, there are no reports of their use as a treatment for broiler litter. In this sense, considering the antimicrobial potential of natural compounds derived from vegetable oils and extracts, research is needed to evaluate the insertion of these compounds into the broiler litter as a treatment method, increasing the possibilities of treatments currently available to the broiler producer, an efficient, low cost and time-consuming method.

**Key words:** *Escherichia coli*. *Salmonella*. Industrial poultry. Vegetable extracts.



## PANORAMA DA AVICULTURA BRASILEIRA

A indústria avícola brasileira corresponde a um dos maiores complexos econômicos do setor agropecuário do país, sendo considerada uma das mais modernas do mundo. No entanto, com o acelerado crescimento das atividades avícolas, eleva-se também a responsabilidade frente às questões socioambientais na procura de um equilíbrio entre a produção animal e o meio ambiente.

O processo produtivo da avicultura brasileira passou por importantes transformações nos últimos anos, sobretudo a partir da década de 1970. Os investimentos em tecnologia de abate e processamento permitiram a indústria avícola brasileira alcançar altos índices de produtividade, assumindo posição de destaque no cenário mundial (CORRÊA, 2013).

O Brasil ocupa posição de destaque no cenário da produção avícola mundial. Segundo dados do Relatório Anual da Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA (ABPA, 2017), o país é o segundo maior produtor de carne de frango do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Com uma produção em franca ascensão, em 2017, a produção avícola nacional alcançou a marca de 13.100.000 de toneladas de carne de frango (EMBRAPA AVES E SUÍNOS, 2018).

Da totalidade da produção nacional, cerca de 70% é destinado ao abastecimento do mercado interno. Em 2017, o consumo per capita de carne de frango foi de 44,8 quilos, caracterizando-a como a principal fonte de proteína animal do brasileiro (EMBRAPA AVES E SUÍNOS, 2018). No que diz respeito a composição de macronutrientes, estima-se que 100g de peito de frango cru, por exemplo, contém 21,53g de proteínas e 3,02g de gorduras (TACO, 2011). Neste sentido, o consumidor brasileiro tem a sua disposição um produto barato e de boa qualidade sanitária e nutricional.

Consagrado como maior exportador mundial de carne de frango, o Brasil abastece 151 países, sendo o Oriente Médio a principal região importadora dos produtos avícolas brasileiros, seguido da Ásia e África (ABPA, 2017).

A produção de frangos está distribuída em todo território nacional, impactando a economia de grande parte dos estados. Em 2017, a região Sul liderou o ranking nacional, sendo responsável por 60% (8.077.000 toneladas) da produção brasileira. Na região Nordeste, a Bahia ocupou a primeira colocação entre os estados

produtores de carne de frango, responsável por 1,97% (269.000 toneladas) da produção nacional (EMBRAPA AVES E SUÍNOS, 2018).

Segundo dados do Relatório de Projeções do Agronegócio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no período de 2014/2015 a 2024/25 é projetado um crescimento anual de 3,0% da produção de carne de frango, sendo maior que a produção bovina e suína. É projetado ainda um grande aumento no consumo de carne de frango, alcançando 54,7 quilos por habitantes. Quanto às exportações, as projeções indicam uma taxa de crescimento anual de 3,6%, garantindo ao Brasil a permanência na primeira colocação no ranking de países exportadores de carne de frango (BRASIL, 2015).

O aumento na produção avícola, visando abastecimento do mercado interno e externo, elevará a demanda por insumos, bem como o volume de resíduos gerados por esta atividade, salientando a importância da gestão sustentável da produção. No caso específico da indústria brasileira, a cama de frango é um importante insumo para avicultura, ao passo que também representa um dos principais resíduos da produção de frangos de corte.

## **CAMA DE FRANGO**

A cama de frango, também conhecida como cama de aviário, é um subproduto derivado da criação industrial de frango de corte. É resultante da mistura de um material absorvente utilizado na forração do piso do galpão mais o material excretado pelas aves, descamações da pele, penas, restos de ração e água dos bebedouros (AVILA; MAZZUCO; FIGUEIREDO, 1992; FIORENTIN, 2005; RESENDE, 2010; SILVA, 2011b, RITZ; FAIRCHILD; LACY, 2014).

Além de evitar o contato direto das aves com o piso do galpão, a cama de frango absorve a umidade das fezes, contribui para reduzir as oscilações de temperatura no aviário, atua no isolamento térmico, evitando perda de calor da ave para o ambiente, e absorve o impacto do peso da ave sobre uma superfície macia, evitando a ocorrência de lesões em regiões como peito, articulações e coxim plantar das aves (SILVA, 2011b, RITZ; FAIRCHILD; LACY, 2014). Assim, é de extrema importância a escolha de bons materiais a serem utilizados como substrato para composição da cama, levando em consideração que as aves irão passar todo seu ciclo de vida sobre a mesma.

Diversos materiais têm sido utilizados como substrato para cama de frango, sendo que a maravalha é a matéria-prima mais utilizada pela avicultura brasileira (SILVA, 2011b). A maravalha é um material oriundo do beneficiamento de madeiras como eucalipto (*Eucalyptus* spp.) e pinus (*Pinus* spp.), apresentando uma boa capacidade de absorção da umidade. No entanto, frequentemente tem-se observado a escassez desse produto no mercado e conseqüente aumento nos preços, acarretando em dificuldades aos produtores (GIROTTO; AVILA, 2003). Neste sentido, materiais alternativos como casca de arroz, sabugo de milho triturado, palha de soja picada, serragem (pequenas partículas de madeira), capim picado e resto de cultura de milho picado podem ser utilizados (AVILLA et al., 2007). Segundo estes autores, a escolha de qualquer material deve levar em conta a sua disponibilidade, qualidade e custo, além da finalidade da sua utilização após a retirada do lote.

O tamanho médio das partículas (cerca de 3 cm), a capacidade de absorver a umidade sem empastar e a fácil liberação da umidade para o ar são características desejáveis no material utilizado para cama (AVILA; MAZZUCO; FIGUEIREDO, 1992). A umidade excessiva, o pisoteio das aves, além do gotejamento de água por problemas dos bebedouros são os principais responsáveis para a ocorrência de compactação da cama, ocasionando a formação de blocos que podem prejudicar o lote, aumentando consideravelmente a ocorrência de lesões, resultando em possível condenação de carcaça, quando são detectadas pelos exames *ante mortem* e *post mortem* pelos profissionais do Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 1998).

Diante da enorme importância, a cama de frango é elemento indispensável para avicultura industrial. Considerando que cada quilograma de ave produzida gera de 1,2 a 1,5 Kg de resíduo de cama (ISLAM et al., 2013), a cada ciclo de criação de aves são produzidas toneladas de resíduos de cama de frango. Neste cenário, diante do enorme volume de cama de frango gerado é imprescindível que produtores e pesquisadores empreendam esforços, cada vez mais, a fim de buscarem formas de manejo desse resíduo.

Durante muito tempo a cama de frango foi fornecida como alimentação animal. Contudo, a fim de garantir a sanidade animal e evitar riscos de doenças, especialmente a encefalopatia espongiiforme bovina (conhecida popularmente como síndrome da vaca louca), o MAPA, por meio da Instrução Normativa (IN) nº 8, de 26 de março de 2004, proibiu o uso de produtos de origem animal e resíduos da

produção, incluindo a cama de frango, na alimentação de ruminantes, prevendo severas punições ao produtor que desobedecer à Instrução Normativa (IN) (BRASIL, 2004).

Com a proibição, tornou-se necessário a realização de pesquisas com intuito de encontrar alternativas para o aproveitamento da cama de frango, levando em conta seu enorme valor como fertilizante e, ao mesmo tempo, buscando-se a redução do seu volume e evitando o descarte inapropriado no meio ambiente (HAHN, 2004; LUZ et al., 2009; VALENTE et al., 2012).

Segundo Resende (2010), as características microbiológicas da cama a tornam, ao mesmo tempo, um material potencialmente contaminante, como também de grande utilidade ao se considerar o ativo metabolismo microbiano que se instala em decorrência da quantidade de matéria orgânica que a cama recebe ao longo do ciclo de criação das aves. Assim, a cama de frango pode servir como fonte de adubo orgânico, desde que seja respeitada a capacidade de suporte do solo em que será aplicado.

No entanto, deve-se ter cuidado quando o destino final da cama de frango é aplicação no solo. Pode ocorrer a transferência de patógenos dentro da cadeia de alimentos, uma vez que os vegetais serão produzidos com solo adubado pela cama, representando um risco para a segurança alimentar, sobretudo no caso de produtos consumidos in natura (SILVA et al., 2007). Além deste risco, são destacados também que os contaminantes químicos, oriundos das substâncias promotoras de crescimento, podem contaminar o solo e águas subterrâneas, além de influenciar na microbiota do solo (HAHN, 2004). Sendo assim, torna-se necessária a adoção de algum tratamento voltado à inativação e/ou redução da carga microbiana, visando reduzir os impactos negativos sobre o meio ambiente, bem como diminuir os riscos à saúde humana.

Neste cenário de intenso crescimento das atividades avícolas, escassez dos produtos utilizados como cama de aviário e problemas envolvidos no seu descarte, a reutilização da cama, após passar por algum tratamento para redução dos níveis microbianos, é uma boa alternativa para minimizar os custos da produção, a contaminação dos lotes através da cama e o efeito poluidor quando depositada no meio ambiente.

## REUTILIZAÇÃO DE CAMAS DE FRANGOS

Por apresentar um clima que permite a produção em aviários abertos, a reutilização da cama de aviário é uma prática rotineira na avicultura brasileira (AVILA et al, 2008; VOSS-RECH et al., 2017). Para tanto, é imprescindível a adoção de algum tipo de tratamento voltado à inativação ou redução da microbiota indesejável para que se possa garantir a sanidade dos próximos lotes criados sobre a mesma cama. Por isso, o manejo da cama de aviário entre os lotes é uma medida importante nas boas práticas de produção avícola (ABPA, 2016).

Embora a substituição total da cama a cada lote de frangos seja considerada ideal sob o aspecto de preservação da saúde animal e humana (SILVA et al., 2007), tal prática resultaria em grande impacto ambiental, gerado pelo volume de produção do substrato, como maravalha, e destino deste resíduo na natureza, além de acarretar altos custos à produção avícola. Em termos econômicos, a substituição de cama de frango a cada lote de criação de aves acarretaria num aumento de cerca de 77% o custo da produção avícola (MARCOLIN, 2006).

Desta forma, a reutilização da cama por vários lotes, após o manejo adequado, apresenta duas vantagens principais: a redução do impacto ambiental, tornando a avicultura um sistema ambientalmente sustentável, e a diminuição dos custos de produção (ROSA et al., 2014).

Apesar da eficiência dos métodos de tratamento em que as camas são submetidas, não é recomendável reutilizá-las quando tenham ocorridos problemas sanitários em lotes anteriores. Neste caso, é necessária a substituição total da cama após a retirada das aves, além da lavagem e desinfecção de todos os equipamentos antes de recolocá-los no galpão, o qual já deverá estar devidamente limpo e desinfetado. A cama descartada também deve ser tratada, em geral, por fermentação, antes de ser retirada do aviário, no intuito de evitar a disseminação de patógenos no ambiente, especialmente quando o destino final for o uso como fertilizante (SILVA, 2011b; MUNIZ et al., 2014).

Diversos desinfetantes podem ser utilizados na inativação das bactérias e são úteis para evitar a contaminação da cama nova. Entre os mais comuns estão os compostos aldeídos (formaldeídos e glutaraldeído), peróxidos, compostos de amônia quaternária, fenóis e iodo (FIORENTIN, 2005). No entanto, segundo Rui et al. (2011), embora os compostos a base de formol sejam eficientes na eliminação das

bactérias, são produtos em desuso por serem compostos altamente irritantes das mucosas, comprometendo a saúde dos trabalhadores.

Existem vários métodos de manejo da cama voltados para inativação e controle de patógenos entre lotes, bem como há variações entre um mesmo tratamento. Embora não haja a exigência de padronização dos procedimentos adotados, alguns mercados têm exigido comprovação científica de sua eficiência. O GlobalG.A.P., organização formulada na Europa a partir de 1997 e que atua na definição de boas práticas agrícolas estabelece, por exemplo, através do documento “*Control points and compliance criteria*”, que a cama reutilizada deve ser tratada e comprovadamente livre de riscos microbiológicos (GLOBALG.A.P., 2016).

A preocupação com a qualidade microbiológica da cama de frango também ocorre em nível nacional, levando ao MAPA publicar instruções normativas que orientam o manejo adequado da cama de frango. A instrução normativa 17/2006 do MAPA, que estabelece o Plano Nacional de Controle e Prevenção da Influenza Aviária (IA) e da Doença de Newcastle (DNC), autoriza o transporte interestadual de cama de frango somente após a adoção de algum tratamento visando a inativação de patógenos (BRASIL, 2006). Adicionalmente, a IN 10/2013 do MAPA determina que camas de frango positivas para *Salmonella* spp. devam ser submetidas a tratamento capaz de inativar a bactéria (BRASIL, 2013).

Mais recentemente, a IN 21/2014 do MAPA, que estabelece normas técnicas para Certificação Sanitária da Cadeia Produtiva Avícola quanto ao perfil sanitário para os vírus da IA e DNC, reforça que a cama reutilizada precisa ser submetida a tratamento com eficácia cientificamente comprovada para inativar ambos os patógenos (BRASIL, 2014). Em todos estes casos, as normativas não especificam quais métodos e/ou tempos de tratamento devem ser aplicados à cama. Assim, é importante que pesquisas sejam desenvolvidas a fim de avaliar a ação dos tratamentos sobre patógenos importantes para produção avícola.

No Brasil, os métodos de tratamento frequentemente utilizados são a fermentação em leira, fermentação plana e aplicação de cal (geralmente são utilizados o óxido de cálcio ou hidróxido de cálcio) (ROSA et al., 2014). Independente do método adotado, a cama é submetida ao tratamento após a retirada das aves, concomitantemente com a lavagem e desinfecção dos equipamentos (SILVA, 2011b).

Em geral, independente do tratamento em que a cama será submetida, algumas práticas são rotineiramente adotadas após a retirada das aves. Inicialmente, todos os equipamentos dos aviários são retirados (comedouros, bebedouros e ventiladores), seguida da remoção de porções mais úmidas da cama e crostas de cama e fezes que se formam durante o alojamento das aves. Em seguida, revira-se a cama para trazer à superfície as penas, larvas e insetos que ficam em camadas mais profundas. Após esse procedimento, faz-se uso de lança-chamas, comumente chamado de vassoura de fogo, que consiste num equipamento ligado a um botijão de gás, funcionando como um maçarico, para queima das penas e possíveis larvas e insetos que estejam na cama (SILVA, 2011b).

A utilização da cal nas suas diferentes apresentações é um método bastante difundido pela avicultura brasileira. Basicamente, consiste na distribuição da cal em toda superfície da cama, até 72 horas antes do alojamento das aves, utilizando equipamento apropriado para distribuição uniforme do produto na cama. Anteriormente a aplicação da cal, ocorre a remoção de toda cama úmida e compactada e a aplicação de lança-chamas em toda superfície da cama, para queimar as penas do lote anterior (SILVA, 2011b).

Neste método, o principal mecanismo de redução da carga microbiana é a diminuição da atividade de água e a elevação do pH da cama, tornando-a um ambiente desfavorável para multiplicação bacteriana, sobretudo para as Enterobactérias, como *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. (FIORENTIN, 2005; SILVA, 2011b). No entanto, embora o uso da cal seja prática comum no Brasil para o tratamento da cama de frango, estudos têm apresentado resultados contraditórios.

Utilizando diferentes dosagens da cal, Dai Pra et al. (2009), num estudo conduzido no Rio Grande do Sul, demonstraram a eficácia desse método para o tratamento da cama de frango. Segundo os autores, após o 12º dia de aplicação de cal virgem na dosagem de 300g/m<sup>2</sup> foi possível observar elevação dos valores de pH, de 8,85 (tratamento controle) para 9,91, redução na atividade de água em 2,8%, além da redução de 82 e 97% no número de UFC de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp., respectivamente.

Por outro lado, também num estudo realizado no Rio Grande do Sul, Lopes et al. (2015) salientaram que apenas a aplicação da cal não foi suficiente para redução da carga bacteriana. Os autores, ao tratarem cama de frango reutilizada com

300g/m<sup>2</sup> de cal, observaram, após 12 dias de aplicação, que não houve redução significativa na contagem de Enterobactérias e *Staphylococcus aureus*.

O tratamento da cama de frango por fermentação consiste em um método biológico que vem sendo muito empregado pela avicultura brasileira entre os intervalos de criação (SILVA, 2011b). A decomposição da matéria orgânica em um ambiente anaeróbico contribui para o aumento considerável da temperatura, inviabilizando o desenvolvimento de microrganismos patogênicos presentes na cama (AVILA et al, 2007).

No método de fermentação em leira, a cama é empilhada no centro do aviário, com aproximadamente um metro de altura, e coberta com lona plástica em toda a sua extensão, permanecendo assim por um período de 10 a 12 dias. Em regiões com clima seco, recomenda-se umedecer a cama antes de cobrir a leira com a lona, a fim de favorecer o processo fermentativo (SILVA, 2011b). A cobertura com lona plástica irá contribuir para o aumento da temperatura e promover o acúmulo de amônia na cama, a qual é tóxica para os microrganismos e insetos vetores de microrganismos, como o cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (FIORENTIN, 2005; MACKLIN; HESS; BILGILI, 2008; MUNIZ et al., 2014).

*Alphitobius diaperinus* é considerado o principal inseto praga veiculado a cama de frangos de corte (SALIN et al., 2000). As larvas e os adultos desse inseto alimentam-se de carne e órgãos internos de aves mortas ou moribundas. Este hábito, somado ao contato direto do inseto com a cama das aves, o tornou um importante veiculador de diversos patógenos, incluindo vírus, bactérias, fungos e protozoários de importância para indústria avícola (FOGAÇA et al., 2017). Assim, diversas estratégias têm sido buscadas no sentido de controlar a população destes insetos na cama de frango.

Outro método de fermentação de cama bastante utilizado na avicultura brasileira é o método de fermentação plana, que consiste na cobertura da cama com lona em toda a extensão do aviário (SILVA, 2011b). Este método é uma variação do processo fermentativo em leiras, e apresenta resultados positivos na redução de patógenos, sendo empregado por muitas empresas brasileiras. Embora seja um processo fermentativo, Silva (2011b) salienta que a temperatura da cama não sofre elevação significativa para inativação dos patógenos bacterianos. No entanto, acredita-se que outros fatores, como a distribuição mais homogênea da amônia, podem estar associados a este efeito sobre os microrganismos.



Os métodos fermentativos, embora não haja consenso na literatura acerca da sua eficácia, são internacionalmente utilizados com conhecida atuação sobre patógenos (SILVA et al., 2007; CRESPO et al., 2016).

Silva et al. (2007) avaliaram três métodos de tratamento sobre a carga bacteriana de camas reutilizadas em aviários comerciais, no estado de Santa Catarina, para a criação de frango de corte em seis lotes consecutivos: aplicação de cal; método de fermentação em leira; e método de fermentação plana. Os autores concluíram que, apesar de todos os tratamentos reduzirem a carga de bactérias mesófilas e enterobactérias, o método de fermentação plana mostrou-se ser mais eficiente em relação à redução de enterobactérias. Os autores constataram ainda que este método foi eficiente na destruição dos cascudinhos, diferindo das camas dos outros tratamentos avaliados.

## **ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA CAMA DE FRANGO**

A cama de frango é um material rico em nutrientes orgânicos, pela grande quantidade de material fecal incorporada à cama ao longo do ciclo de produção das aves. Essa composição nutritiva associada às características físico-químicas de pH, atividade de água e temperatura criam condições para o estabelecimento de um ambiente propício à multiplicação de diversos microrganismos, sobretudo aqueles originários da excreta das aves e que se multiplicam na cama ao longo do tempo. Portanto, a multiplicação de microrganismos é inerente à produção avícola e pode ser minimizada, mas não evitada (JEFFREY et al., 2001; FIORENTIN, 2005; SILVA, 2011b).

O ambiente do aviário, assim como a cama de frango, oferece condições favoráveis para a multiplicação de bactérias da microbiota fisiológica das aves, porém estas condições também facilitam a multiplicação de patógenos/bactérias indesejáveis (ROSA et al., 2014).

Na microbiota da cama pode-se encontrar variados grupos bacterianos, entre os quais se destacam: (1) o grupo das bactérias que não representam riscos diretos à saúde humana e animal, mas que exercem alguma influência nas condições ambientais da cama; e (2) os patógenos primários e secundários de aves e/ou humanos ou os comensais para as aves, potenciais patógenos para os humanos (SILVA, 2011b).

O acúmulo de bactérias na cama não representa necessariamente um problema, dependendo da bactéria envolvida. As bactérias não patogênicas participam de complexos processos de reciclagem dos nutrientes excretados na cama pelas aves, atuando na decomposição do ácido úrico, resultando em amônia das proteínas da excreta. Portanto, a presença dessas bactérias é desejável, uma vez que melhora qualidade do ambiente, desde que seja observada a ventilação adequada dos galpões (REHBEGER, 2002; CRESSMAN et al., 2010).

Por outro lado, vários patógenos presentes na cama geram preocupação quanto a possíveis problemas por eles causados, seja diretamente nas aves ou no consumidor. Originalmente, essas bactérias, em geral, são trazidas pelos pintos e perpetuadas no aviário de lote para lote na própria cama, ou através de reservatórios naturais presentes nas instalações do aviário, como os cascudinhos e os roedores que podem albergar as bactérias entre lotes, atuando como fator de contaminação da cama nova (FIORENTIN, 2002). Quando contaminadas, a água dos bebedouros e a ração também podem servir como fonte dessas bactérias (VIOLA et al., 2011; AMOROSO et al., 2015).

Além do íntimo e contínuo contato das aves com bactérias indesejáveis que contribuem para contaminação do trato digestivo (MUNIZ et al., 2014), segundo Fiorentin (2005), a retirada da ração no período pré-abate estimula os frangos a recuperarem seus hábitos naturais de ingerirem insetos da cama, adquirindo patógenos que serão carregados para o abatedouro. Ainda que não causem problemas sanitários às aves, podem contaminar as carcaças pela abertura acidental do inglúvio ou dos intestinos no momento do abate, comprometendo a segurança dos alimentos e a saúde do consumidor, caso o produto final seja contaminado (HAAPAPURO et al., 1997; SILVA, 2007).

Entre as bactérias que compõem a microbiota da cama de aviário, estão *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, presentes na excreta dos frangos e não representam riscos para saúde humana, animal, nem ao ambiente (REHBEGER, 2002; AMIT-ROMACH; SKLAN; UNI, 2004; WADUD et al., 2012). Contudo, o acúmulo de bactérias indesejáveis na cama, sobretudo da classe das Enterobactérias e demais bactérias zoonóticas, gera preocupação por possíveis problemas causados no próprio lote de frangos e, eventualmente, na saúde do consumidor.

Entre as bactérias indesejáveis, destacam-se principalmente os gêneros *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp., implicados em problemas inerentes à segurança dos alimentos, bem como *Escherichia coli*, especialmente as linhagens patogênicas para aves (APEC) e causadoras de dermatite necrótica nos frangos. Outras bactérias, como *Clostridium perfringens*, causadora de enterite necrótica, e *Staphylococcus aureus*, associada a infecções articulares e sistêmicas, estão no ambiente como contaminantes e podem eventualmente causar infecções oportunistas e/ou levar à contaminação das carcaças no processamento (FIORENTIN, 2005; SILVA, 2011; CRESPO et al., 2016).

### ***Salmonella* spp.**

*Salmonella* refere-se a um gênero bacteriano amplamente distribuído na natureza, caracterizada como um dos agentes mais importantes em surtos de toxinfecção alimentares (CARDOSO; TESSARI, 2013; BRASIL, 2017). Pertencentes à família Enterobacteriaceae, *Salmonella* spp. são bacilos gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, catalase positiva, oxidase negativa e móveis com flagelos peritríquios, excetuando os sorotipos *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum. *Salmonella* spp. multiplica-se em temperaturas entre 7 e 49,5° C, sendo 37° C a temperatura ótima para desenvolvimento. Os valores de atividade de água afeta diretamente o desenvolvimento da bactéria. Embora o limite seja de 0,94, estas bactérias podem resistir a baixos índices de atividade de água. O pH mínimo tolerado por *Salmonella* spp. é 3,8, com valores ótimos próximos a neutralidade (JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO; GERMANO, 2008; TORTORA; FUNKE; CASE; 2017).

Embora durante algum tempo cada sorovar de *Salmonella* fosse considerado como uma espécie distinta sabe-se hoje que o gênero *Salmonella* possui apenas duas espécies, *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*; esta última possui seis subespécies (*S. enterica* subespécie *enterica*, *S. enterica* subespécie *salamae*, *S. enterica* subespécie *arizomae*, *S. enterica* subespécie *diarizone*, *S. enterica* subespécie *houtenae* e *S. enterica* subespécie *indica*) (JAY, 2005; GERMANO; GERMANO, 2008; CORDOSO; TESSARI, 2013).

A identificação do gênero *Salmonella* é definida de acordo com suas características bioquímicas, sorológicas e antigênicas. A divisão de seus sorovares é

baseada na composição de seus antígenos de superfície, somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (Vi), este último encontrado apenas nos sorovares *S. Dublin*, *S. Typhi* e *S. Paratyphi* (JAY, 2005; CARDOSO; TESSARI, 2013).

*Salmonella* spp. podem ser encontradas no trato gastrointestinal de aves, do homem, de répteis e mamíferos em geral, causando a enfermidade comumente denominada de salmonelose. Em humanos, a infecção por *Salmonella* spp. pode provocar manifestação clínica traduzida em cólicas abdominais, náuseas, vômitos e diarreias, sobretudo em crianças, idosos e adultos imunocomprometidos (GERMANO; GERMANO, 2008). Nas aves, a importância da salmonelose deve-se ao elevado prejuízo econômico causado pela alta taxa de mortalidade, queda na produção de ovos e perda de peso devido à baixa conversão alimentar (SANTOS et al., 2012).

A maioria dos casos de infecção por *Salmonella* spp. em humanos está associada a produtos avícolas contaminados (CARDOSO; TESSARI, 2013). A carne da ave é frequentemente contaminada por *Salmonella* spp. quando, acidentalmente, o conteúdo intestinal é transferido para a carcaça, durante o processamento industrial (SILVA et al., 2007). Neste sentido, torna-se necessário diminuir a contaminação das carcaças, adotando cuidados especiais nas ações de abate.

A partir da crescente preocupação com a segurança alimentar dos produtos cárneos que chegam ao consumidor, tem-se estimulado a identificação de meios para reduzir ou eliminar a *Salmonella* spp. antes do abate, uma vez que a redução das taxas de contaminação pré-abate irá resultar em um aumento na segurança dos produtos processados.

As aves portadoras de *Salmonella* spp. são, frequentemente, a fonte inicial de contaminação no abate, onde os equipamentos e o manuseio inadequado das carcaças permitem a disseminação do microrganismo. Assim, Silva (2007) afirma que a principal ação prévia ao abate objetiva o controle de *Salmonella* spp. nos ambientes de criação de frangos de corte, a fim de reduzir o número de aves portadoras desta bactéria que entram no abatedouro.

Segundo Marin et al. (2011) são muitas as fontes de contaminação por *Salmonella* spp. na produção de frangos de corte, o que torna difícil o seu controle nestes ambientes. Estas bactérias chegam às granjas de criação principalmente através dos pintos de um dia e da ração para os frangos. Estas bactérias, após entrarem nas granjas de criação, se perpetuam nestes ambientes e são veiculadas

às aves, segundo Moraes et al. (2014), principalmente através da cama de frango e de insetos aviários.

Assim, é importante garantir a adoção de práticas seguras nas granjas, nos incubatórios e nos matadouros avícolas, tendo em vista que estes ambientes influenciam de forma significativa na presença ou ausência de *Salmonella* spp. no produto final. Adicionalmente, a cama de frango, importante reservatório de bactéria tendo em vista suas características físico-químicas e por incorporar microrganismos da excreta das aves, necessita de atenção especial, carecendo da adoção de métodos eficazes de tratamento visando a sua qualidade sanitária.

### ***Escherichia coli***

A espécie *Escherichia coli* é membro da família Enterobacteriaceae, gram-negativa, catalase positiva, oxidase negativa, não esporogênica. O gênero *Escherichia* possui apenas uma espécie e cerca de mil tipos antigênicos. É um mesófilo típico, capaz de se desenvolver entre 7 e 46° C, sendo 37° C a temperatura ótima de crescimento. O pH próximo do neutro propicia condições ótimas para o desenvolvimento da *E. coli*, embora possam tolerar pH de até 4,0, desde que os demais fatores intrínsecos e extrínsecos sejam ótimos. A atividade de água exigida para desenvolvimento é de 0,95. (JAY, 2005; GERMANO; FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO, 2008 TORTORA; FUNKE; CASE; 2017).

É uma das principais constituintes da microbiota intestinal de animais de sangue quente, incluindo os seres humanos. Faz parte do grupo de coliformes termotolerantes e é considerada indicadora de contaminação fecal e eventual presença de bactérias patogênicas em alimentos (JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Inúmeros fatores contribuem para sua disseminação no meio ambiente, uma vez que é excretada nas fezes e pode sobreviver nas partículas fecais, poeira e água por semanas ou meses, como habilidade de crescer rapidamente e usar uma grande variedade de materiais como nutrientes (SAVIOLLI, 2010).

Embora seja considerado um microrganismo não patogênico, por fazer parte da microbiota comensal dos animais de sangue quente, algumas cepas patogênicas estão associadas a diversas patologias no homem e nos animais domésticos.

Estudos demonstram que as cepas patogênicas de *E. coli* estão envolvidas em uma ampla gama de doenças que podem afetar animais e também os seres humanos. De acordo com seus mecanismos de patogenicidade, estas cepas podem ser agrupadas em patotipos; que, por sua vez, de acordo com o seu sítio de ação podem ser classificados em *E. coli* diarreiogênicas e *E. coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC), e estão frequentemente associadas a quadros infecciosos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* que adere difusamente (DAEC), *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* meningite neonatal (NMEC) e *E. coli* patogênica para aves (APEC) (KAPER, 2005; CROXEN; FINLAY, 2009; JAFARI; ASLANI; BOUZARI, 2012).

A patogenicidade de *E. coli* se manifesta por um mecanismo multifatorial e complexo que envolve vários fatores de virulência e variam de acordo com o sorotipo (ROCHA, 2008).

Estes fatores de virulência fazem parte do corpo bacteriano que é composto por estruturas antigênicas que contribuem para determinação dos sorotipos de *E. coli*. Essa determinação é realizada tomando como base a presença de antígenos somáticos (O), de natureza lipopolissacarídica, antígenos capsulares (K), de natureza polissacarídica, e antígenos fimbriais (F) e flagelares (H), ambos de natureza proteica (CROXEN; FINLAY, 2009).

Dentre os diferentes patotipos de *E. coli*, destaca-se, na indústria avícola, o APEC, responsável por diferentes quadros infecciosos, atuando como agente primário ou secundário. A bactéria pode afetar praticamente todos os órgãos das aves, causando infecções intestinais e extra-intestinais, conhecidas como colibacilose (BARNES et al., 2003). Em humanos, ainda que pouco comum, as cepas de APEC podem ser responsáveis por infecções intra-abdominais (KAPER, 2005).

A colibacilose é uma das mais comuns e principais doenças na avicultura moderna, responsável por quadros de sepse, aerossaculite, pericardite, peritonite, onfalite, salpingite, sinovite e celulite. A evolução destas doenças é rápida e frequentemente resulta em sepse, causando alta mortalidade, acarretando em grande prejuízo financeiro à indústria avícola (BARNES et al., 2003; ABUJAMRA, 2010). Cepas do patotipo APEC podem ser encontradas nas fezes e na cama dos

aviários e têm sido associadas a infecções extra-intestinais nas aves (ASSIS; SANTOS, 2001; SILVA, 2015).

De acordo com Barnes et al. (2003), a celulite aviária é uma doença multifatorial, pois são necessários, pelo menos, dois fatores para a sua ocorrência. Inicialmente, é preciso que um trauma qualquer resulte em ferimento na pele do animal. Após a ocorrência do ferimento, é preciso que haja contaminação bacteriana maciça por *E. coli*. Neste sentido, a cama de aviário desempenha papel importante nos casos de celulite aviária. Deve-se atentar para a escolha de bons materiais que irão compor a cama, a fim de evitar lesões nos aves (AVILA et al., 2007). Além disso, a sua qualidade microbiológica torna-se importante na medida em que estas podem servir de reservatório para *E. coli*.

### ***Staphylococcus* spp.**

*Staphylococcus* spp. são cocos Gram-positivos, imóveis, não formadores esporos, são catalase-positiva e tendem a formar agrupamentos semelhantes a cachos de uva (FUNKE; CASE; 2017). Estas bactérias fazem parte família Micrococcaceae que apresenta 29 espécies, sendo que apenas três a quatro apresentam potencial patogênico para aves, como destaque para *S. aureus* (FERREIRA; FERREIRA, 2000).

São microrganismos mesófilos, apresentando temperatura de multiplicação na faixa de 7° C a 47,8° C. Podem produzir enterotoxinas termorresistentes a temperaturas de 10° C a 46° C, com temperatura ótima entre 40° C e 46° C. O pH ideal para desenvolvimento destes microrganismos varia entre 7 e 7,5. No que diz respeito à atividade de água, *Staphylococcus* spp. são os únicos capazes de se multiplicar em alimentos com valores de atividade de água inferiores ao normalmente considerados mínimos para outras bactérias halófilas, podendo de multiplicar em alimentos com atividade de água de 0,86 (JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO; GERMANO, 2008; TORTORA; FUNKE; CASE; 2017).

Outra característica destes microrganismos é a capacidade de sobreviver e se multiplicar em uma concentração de cloreto de sódio de até 20%, tornando os alimentos curados como veículos potenciais para disseminação destes microrganismos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A capacidade de produzir coagulase, uma enzima extracelular, é uma das provas mais utilizadas para caracterizar as cepas produtoras de enterotoxinas. *S. aureus* produz enterotoxinas que são identificadas e caracterizadas em A, B, C (C1, C2, C3), D e E. Outras espécies de *Staphylococcus* também são capazes de produzir enterotoxinas, no entanto surtos de intoxicação alimentar estão relacionados somente a *S. aureus* enterotoxinogênicas (WU et al., 2016). Algumas outras enterotoxinas, a partir de pesquisas recentes, foram descobertas, como as G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R e U, porém o envolvimento destas toxinas com surtos de intoxicações alimentares ainda não estão bem elucidados (SANTANA et al., 2010; WU et al., 2016).

Esses microrganismos, devido a sua relativa resistência, estão amplamente distribuídos no meio ambiente, sendo facilmente encontrados colonizando as superfícies e mucosas de mamíferos e aves (SANTANA et al., 2010).

Em animais, *Staphylococcus* spp. está associada a lesões purulentas da pele que, ocasionalmente, podem tornar-se sistêmicas. Em aves comerciais, *Staphylococcus* spp., incluindo *S. aureus*, é a causa de diversas enfermidades, desde sepse à osteomielite e infecções articulares e sistêmicas (SKEELES, 1997; FIORENTIM, 2005).

Além dos grandes problemas à saúde animal, *S. aureus* é um importante patógeno humano, figurando entre os microrganismos mais envolvidos em surtos de intoxicação alimentar (BRASIL, 2017). Sendo assim, torna-se necessária a tomada de medidas que eliminem a presença desta bactéria nos ambientes de criação de aves comerciais, a fim de garantir a sanidade animal e evitar surtos alimentares.

## **ANTIMICROBIANOS NA INDÚSTRIA AVÍCOLA**

Durante muito tempo, as substâncias antimicrobianas foram amplamente utilizadas na produção animal, seja como forma de tratamento ou como promotora de desempenho para favorecer o desenvolvimento dos animais, melhorando seu desempenho zootécnico, visando níveis mais altos de produtividade (KURITZA; WESTPHAL; SANTIM, 2014). A depender da dose utilizada, os antimicrobianos podem ser classificados em três categorias: terapêuticos, profiláticos e promotores de crescimento.



Os antimicrobianos com dosagens terapêuticas são aqueles utilizados com dosagem, em geral, muito superior a concentração inibitória mínima (CIM) do antimicrobiano, sendo muito eficientes em combater um microrganismo já instalado em um processo infeccioso em curso. Os antimicrobianos com dosagens profiláticas são aqueles usados em dosagem próxima ao CIM (levemente acima), capazes de prevenir uma infecção. Em geral, são usados quando o risco de infecção nos animais é elevado (proximidade física a lotes em processo infeccioso, histórico de doença infecciosa na região etc.). Já os promotores de crescimento são usados em dosagens bem baixo da CIM, com ação voltada para o trato gastrointestinal, a fim de evitar o crescimento de microrganismos patogênicos e o desequilíbrio da microbiota intestinal, reduzindo, assim, os processos inflamatórios da mucosa, melhorando a capacidade absorptiva de nutrientes (COLUSI, 1993).

Em consequência da ampla distribuição bacteriana no intestino das aves, desde a década de 1950 os promotores de crescimento têm sido incorporados à ração animal, devido ao seu benéfico e vantajoso efeito sobre o desenvolvimento ponderal das aves (DALÓLIO et al., 2015). A prática se tornou cada dia mais presente na rotina avícola, uma vez que contribuiu para redução da morbidade e mortalidade causadas por doenças clínicas e subclínicas, além de incrementar a conversão alimentar, favorecendo o crescimento animal, contribuindo para expansão da avicultura (OLEFORUH-OKOLEH et al., 2015).

Contudo, é crescente a preocupação quanto ao uso dos promotores de crescimento na alimentação animal, em decorrência da presença de resíduos destas substâncias nos produtos animais para o consumo e a seleção de cepas resistentes, trazendo à tona preocupações relacionadas à saúde pública. Neste cenário de preocupação, o amplo uso destes agentes tem sido alvo de restrições; a Suécia começou a banir os antimicrobianos em 1986, enquanto que a União Europeia, por exemplo, limitou o uso de alguns antimicrobianos em janeiro de 2000, e em janeiro de 2006 banuiu o uso de antimicrobianos como aditivos promotores de crescimento (RIZZO et al., 2010). Com isso, diversos países exportadores tiveram que se adequar às exigências do mercado internacional; inclusive o Brasil, que tem os países na União Europeia como seus principais importadores.

Visando manter as exportações para os países europeus, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), proibiu e restringiu o uso de diversos antimicrobianos na indústria avícola (BRASIL, 2004). Por isso, nos últimos anos, a

avicultura industrial tem buscado produtos alternativos para substituição dos antimicrobianos comerciais, no intuito de manter a mesma eficácia na produtividade proporcionada por estes agentes, sem representar riscos à saúde pública.

As principais alternativas que têm sido pesquisadas a fim de garantir o máximo crescimento dos animais, sem afetar a qualidade do produto final, incluem o uso de probióticos, enzimas, óleos e extratos vegetais (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; VAN IMMERSEEL, 2011).

Acredita-se que a melhora na saúde intestinal provocada pela adição de complexos enzimáticos ocorra por meio do incremento na digestibilidade dos alimentos, com melhor aproveitamento dos nutrientes. Já os probióticos constituem de agentes microbianos vivos, não patogênicos, que atuam benéficamente no hospedeiro melhorando o equilíbrio da microbiota intestinal (DALÓLIO et al., 2015).

Segundo Brugalli (2003), a inclusão de produtos vegetais às rações dos animais apresenta-se como alternativa aos promotores de crescimento convencionais. Todavia, a ausência de toxicidade nestas plantas é importante a fim de assegurar a saúde do animal. Com isso, as plantas aromáticas, tradicionalmente utilizadas como condimentos ou temperos podem ser exploradas para tal finalidade.

## **O USO DE FITOTERÁPICOS NA AVICULTURA**

Ao longo da história da humanidade, os compostos extraídos das plantas foram utilizados de forma empírica para diversas finalidades, principalmente no intuito de tratar e curar doenças. Porém, com o surgimento de novos fármacos, a fitoterapia foi deixada de lado por um tempo, voltando a ganhar visibilidade a partir das constantes discussões acerca da resistência bacteriana aos antimicrobianos comumente utilizados, levando ao aumento de pesquisas em torno de compostos alternativos, sobretudo àqueles com potencial antimicrobiano oriundo de plantas medicinais (SIMÕES et al., 2007; GARVIL et al., 2013).

Esses compostos são oriundos do metabolismo vegetal, que consiste num conjunto de reações químicas que ocorrem nas células por meio de enzimas específicas. Os produtos destas reações são chamados de metabólitos e podem ser divididos em metabólitos primários e secundários (SIMÕES et al., 2007).

O metabolismo primário é responsável pela síntese de substâncias químicas destinadas ao crescimento e desenvolvimento do organismo produtor. As

macromoléculas originadas são a celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares entre outras moléculas importantes para as suas funções vitais. Já as moléculas oriundas do metabolismo secundário, embora não necessariamente sejam essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para perpetuação de sua espécie (SIMÕES et al., 2007).

Segundo Santos (2007), a origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, por meio de dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico, formado a partir de dois metabólitos da glicose (fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato), origina os aminoácidos aromáticos, precursores da maioria dos metabólitos secundários aromáticos. Já os metabólitos secundários oriundos do acetato podem ser originados a partir do ciclo do ácido cítrico, da via do mevalonato (formado a partir da união de duas unidades de acetato) ou ainda pela condensação do acetato.

Durante algum tempo acreditou-se que os produtos secundários fossem produzidos sem função específica, simplesmente como produtos finais das reações, chegando a ser considerados, em alguns casos, com anomalias. Hoje, com os avanços no entendimento das rotas do metabolismo vegetal e maior detalhamento dos compostos formados, sabe-se que os produtos secundários possuem diversas finalidades, sobretudo no que diz respeito ao desenvolvimento fisiológico da planta e mediação das interações entre a planta e o meio ambiente (TAIZ; ZEIGER, 2004; SIMÕES et al., 2007;).

De acordo com Simões et al. (2007), são atribuídas diversas funções aos metabólitos secundários dos vegetais, incluindo a defesa contra herbívoros e microrganismos, a proteção contra os raios ultravioletas, a atração de polinizadores ou animais dispersores. Com isso, os produtos extraídos dos vegetais, denominados óleos essenciais e extratos vegetais, têm sido exaustivamente estudados, sobretudo no que diz respeito ao potencial antimicrobiano dos compostos presentes nestes produtos.

Assim, as plantas aromáticas, medicinais e condimentares, amplamente utilizadas pela medicina popular ao longo dos séculos, passam a despertar interesse na comunidade científica, sendo reconhecidas propriedades antissépticas, antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas dos compostos extraídos dessas plantas, possibilitando o aproveitamento destes efeitos biológicos pela indústria

farmacêutica, alimentícia e medicinal (CELIK TAS et al., 2007; SIMÕES et al., 2007; GARVIL et al., 2013).

Na indústria avícola, os produtos naturais têm sido utilizados com os mais diversos objetivos. Seu principal uso tem sido relatado pela literatura científica avaliando o potencial destes produtos enquanto alternativa para substituição dos antimicrobianos utilizados enquanto promotores de crescimento e no controle da coccidiose, uma doença aviária causada por protozoários do gênero *Eimeria*. Assim, diversos estudos têm sido conduzidos no intuito de demonstrar os efeitos benéficos dos produtos naturais na avicultura.

Em estudo realizado por Mountzouris et al. (2011), a administração de fitoterápico composto por orégano (*Origanum vulgare*), anis (*Illicium verum*) e citrus (*Citrus* sp.) levou a modulação da microbiota de frangos com redução de coliformes termotolerantes e aumento de bifidobactérias e lactobacilos no ceco das aves.

Com o objetivo de avaliar a eficiência de um composto vegetal contendo óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), canela (*Cinnamomum verum*) e extrato de pimenta vermelha no controle de *Salmonella* spp., *Eimeria* spp. e *Clostridium* spp. em frangos de corte de aviários da cidade de Curitiba, Paraná, Bona et al. (2012) concluíram que o composto vegetal, quando introduzido na alimentação as aves, foi capaz de reduzir as lesões causadas por *Eimeria máxima* e *Eimeria tenella*, além de reduzir significativamente a população de *Clostridium perfringens* e *Salmonella* spp. no conteúdo do ceco das aves.

Souza et al. (2013) avaliaram os efeitos do óleo essencial da aoreira-vermelha (*Schinus terebenthifolius*) em substituição aos promotores de crescimento sobre a microbiota intestinal de frangos de corte e observaram que o uso do óleo essencial reduziu significativamente a contagem de bactérias do gênero *Staphylococcus*, além de *Escherichia coli*.

Apesar do expressivo número de trabalhos que avaliam a utilização de produtos naturais na avicultura, não há relatos na literatura sobre a utilização destes produtos enquanto alternativa para tratamento da cama de frango. Neste sentido, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas que avaliem o potencial antimicrobiano, já reconhecido em outras finalidades dentro da avicultura, sobre a microbiota da cama de frango.

No entanto, a inclusão de óleos essenciais e extratos vegetais à cama de frango requerem ausência de toxidade nas plantas utilizadas para produção destes

produtos, como forma de garantir a sanidade animal. Assim, acredita-se que espécies vegetais tradicionalmente utilizadas como condimentos ou temperos podem ser utilizadas para tal finalidade.

### **ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.)**

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma erva de importante valor medicinal e aromático. Pertencente a família Lamiaceae, é uma planta perene, com folhas em formato de agulha e aroma característico (Figura 1).

Originária do sul da Europa e norte da África, o alecrim é amplamente utilizado na culinária de todo mundo, devido às características organolépticas que conferem aos alimentos (BOUSBIA et al., 2008). Contudo, nos últimos anos, os extratos e os óleos essenciais produzidos a partir do alecrim têm sido objeto de estudos que atestam seu potencial antimicrobiano, antioxidante, antimutagênico e anti-inflamatório (PINTORE et al., 2002).

Figura 1 – Prancha botânica de *Rosmarinus officinalis* L.



Fonte: Botanical.com – A modern Herbal.

Bona et al. (2013), utilizando o método da microdiluição em caldo, avaliaram a atividade antimicrobiana de diferentes extratos vegetais frente a sorovares de

*Salmonella* spp. de origem avícola, obtidas da bacterioteca do Centro de Diagnóstico Veterinário Brasil Sul Ltda. O extrato aquoso de alecrim apresentou atividade contra o sorovar *S. Derby* numa concentração inibitória mínima (CIM) de 100mg.mL<sup>-1</sup>.

Em recente trabalho, Diemer (2016) avaliou a ação antimicrobiana do extrato aquoso e do óleo essencial de alecrim frente a cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P). Para a *Escherichia coli* e *S. aureus*, utilizando o extrato aquoso, verificou-se uma CIM de 5,0mg/mL. Utilizando o óleo essencial constatou-se uma CIM de 1,25mg/mL para *Escherichia coli* e 0,625mg/mL para *S. aureus*.

Hussain et al. (2010) avaliaram atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído do alecrim coletado no Herbário da Universidade de Agricultura Faisalabad (UAF), no Paquistão e encontraram valores de CIM de 1,52mg/mL e 1,16mg/mL para cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.

Em estudo realizado na Tunísia por Mathlouthi et al. (2011), os autores avaliaram a composição química do óleo essencial de alecrim e puderam observar alto teor de 1,8 cineol (49,99%). Utilizando as técnicas disco difusão e microdiluição, os autores constataram que o óleo essencial de alecrim apresentou resultados que indicam efeito inibitório sobre *E. coli* e o *Salmonella* Indiana, obtendo valores de CIM de 4,4mg/mL e 8,8mg/mL, respectivamente.

No Brasil, o óleo essencial de alecrim produzido por Barreto et al. (2014) apresentou 30,87% de 1,8 cineol e foi capaz de inibir o crescimento tanto de bactérias Gram-positivas quanto de bactérias Gram-negativas. Segundo Celiktas et al. (2007), ao estudar a composição química do óleo essencial de alecrim cultivado em diferentes regiões geográficas, 1,8 cineol é o principal componente do óleo essencial de alecrim.

O composto 1,8 cineol é pertencente à classe dos terpenóides, moléculas mais representativas que constitui 90% de óleos essenciais (BAKKALI et al., 2008). Além da presença do 1,8 cineol, entre os compostos frequentemente isolados a partir do óleo essencial de alecrim, em diferentes concentrações, estão a cânfora,  $\alpha$ -pineno, borneol e  $\alpha$ -terpineol, todos pertencentes ao grupo dos terpenóides (JIANG et al., 2011). É sugerido que tais compostos hidrofóbicos são capazes de romper a membrana plasmática e a membrana externa de bactérias Gram-negativas, provocando alterações na permeabilidade da membrana e na morte celular (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012; WANG et al., 2012).

## TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.)

*Thymus vulgaris* L. (tomilho) é uma planta medicinal, aromática e condimentar, pertencente a família Lamiaceae. Originária da Europa, o tomilho é comumente cultivado nas regiões sul e sudeste do Brasil, porém pode ser facilmente encontrado em outras regiões do país, por não demandar grandes exigências de cultivo (PORTE; GODOY, 2001).

É um subarbusto perene, ereto, ramificado e de folhas simples, chega a medir de 20 a 30 cm de altura e apresenta ramos levemente cobertos de pelos brancos com folhas simples, pequenas de coloração verde escura e formato oval (Figura 2) (NABAVI et al., 2015).

Figura 2 – Prancha botânica de *Thymus vulgaris* L.



Fonte: Botanical.com – A Modern Herbal.

*Thymus vulgaris* é a espécie mais conhecida do gênero. Comumente utilizada pela indústria alimentar, cosmética e farmacêutica, a literatura destaca que os óleos essenciais e os extratos de *T. vulgaris* possuem comprovada atividade antioxidante e antimicrobiana, devido a presença de seus constituintes (NABAVI et al., 2015). Por esse motivo, diversos estudos têm sido conduzidos no intuito de explorar a atividade antimicrobiana dos óleos e extratos de *T. vulgaris*, abrindo caminhos para produção de novos antimicrobianos.

O estudo de Santurio et al. (2011) permitiu aos autores concluir que o extrato de tomilho apresentou atividade bactericida frente a *Escherichia coli* isolada a partir de amostras de fezes de aves e bovinos. Utilizando a técnica de microdiluição, os autores encontram valor de CIM igual a 1600µg/mL.

Embora alguns autores relatem que o óleo essencial de tomilho apresente bons resultados para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, Haussain et al. (2011), em estudo realizado em Faisalabad, no Paquistão, concluíram que o óleo essencial de tomilho foi mais eficaz contra as bactérias Gram-positivas. Utilizando as técnicas de disco difusão e microdiluição, os autores obtiveram um halo de inibição de 23,2mm para *E. coli*, enquanto que para *S. aureus* e *Bacillus subtilis* foram encontrados, respectivamente, valores de 27,9 e 28mm. Dados semelhantes foram encontrados por Behbahani et al. (2012), em estudo realizado em Duran (Irã). Utilizando a técnica de disco difusão, impregnado com 5µL de óleo essencial de tomilho, os autores observaram halo de inibição de 19,7mm para *E. coli*, 35,7mm para *S. aureus* e 39,7mm para *Bacillus subtilis*.

Cabe ressaltar que a atividade antimicrobiana está diretamente relacionada com a composição do óleo essencial. Entre outros fatores, além do método de extração, a parte da planta utilizada e o seu estágio de desenvolvimento (WANG et al., 2012), a composição do óleo essencial pode ser afetada pela variação sazonal em que a planta é submetida (NEZHADALI et al., 2014).

Lemos et al. (2016) avaliaram a composição do óleo essencial a partir do tomilho cultivado em 5 meses diferentes. Segundo as autoras, embora em todos os óleos o timol tenha sido o composto majoritariamente presente, houve variações entre os óleos extraídos. Para elas, a diferença de temperatura e umidade registrada nos meses de cultivos pode ter influenciado na composição dos óleos extraídos.

### **ERVA-DOCE (*Foeniculum vulgare* G.)**

*Foeniculum vulgare*, conhecida como erva-doce ou funcho, pertence à família Apiaceae e originária da Europa Central e do Mediterrâneo. É uma erva aromática, com altura entre 70 a 200cm, extensivamente cultivada em todas as regiões temperadas e tropicais do mundo e frequentemente utilizada como especiaria culinária e pela medicina popular (Figura 3) (PATRA et al., 2002; CHANG et al., 2016).



Alguns estudos têm sido conduzidos avaliando os efeitos biológicos dos extratos vegetais e óleos essenciais da erva-doce, reconhecendo seu potencial antioxidante, antimicrobiano, antidiabético e hepatoprotetor (FAUDALE et al., 2008). A atividade antimicrobiana dos óleos e extratos vegetais da erva-doce é comumente relatada para diversos grupos bacterianos, incluindo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (GURINDER; DALJIT, 2008; PAI et al., 2010).

Figura 3 – Prancha botânica de *Foeniculum vulgare* G.



Fonte: Botanical.com – A Modern Herbal

Em trabalho realizado por Gulfraz et al. (2008), em Rawalpindi (Paquistão), os autores observaram que o óleo essencial e extrato metanólico da erva-doce foi capaz de inibir o crescimento de *Escherichia coli*, apresentando valor de CIM igual a 0,8% (v/v) para o óleo e 2,6% (v/v) para o extrato metanólico. Além da *E. coli*, os autores puderam constatar atividade antimicrobiana para bactérias do gênero *Pseudomonas*, *Klebsiela*, *Bacillus*, *Staphylococcus* e *Micrococcus*, evidenciando a ação do extrato e do óleo essencial de erva-doce tanto sobre bactérias gram-positivas como para gram-negativas.

A ação do extrato de erva-doce tanto para bactérias gram-positivas quanto para bactérias gram-negativas também foi confirmada por Dahak e Taourirte (2013), em Marrakesh (Marrocos). Segundo os autores, o extrato aquoso da erva-doce foi

capaz de inibir o crescimento de *E. coli*, apresentando CIM igual 3,125mg/mL. Além da ação antibacteriana, os autores também evidenciaram a ação antifúngica dos extratos avaliados, uma vez que estes foram capazes de inibir o crescimento de leveduras da espécie *Candida albicans*.

Roby et al. (2012), em ensaio realizado no Egito, concluíram que o óleo essencial e diferentes extratos de erva-doce apresentaram atividade antimicrobiana significativa contra *E. coli* e *Salmonella Typhi*, apresentando valores iguais de concentração inibitória mínima de 12,5µg/mL e 15µg/mL, respectivamente, para o óleo e o extrato hexânico. A análise da composição química do óleo essencial de erva-doce demonstrou que o trans-anetol (56,5%) foi o principal componente presente juntamente com fenchone (8,26%). Valores semelhantes foram encontrados por Chang et al. (2016), ao estudar a composição química do óleo essencial de erva-doce, em que foi possível quantificar 55,98% de trans-anetol e 4,88% de fenchone.

## REFERÊNCIAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2017**. Disponível em: < [http://abpa-br.com.br/storage/files/final\\_abpa\\_relatorio\\_anual\\_2017\\_ingles\\_web.pdf](http://abpa-br.com.br/storage/files/final_abpa_relatorio_anual_2017_ingles_web.pdf)>. Acesso em: 03 mai. 2017.

ABUJAMRA, T. **Detecção de agentes bacterianos envolvidos nos quadros de aerossaculite em perus através da reação em cadeia pela polimerase (PCR)**. 2010. 48 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) – Faculdade Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Protocolo de Bem-estar para Frangos de Corte**. Disponível em: < [http://abpa-br.com.br/storage/files/protocolo\\_de\\_bem-estar\\_para\\_frangos\\_de\\_corte\\_2016.pdf](http://abpa-br.com.br/storage/files/protocolo_de_bem-estar_para_frangos_de_corte_2016.pdf)>. Acesso em: 20 out. 2016.

AMIT-ROMACH, E.; SKLAN, D.; UNI, Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. **Poultry Sciences**, v. 83, p. 1093-1098, 2004.

AMOROSO, L. et al. Influência da qualidade microbiológica da água de dessedentação na morfologia intestinal de frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 80-88, 2015.

ASSIS, A.; SANTOS, B. Patogenicidade in vivo e in vitro de amostras de *Escherichia coli* de origem aviária. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 3, p. 181-184, 2001.

AVILA, V. S. de.; MAZZUCO, H.; FIGUEIREDO, E. A. P. de. **Cama de aviário: materiais, reutilização, uso como alimento e fertilizante**. Concórdia, SC: EMBRAPA-CNPASA, 1992. (EMBRAPA-CNPASA. Circular Técnica, 16).

AVILA, V. S. de. et al. Avaliação de materiais alternativos em substituição à maravalha como cama de aviário. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 273-277, 2007.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chemistry and Toxicology**. v. 46, n. 1, p. 446-475, 2008.

BARNES, H. J. et al. Colibacillosis. In: SAIF, Y. M. (Org.). **Diseases of poultry**. 11 ed. Ames: Iowa State University Press, 2003.

BARRETO, H. M. et al. Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotictherapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Industrial Crops and products**. v.59, p. 290-294, 2014.

BONA, T. D. M. M. et al. Óleo essencial de óregano, alecrim e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 411-418, 2012.

BOUSBIA, N. et al. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. **Food Chemistry**, v. 14, n. 1, p. 355-362, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 210, de 10 de novembro de 1998. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 26 nov 1998. Disponível em: < <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1129>>. Acesso em: 4 out 2016a.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 8/2004**. Disponível em: < <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=178957228> >. Acesso em: 10 out. 2016b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 17, de 7 de abril de 2006. Aprova, no âmbito do Programa Nacional de Sanidade Avícola, o Plano Nacional de Prevenção da Influenza Aviária e de Controle e Prevenção da Doença de Newcastle. **D.O.U.**, Brasília, DF, 10 de mai. 2006, Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 10, de 11 de abril de 2013. Define o programa de gestão de risco diferenciado para estabelecimentos avícolas. **D.O.U.**, Brasília, DF, 12 de abr. 2013, Seção 1, p. 2.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 21, de 21 de outubro de 2014. Estabelece as normas técnicas de Certificação Sanitária da Compartimentação da Cadeia Produtiva Avícola das granjas de reprodução, de corte e incubatórios para a infecção pelos vírus de influenza aviária e doença de Newcastle. **D.O.U.**, Brasília, DF, 22 de out. 2014, Seção 1, p. 4.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio – Brasil 2014/15 a 2024/25**. 2015. Disponível em: < [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/acs/2016/projecoes-agronegocio-2016-2026.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/acs/2016/projecoes-agronegocio-2016-2026.pdf)>. Acesso em: 21 out. 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil - 2017**. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2017.

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE

- MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p.167-182.
- CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. *Salmonella enteritidis* em aves e na saúde pública: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Belo Horizonte-MG, v. 11, n. 21, p. 1-27, 2013.
- CELIK TAS, O, Y. et al. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 553-559, 2007.
- CHANG, S. et al. Iraian *Foeniculum vulgare* essential oil and alcoholic extracts: chemical composition, antimicrobial, antioxidant and application in olive oil preservation. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 9, p.1920-1931, 2016.
- COLUSI, A. D. **Uso racional de antimicrobianos y quimioterápicos en avicultura**. In: Conferência 93 APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. FACTA, Santos, 1-3 de junho de 1993, p.67-81.
- CORRÊA, F. A. F. **Pesquisa de bactérias com determinação do perfil de sensibilidade em vísceras comestíveis de frango de corte, penas e camas de aviários**. 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, 2013.
- CRESPO, R. et al. Inactivation of Infectious Bursal Disease Virus Through Composting of Litter from Poultry Houses. **Avian Diseases**, v. 60, n. 1, p. 506-510, 2016.
- CRESSMAN, M.D. et al. Interrelations between the microbiotas in the litter and in the intestines of commercial broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 6572-6582, 2010.
- CROXEN, M. A.; FINLAY, B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature**, v. 8, n. 1, p. 20-38, 2010.
- DAI PRA, M. A. et al. Uso de cal virgem para o controle de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. em camas de aviário. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1189-1194, 2009.
- DALÓLIO, F. S. et al. Aditivos alternativos ao uso de antimicrobianos na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 5, n. 1, p. 86-94, 2015.
- DIEMER, A. W. **Ação antimicrobiana de *Rosmarinus officinalis* e *Zingiber officinale* frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em carne mecanicamente separada de frango**. 2016. 67 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro Universitário UNIVATES, 2016.

EMBRAPA AVES E SUÍNOS. **Central de Inteligência de Aves e Suínos**, Concórdia, Mai. 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/frangos/brasil>>. Acesso em: 14 mai. 2018.

FAUDALE, M. et al. 2008. Antioxidant activity and phenolic composition of wild, edible and medicinal fennel from different Mediterranean countries. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, n. 1, p. 1912-1920, 2008.

FERREIRA, A. J. P.; FERREIRA, C. S. A. Estafilococose e estreptococose aviária. In.: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000.

FIORENTIN, L. Reutilização da cama na criação de frangos de corte e as implicações de ordem bacteriológica na saúde humana e animal. 23p. **Embrapa Suínos e Aves**. (Documentos, 94). Concórdia: 2005.

FOGAÇA, I. et al. Álcool para controle de cascudinho em cama de frango de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 256, p. 509-514, 2017.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

GARVIL, M. P. et al. Ação antimicrobiana do óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*). **E-RAC**, v. 3, n. 1, p. 149-165. 2013. Disponível em: <<http://www.computacao.unitri.edu.br/erac/index.php/e-rac/article/view/119>> Acesso em: 24 nov 2016.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Manole, 2008. 986p.

GIROTTI, A. F.; AVILA, V. S. de. **Cama de Aviário – Análise Econômica de Materiais Alternativos**. Concórdia, SC: EMBRAPA-CNPISA, 2003. (EMBRAPA-CNPISA. Comunicado Técnico, 326).

GULFRAZ, M. e al. Composition and antimicrobial properties of essential oil of *Foeniculum vulgare*. **African Journal Biotechnology**. v. 7, n. 24, p. 4364-4368, 2008.

GURINDER, J. K.; DALJIT, S. A. In vitro antibacterial activity of three plants belonging to the family Umbelliferae. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 31, n. 1, p. 380-399, 2008.

GLOBALG.A.P. **Integrated Farm Assurance Livestock Base**. Benchmarking Cross-Reference Checklist: Control Points and Compliance Criteria - Poultry. 5.0-2 ed. Cologne, Germany, 2016.

HAAPAPURO, E. R. et al. Review – animal waste used as livestock feed: dangers to human health. **Preventive Medicine**, v.26, p. 599-602, 1997.

HAHN, L. **Processamento da cama de aviário e suas implicações nos agrossistemas**. 2004. 131 f. Dissertação (Mestrado em Agrossistemas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

HUSSAIN, A. I. et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 41, n. 1, p. 1070-1078, 2010.

HUYGHEBAERT, G. et al. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, v.187, n.2, p.182-188, 2011.

HYLDGAARD, M. et al. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies and interactions with food matrix components. **Frontiers Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2012.

ISLAM, A. F. M. F. et al. Development of a chick bioassay for determination of infectivity of viral pathogens in poultry litter. **Australian Veterinary Journal**, v. 91, n.1-2, p. 65-71, 2013.

JAFARI, A.; ASLANI, M. M.; BOUZARI, S. *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. **Iran Journal of Microbiology**, v. 4, n. 2, p. 102-117, 2012.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JIANG, Y. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil Rosemary. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 32, n. 1, p. 63-68, 2011.

JEFFREY, J. S. Inactivation of bacteria in stacked poultry litter. Davis: University of California, 2001, 8 p. (**USPEA Final Report**).

KURITZA, L. N.; WESTPHAL, P.; SANTIN, E. Probióticos na Avicultura. **Ciência Rural**, v. 44, n. 8, p. 1457-1465, 2014.

LOPES, M. et al. An assessment of the effectiveness of four in-house treatments to reduce the bacterial levels in poultry litter. **Poultry Science**, v. 94, n. 4, p. 1-5, 2015.

LUZ, J, M, Q. et al. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 3 p. 349-353, 2009.

MACKLIN, K. S.; HESS, J. B.; BILGILI, S. F. In-house windrow composting and its effects on foodborne pathogens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, p. 121–127, 2008.

MARCOLIN, S. Processos de tratamento para reutilização de cama de aviário: aspectos econômicos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2006, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2006.

MARIN, C. et al. Sources of *Salmonella* contamination during broiler production in Eastern Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 98, n. 1, p. 39-45, 2011.

MATHLOUTHI, N. et al. Use of rosemary, oregano, and a commercial blend of essential oils in broiler chickens: in vitro antimicrobial activities and effects on growth performance. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 1, p. 813-823, 2012.

MORAES, D. M. C. et al. Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 195-201, 2014

MOUNTZOURIS, K. C. et al. Assessment of a phytogetic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. **Animal Feed and Science Technology**, v. 168, n.3, p. 223-231, 2011.

MUNIZ, E. et al. Presence of *Salmonella* spp. in reused broiler litter. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**. Medellín-Colombia, v. 27, n. 1, p. 12-17, 2014.

NABAVI, S. M. et al. Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: from farm to pharmacy. **Food Chemistry**. v. 173, n. 1, p. 229-347, 2015.

PAI, M. B. et al. Antifungal efficacy of *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* and *Foeniculum vulgare* on *Candida albicans*: an in vitro study. **Indian Journal of Dental Research**, v. 21, n. 1, p. 334-336, 2010.

PINTORE, G. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from sardinia and corsica. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 1, p. 15-19, 2002.

REHBEGER, T. C. Controlling litter microorganisms. **e-Digest**, v.2, n. 6, p.1-6, 2002.

RESENDE, F. M. S. **Análises físico-químicas e virucidas da fermentação com cobertura e sem amontoamento da cama de aves**. 2010. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 2010.

RITZ C. W.; FAIRCHILD B. D.; LACY M. P. **Litter quality and broiler performance**. Cooperative Extension Service, University of Georgia (UGA), College of Agricultural and Environmental Sciences. Georgia, 2014. (UGA Extension Bulletin 1267).

Disponível em: <

[https://www.researchgate.net/publication/268342024\\_Litter\\_Quality\\_and\\_Broiler\\_Performance](https://www.researchgate.net/publication/268342024_Litter_Quality_and_Broiler_Performance)>. Acesso em: 08 abr. 2018.

RIZZO, P. V. et al. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.801-807, 2010.

ROBY, M. H. H. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). **Industrial Crops and Products**. v. 44, n. 1, p. 1-9, 2012.



ROCHA, P. T. et al. *Salmonella* spp. em forros de caixa de transporte e órgãos de pintos de um dia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte-MG, v. 55, n. 6, p. 672-676, 2003.

ROSA, P. S. et al. Cama para frangos de corte. In: MACARI, M. et al. (Ed.). **Produção de frangos de corte**, 2 ed. FACTA: Campinas, cap. 9, p. 153-180, 2014.

RUI, B. R. et al. Principais métodos de desinfecção e desinfetantes utilizados na avicultura: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Belo Horizonte-MG, v. 9, n. 16, 2011.

SALIN, C. et al. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. **European Journal of Soil Biology**, v. 36, n. 1, p 107-115, 2000.

SANTANA, E. H. W. de. et al. Estafilococos em Alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545-554, 2010.

SANTOS, R. I. dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editoria da UFSC, 2007.

SANTOS, M. J. B. dos. et al. Manejo e tratamento de cama durante a criação de aves. **Nutritime**, v. 9, n. 3, p. 1801-1815, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Editora: Artmed, 2004.

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

SILVA, V. S. et al. **Efeito de tratamentos sobre a carga bacteriana de cama de aviário reutilizada em frangos de corte**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2007. (EMBRAPA-CNPSA. Comunicado Técnico, 467).

SILVA, V. S. Estratégias para reutilização de cama de aviário. In: Conferência FACTA de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2011, Santos, SP. **Anais...** Santos: FACTA, 2011a.

SILVA, V. S. Métodos e Segurança Sanitária na Reutilização de Cama de Aviários. In: PALHARES, J. C. P.; KUNZ, A. **Manejo Ambiental na Avicultura**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011b. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 149).

SILVA, R. M. **Escherichia coli em aviários, celulites e fígados de frango e suas consequências para a avicultura**. 2015. 107 f. Tese (Doutorado em Biociência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Editoria da UFSC, 2007.

SKEELES, J. K. Staphylococcosis. In.: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of poultry**. Ames: Iowa State University Press, 1997.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**, 2011. Disponível em <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela>>. Acesso em: 28 mar. 2017.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VALENTE, B. S. et al. Compostagem da mistura de carcaças de frangos de corte e cama de aviário. **Revista Varia Scientia Agrárias**. Cascavel-PR, v. 2, n. 2, p. 135-152, 2012.

VIOLA, E. S. et al. Água da Avicultura: importância, qualidade e exigências. In: PALHARES, J. C. P.; KUNZ, A. **Manejo Ambiental na Avicultura**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 149).

VOSS-RECH, D. et al. Impact of treatments for recycled broiler litter on the viability and infectivity of microorganisms. **Veterinary Microbiology**, p. 308-314, 2017.

WADUD, S. et al. Bacterial and fungal community composition over time in chicken litter with high or low moisture content. **British Poultry Science**, v. 53, n. 1, p. 561-569, 2012.

WANG, W. et al. Antimicrobial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. **Molecules**. v. 17, n. 1, p. 2704-2713, 2013.

WU, S. et al. A Review of the Methods for Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. **Toxins**, v. 8, n. 7, p. 176-181, 2016.

---

## **CAPÍTULO 2**

**Atividade antimicrobiana de ervas condimentares frente a microrganismos isolados em cama de frango**

---

## **Atividade antimicrobiana de ervas condimentares frente a microrganismos isolados em cama de frango**

Pedro Paulo de Jesus Pimentel<sup>1</sup>, Isabella de Matos Mendes da Silva<sup>2</sup>, Ricardo Mendes da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola. Cruz das Almas, BA, Brasil. E-mail: pimentel.pedro@hotmail.com.

<sup>2</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências da Saúde. Santo Antonio de Jesus, BA, Brasil. E-mail: isabellamatos@ufrb.edu.br; E-mail: ricardomendesvet@gmail.com.

**Resumo** – A pesquisa objetivou avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso de ervas condimentares obtidas no comércio popular de especiarias frente a microrganismos isolados em cama de frango. Foram produzidos extratos vegetais aquosos de *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris* e *Rosmarinus officinalis* pelo método de infusão. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, frente a cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* isoladas em cama de frango no período de agosto a outubro de 2017. Foi realizada análise fitoquímica qualitativa para detecção da presença das principais classes de compostos bioativos. O extrato aquoso de *T. vulgaris* apresentou maior atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados, além de possuir todos os compostos bioativos avaliados na triagem fitoquímica. O extrato de *R. officinalis* não inibiu o crescimento de *E. coli*, enquanto que o extrato de *F. vulgare* não exibiu qualquer atividade antimicrobiana frente aos microrganismos, ao passo que foi o extrato com menor quantidade de compostos bioativos prospectados. Os resultados apontam possibilidades do uso dos extratos vegetais como fonte para o desenvolvimento de novas drogas no combate aos microrganismos que põem em risco a saúde humana e animal.

**Palavras-chave:** extratos vegetais. avicultura. *Thymus vulgaris* L. resistência microbiana.

### **Antimicrobial activity of herbs against microorganisms isolated in broiler litter**

**Abstract** - The objective of this research was to evaluate the antimicrobial activity of the aqueous extract of condiment herbs obtained from the popular spice trade against

microorganisms isolated from broiler litter. Aqueous plant extracts of *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris* and *Rosmarinus officinalis* were produced by the infusion method. The evaluation of the antimicrobial activity was carried out by broth microdilution method, against strains of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* isolated in broiler litter from August to October 2017. Qualitative phytochemical analysis was performed to detect the presence of the main classes of bioactive compounds. The aqueous extract of *T. vulgaris* presented greater antimicrobial activity against the tested microorganisms, besides having all the bioactive compounds evaluated in the phytochemical screening. The extract of *R. officinalis* did not inhibit the growth of *E. coli*, whereas the extract of *F. vulgare* did not exhibit any antimicrobial activity against the microorganisms, whereas it was the extract with less amount of bioactive compounds prospected. The results point out possibilities of using plant extracts as a source for the development of new drugs in the fight against microorganisms that endanger human and animal health.

**Key words:** plant extracts. poultry farming. *Thymus vulgaris* L. microbial resistance.

## INTRODUÇÃO

A indústria avícola brasileira corresponde a um dos maiores complexos do setor agropecuário do país, alcançando altos níveis de produtividade. Em 2017, a produção avícola nacional alcançou a marca de 13.100.000 de toneladas de carne de frango, impactando diretamente na economia do país (Embrapa Aves e Suínos, 2018). Hoje, o Brasil ocupa posição de destaque no cenário mundial, consagrado, desde 2016, como o maior exportador e segundo maior produtor de carne de frango do mundo (ABPA, 2017).

Devido à crescente demanda de abastecimento do mercado interno e internacional, a indústria avícola cresce a cada ano. No período de 2015-2025 é projetado um crescimento de 3% ao ano na produção de carne de frango e o consumo per capita deve alcançar 54,7 quilos, tornando-se a principal fonte de proteína animal consumida pelos brasileiros (Brasil, 2015).

A fim de garantir altos índices de produção, os antimicrobianos são amplamente utilizados na indústria avícola, contribuindo para melhorar a sanidade avícola e reduzir o tempo de criação das aves, visando altos níveis de produtividade. Contudo, seu uso indiscriminado proporcionou a seleção de microorganismos resistentes, reduzindo sua eficácia no tratamento médico, além de contribuir para presença desses resíduos nos produtos avícolas (Sakaridis et al., 2011).

A alta taxa de resistência antimicrobiana é frequentemente relatada por diversos autores, tanto no Brasil quanto em outros países, representando um grande problema para saúde humana. Segundo Souza et al. (2011), o uso de agentes antimicrobianos em animais criados para o consumo humano é, provavelmente, a principal causa do aumento e disseminação de cepas resistentes. Scur et al. (2014), no Paraná, isolaram 118 cepas de *Salmonella* spp. a partir de insumos avícolas e constataram que apenas 36 cepas (30,5%) foram suscetíveis a pelo menos um agente antimicrobiano testado. Quanto à origem destas cepas, as amostras isoladas da cama de frango apresentaram-se resistentes a um número maior de antimicrobianos.

Neste cenário de preocupações com a saúde pública, a indústria avícola, nos últimos anos, tem buscado produtos alternativos para substituição dos antimicrobianos comerciais, a fim de manter a eficácia na produtividade proporcionada por esses agentes, mas sem representar um risco à saúde humana (Huyghebaert et al., 2011). Entre as alternativas, os produtos vegetais – óleos essenciais e extratos – têm sido utilizados na busca de novas soluções terapêuticas por possuírem compostos bioativos com reconhecido potencial antimicrobiano (Bettega et al., 2011).

Devido a importância econômica, ambiental e sanitária que envolve a contaminação de aves por microrganismos diversos e, ainda, considerando a escassez de trabalhos científicos acerca da atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre microrganismos de origem avícola, objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana de ervas condimentares frente a microrganismos isolados em cama de frango.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os extratos aquosos das folhas de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e *Thymus vulgaris* (tomilho) e sementes de *Foeniculum vulgare* (erva-doce) foram obtidos pelo método de infusão. Todas as amostras vegetais foram adquiridas no comércio popular na cidade de Santo Antonio de Jesus, Bahia. Foram pesadas 50 g de material vegetal seco e triturado e adicionado em 500 mL de água destilada aquecida a 90° C, permanecendo sob agitação por 24 horas. Em seguida, os extratos foram filtrados em filtro de papel qualitativo e submetidos à liofilização (Terroni™ LS 3000) até adquirirem consistência de pó. Os extratos foram armazenados ao abrigo da luz em temperatura ambiente até o momento de utilização.

A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada contra cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus*, isoladas a partir de amostras de cama de frango coletadas assepticamente após criação de um lote de aves em uma granja comercial,

localizada na Comunidade do Jenipapo, zona rural do município de Sapeaçu, Bahia. Para o isolamento dos microrganismos foi utilizado o método rápido Petrifilm™ (3M Company), utilizando placas EC (AOAC 998.08) para *E. coli*, SALX para *Salmonella* sp. (AOAC 2014.01) e STX para *S. aureus* (AOAC 975.55), seguindo recomendações do fabricante. Colônias características de *E. coli* (azuis com bolha de gás) e *Salmonella* sp. (azuis escuras com precipitado azul ou centro vermelho escuro com precipitado azul) foram purificadas em ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) Kasvi® e colônias típicas de *S. aureus* (vermelho-violeta) foram purificadas em ágar Baird-Parker (BP) suplementado com gema de ovo e Telurito de Potássio (K<sub>2</sub>S<sub>4</sub>O<sub>6</sub>). Ao final, todas as cepas foram preservadas a -20° C em Caldo *Brian Heart Infusion* (BHI) Kasvi® e glicerol a 15% até o momento da análise. Utilizou-se como cepas de referência *S. Typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 8739, *E. coli* Patogênica para Aves (APEC) ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923.

Para determinar a sensibilidade das cepas de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *S. aureus* aos extratos vegetais foi utilizado o teste de microdiluição em caldo, a fim de determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), com base na metodologia descrita pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2003). As cepas bacterianas, previamente isoladas, foram ativadas em caldo *Müller Hinton* (CMH) Kasvi® por 18-24 horas. Após esse período, a suspensão bacteriana foi padronizada em espectrofotômetro (SP-22 Biospectro®) com comprimento de onda de 625 nm e densidade óptica de 0,08 a 0,1, para concentração de 0,5 na escala Mac Farland, o que corresponde a uma suspensão bacteriana na concentração de  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Em seguida, foi realizada uma diluição em CMH na ordem de 1:100, resultando numa suspensão final de trabalho igual a  $1,5 \times 10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

Todos os extratos aquosos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% e esterilizados por filtração em membrana de celulose (Millipore™) 0,22 µm. Os extratos foram testados em concentrações decrescentes, de 20 mg.mL<sup>-1</sup> a 0,625 mg.mL<sup>-1</sup>. Como controle positivo foi utilizado gentamicina a partir da concentração de 70 µg.mL<sup>-1</sup>. Realizou-se ainda o controle de esterilidade do meio de cultura, dos extratos e controle de viabilidade dos microrganismos. As placas foram incubadas a 36±1 °C por 24 horas e, após esse período, a confirmação da atividade antimicrobiana dos extratos foi realizada por meio da adição de resazurina 0,01% em todos os poços da placa (a mudança de coloração de azul para rosa indica que houve crescimento bacteriano). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi calculada como a menor concentração em mg.mL<sup>-1</sup> capaz de inibir o crescimento bacteriano.

Para determinar a Concentração Bactericida Mínima (CBM) 10 µL do conteúdo dos poços em que não houve crescimento bacteriano foi semeado na superfície de placa de Petri

contendo ágar *Müller Hinton* (AMH) Kasvi® e incubado sob as mesmas condições anteriormente descritas. A ausência de crescimento bacteriano em placa indicou atividade bactericida do extrato, enquanto que placas que apresentaram crescimento bacteriano indicaram atividade bacteriostática. Todos os testes foram realizados em triplicatas.

Foi realizada a análise fitoquímica qualitativa para verificar a presença de alcaloides, taninos, saponinas, esteroides, triterpenoides e flavonoides, conforme metodologia descrita por Matos (2009).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As ervas selecionadas como objeto de estudo deste trabalho – *Foeniculum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* e *Thymus vulgaris* – são espécies muito utilizadas como condimentos na culinária brasileira e mundial, além de serem facilmente cultivadas em diversas regiões do país. Além das características citadas, estas plantas já são utilizadas, de algum modo, pela avicultura industrial como alternativa aos antimicrobianos convencionais (Chilante et al., 2012; Teixeira et al., 2013) e, por isso, foram escolhidas para avaliação da sua atividade antimicrobiana frente aos microrganismos isolados a partir da cama de frango.

Verificou-se que o extrato aquoso de *F. vulgare* apresentou maior rendimento em relação aos demais (23,63%), seguido de *T. vulgaris* (19,64%) e *R. officinalis* com 9,93%. Segundo Pintaro et al. (2012), a utilização de material vegetal previamente desidratado para produção de extratos, como preconizado na metodologia deste trabalho, pode maximizar a eficiência do processo de extração. Os autores, ao calcularem o rendimento de extratos de *Ocimum basilicum* (manjeriço) e *Origanum vulgare* (orégano), ambos da família Lamiaceae, produzidos com plantas secas e in natura, obtiveram maior rendimento nos processos em que as plantas estavam secas.

Os microrganismos testados apresentaram variações na suscetibilidade frente aos diferentes extratos, conforme valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos vegetais aquosos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Valores de Concentração Mínima Inibitória (mg.mL<sup>-1</sup>) e Concentração Bactericida Mínima (mg.mL<sup>-1</sup>) dos extratos aquosos de *Rosmarinus officinalis*, *Foeniculum vulgare* e *Thymus vulgaris* frente a cepas padrão e microrganismos isolados em cama de frango.

Microrganismos	Extratos					
	<i>Rosmarinus officinalis</i>		<i>Foeniculum vulgare</i>		<i>Thymus vulgaris</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Escherichia coli</i> *	-	-	-	-	20	20



<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> APEC ATCC 25922	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> sp.*	10	10	-	-	5	5
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	20	20	-	-	20	20
<i>Staphylococcus aureus</i> *	5	5	-	-	2,5	2,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	5	5	-	-	2,5	2,5

- = sem atividade; \* = isolados em cama de frango.

Os controles positivos apresentaram atividade antimicrobiana compatíveis com os valores previstos na literatura. A gentamicina foi capaz de inibir o crescimento microbiano de todas as cepas, em concentrações que variaram de 70 a 2,18  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Embora a literatura relate o potencial antimicrobiano do extrato aquoso das sementes de *F. vulgare* (Dahak & Taourirte, 2013; Badgular et al., 2014), neste estudo nenhum microrganismo apresentou sensibilidade ao extrato desta erva nas concentrações testadas. Acredita-se que a ausência da atividade antimicrobiana possa estar relacionada com o teor de compostos bioativos presentes neste extrato.

Resultados diferentes entre os diversos estudos acerca da atividade antimicrobiana de extratos vegetais podem estar relacionados com o genótipo das espécies estudadas, fatores ambientais (solo, temperatura e umidade) e época de colheita das plantas, que podem acarretar em variações no teor de compostos bioativos e, conseqüentemente, na capacidade antimicrobiana destas plantas (Alejandro et al., 2011; Behbahani et al., 2013).

O extrato de *R. officinalis* não apresentou efeito inibitório contra as cepas *E. coli*, porém apresentou atividade antimicrobiana frente as cepas de *Salmonella* sp. isolada de cama de frango, *S. Typhimurium* ATCC 14028 e *S. aureus* isolada de cama de frango e *S. aureus* ATCC 25923, com valores de CIM iguais a 10, 20, 5 e 5  $\text{mg.mL}^{-1}$ , respectivamente. Utilizando o método de disco-difusão, o extrato aquoso de *R. officinalis* produzido por Adam et al. (2014) apresentou atividade inibitória para cepas de *E. coli* e *S. aureus*, além de *Proteus vulgaris* e *Pseudomonas aeruginosa*. Por outro lado, em recente trabalho, Guimarães et al. (2017), utilizando os métodos de disco-difusão e difusão em poços também não encontraram atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *R. officinalis* para cepas de *E. coli*, assim como nesse estudo. Contudo, diferente dos dados aqui encontrados, o extrato aquoso destes autores não foi capaz de inibir o crescimento de *S. aureus*. Segundo os autores, a ausência de atividade antimicrobiana pode ser atribuída à baixa concentração de compostos bioativos, o método empregado para obtenção dos extratos e parte da planta que foi utilizada.

É importante salientar que diversas metodologias podem ser empregadas com intuito de avaliar a sensibilidade microbiana aos extratos vegetais. A comparação entre os resultados obtidos por diferentes pesquisadores torna-se limitada, uma vez que a metodologia empregada pode modificar a inibição *in vitro* do crescimento microbiano. O trabalho de Bona et al. (2014) comparou o método de microdiluição em caldo e de difusão em ágar por poço e por disco para avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais e foi possível notar diferenças significativas nos resultados entre as diferentes metodologias, com destaque para a técnica de microdiluição em caldo, por fornecer dados quantitativos, ao indicar a concentração mínima capaz de inibir o crescimento microbiano, diferentemente dos outros métodos.

Neste sentido, a escolha da metodologia a ser utilizada torna-se uma importante etapa do trabalho, devendo ser escolhida com cautela, tendo em vista os objetivos propostos por cada trabalho. Além disso, há a necessidade da uniformização dos procedimentos técnicos realizados nos testes *in vitro*, a fim de que os diferentes resultados possam conduzir interpretações mais fidedignas.

O extrato aquoso de *T. vulgaris* foi o que melhor apresentou atividade antimicrobiana, o qual foi capaz de inibir o crescimento, em diferentes concentrações de todos os microrganismos testados, com exceção das cepas padrão de *E. coli*. Seu potencial antimicrobiano é amplamente relatado pela literatura, tanto para bactérias Gram-positivas quanto para bactérias Gram-negativas (Navabi et al., 2015; Dauqan & Abdullah, 2017), ampliando, desta forma, as possibilidades da utilização dos extratos vegetais dessa planta como possível fonte para o desenvolvimento de novas drogas.

As cepas de *S. aureus* testadas apresentaram maior sensibilidade ao extrato de *T. vulgaris*, apresentando valor de CIM igual a 2,5 mg.mL<sup>-1</sup>. Por outro lado, *E. coli* e *Salmonella* sp., ambas isoladas de cama de frango, demandaram valores de CIM iguais a 20 mg.mL<sup>-1</sup> e 5 mg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Sangaletti et al. (2017), em que o extrato aquoso de *T. vulgaris* apresentou atividade inibitória contra cepas de *S. Typhimurium*, *S. aureus* e *B. subtilis*, em que as bactérias Gram-positivas apresentaram maior sensibilidade aos extratos. Enquanto que no trabalho de Ismail et al. (2012), o extrato aquoso de *T. vulgaris* apresentou atividade inibitória apenas contra *S. aureus*, não exercendo qualquer atividade sobre *E. coli* e *S. Typhi*. Todos estes dados corroboram com Lemos et al. (2015), ao afirmarem que as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis aos efeitos antimicrobianos dos extratos vegetais.

Essa diferença observada nos resultados da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais entre os dois grupos bacterianos possivelmente está relacionada à diferença na composição da parede celular bacteriana. Uma vez que as bactérias Gram-positivas apresentam uma parede celular quimicamente menos complexa e como menor camada lipídica quando comparadas com as Gram-negativas, tornando-as mais suscetíveis aos efeitos dos compostos bioativos encontrados nos extratos vegetais (Barbosa et al., 2015).

A ação inibitória dos extratos vegetais contra a cepa padrão *S. Typhimurium* ATCC 14028 representa um importante passo para o controle da disseminação desta bactéria, sobretudo em cama de frango. Scur et al. (2014), no oeste do Paraná, isolaram 118 cepas de *Salmonella* spp. a partir de diferentes insumos avícolas, em que a cama de frango foi o local de maior contaminação, com 73 isolados (61,9%) e os sorovares mais comuns foram *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*. Embora todas as bactérias do gênero *Salmonella* possam causar infecções intestinais, os sorovares *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Heidelberg* estão entre os mais prevalentes em casos de infecções em humanos, uma vez que estão em número elevado dentro da população (Cardoso & Tessari, 2013).

Os resultados da atividade antimicrobiana dos extratos aquosos de *R. officinalis* e *T. vulgaris* para as cepas de *Salmonella* spp. são importantes na medida em que este microrganismo representa um importante patógeno animal e humano. Segundo dados do Ministério da Saúde, *Salmonella* spp. ocupou a primeira colocação entre os agentes etiológicos identificados nos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (Brasil, 2018). Além disso, segundo Cardoso e Tessari (2013), a infecção por *Salmonella* em humanos está associada, em sua maioria, ao consumo de produtos avícolas contaminados. Assim, torna-se necessário diminuir a sua incidência na indústria avícola, a fim de garantir a produção de alimentos seguros, evitando riscos à saúde humana.

Outro microrganismo frequentemente isolado em ambientes avícolas é a bactéria *E. coli*, tornando-se um perigo potencial para saúde humana e animal. As cepas padrão de *E. coli* patogênica para aves (APEC ATCC 8739) e *E. coli* ATCC 25922 não apresentaram sensibilidade aos extratos testados.

*E. coli* é um microrganismo que faz parte da microbiota comensal do trato digestório de humanos e demais animais de sangue quente. Contudo, cepas patogênicas podem representar um sério risco à saúde humana e animal (Croxen & Finlay, 2010). *E. coli* patogênica para aves (APEC) é frequentemente associada aos casos de colibaciloses nas aves, responsável por quadros de sepsse, aerossaculite, pericardite, salpingite e celulite (Barnes et al., 2003). Neste sentido, faz-se necessário o controle da população desta bactéria nos aviários, sobretudo em

camas de frango, uma vez que este local representa um importante nicho para estas bactérias, servindo de reservatório para cepas patogênicas, especialmente APEC (Silva, 2015).

Exceto o extrato aquoso de *F. vulgare*, todos os demais foram capazes de inibir o crescimento das cepas de *S. aureus*. O controle desta bactéria é importante na medida em que, na indústria avícola, *S. aureus* pode desempenhar papel de bactéria oportunista, principalmente quando há soluções de continuidade decorrentes de lesões na pele da ave, gerando casos de infecções articulares e sistêmicas (Monecke et al., 2013). Além disso, *S. aureus* é um importante patógeno alimentar (Sergelidis & Angelidis, 2017), estando entre os agentes etiológicos mais identificados nos surtos de DTA no Brasil (Brasil, 2018). Seu controle nos ambientes avícolas torna-se necessário a fim de garantir a sanidade animal e evitar casos de toxinfecções alimentares em humanos, em caso do consumo de produtos avícolas com alta população deste microrganismo.

Acredita-se que a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais seja dependente da presença de compostos bioativos, oriundos do metabolismo secundário da planta, que atuam a partir de diferentes mecanismos de ação. Neste sentido, foi realizada a triagem fitoquímica dos extratos aquosos do estudo (Tabela 2), a fim de avaliar quais compostos presentes nestes extratos podem contribuir para atividade antimicrobiana observada.

**Tabela 2.** Prospecção fitoquímica de metabólitos secundários nos extratos aquosos das ervas condimentares

Metabólitos	Extratos		
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
Flavonoides	+	-	+
Tanino	+	+	+
Saponina	-	-	+
Esteróide (S)	+	+	+
Triterpenóide (S)	-	-	-
Esteróide (LB)	-	-	-
Triterpenóide (LB)	+	-	+
Alcaloide	-	-	+

+ = reação positiva; - = reação negativa; LB = Liebermann-Burchard; S = Salkowski.

Por meio da triagem fitoquímica realizada foi possível observar variações quanto aos tipos de metabólitos secundários para as ervas condimentares avaliadas. Foi possível identificar todos os compostos apenas no extrato aquoso de *T. vulgaris*, conforme ilustrado na Tabela 2. No extrato aquoso de *R. officinalis* não foi possível observar a presença de saponinas e alcaloides, enquanto que no extrato de *F. vulgare* apenas taninos e esteróides estavam presentes.

Estes compostos bioativos são responsáveis por diversas atividades biológicas, incluindo a atividade antimicrobiana (Silva & Fernandes Junior, 2010). Diversos estudos vêm sendo produzidos demonstrando o potencial antimicrobiano dos diferentes metabólitos secundários, como saponinas (Gacche et al., 2011), taninos (Saad et al., 2012), flavonoides (Kumar & Pandey, 2013), alcaloides (Nair et al., 2017), esteroides e triterpenoides (Aduol et al., 2014).

A presença de todos esses metabólitos secundários no extrato aquoso de *T. vulgaris* pode explicar seu efeito inibitório frente aos microrganismos testados. Apesar da triagem fitoquímica revelar a presença de esteroides e taninos, compostos com conhecida atividade antimicrobiana, no extrato aquoso de *F. vulgare*, sua inatividade parece estar relacionada com a ausência dos demais metabólitos, tendo em vista que a atividade antimicrobiana é observada a partir de um efeito sinérgico entre os compostos e não sobre um ou outro isoladamente (Boruga et al., 2014).

A biossíntese de metabólitos secundários é um processo complexo e é amplamente influenciada por diversos fatores, como estágio de maturação, condições climáticas e edáficas, disponibilidade hídrica, intensidade de luz e temperatura (Pavarini et al., 2012). Lemos et al. (2015), no Espírito Santo, relataram variação na composição química do extrato etanólico das folhas de *R. officinalis*, cuja a atividade antimicrobiana do extrato foi variável em função da época de coleta da erva, realizada entre os meses de julho de 2012 e julho de 2013.

Além destes fatores, o solvente utilizado na elaboração do extrato vegetal parece influenciar diretamente nos constituintes químicos extraídos. Hossain et al. (2013) avaliaram a composição fitoquímica do extrato de *T. vulgaris* produzido a partir de diferentes solventes orgânicos. No estudo dos autores, apenas nos extratos metanólicos e butanólicos foi possível identificar a presença de flavonoides, enquanto que tanino estava ausente em todos os extratos. Embora Pintaro et al. (2012) afirmem que os solventes orgânicos sejam mais adequados para extração de compostos fenólicos, nos extratos deste estudo, produzidos utilizando a água enquanto solvente extrator, foi possível observar a presença de flavonoides e taninos, ambos pertencentes a classe dos compostos fenólicos, demonstrando que outros fatores além da polaridade do solvente empregado na extração podem influenciar na prospecção dos compostos químicos biologicamente ativos. No presente estudo, acredita-se que o tempo e a temperatura do solvente empregada na elaboração dos extratos podem ter contribuído para prospecção dos compostos fenólicos.

Ainda que alguns autores relatem maior atividade antimicrobiana quando são utilizados solventes orgânicos na elaboração de extratos vegetais, os testes com extratos aquosos são importantes na medida em que a produção destes extratos poderá contribuir para a

implantação de um processo de desenvolvimento agrícola ambientalmente seguro e economicamente viável no controle da contaminação microbiana nos ambientes de produção avícola.

Como visto, a prospecção de metabólitos secundários nos extratos vegetais é influenciada, em certo grau, pelas características do solvente utilizado. Do ponto de vista toxicológico, segundo Oktay et al. (2003), etanol e água são solventes mais seguros que acetona, metanol e outros solventes orgânicos; por isso, optou-se por priorizar nesse trabalho a produção de extratos aquosos visando aplicações futuras dos resultados, a fim de não comprometer a saúde humana e animal.

## CONCLUSÃO

Nas condições estudadas, os extratos aquosos de *R. officinalis* e *T. vulgaris* apresentaram atividade inibitória em diferentes concentrações sobre os microrganismos testados. Acredita-se que a diversidade de metabólitos secundários, avaliada a partir da prospecção fitoquímica, possa contribuir para atividade antimicrobiana observada.

Por outro lado, o extrato aquoso de *F. vulgare* não exibiu qualquer atividade antimicrobiana nas concentrações testadas, ao passo que foi o extrato vegetal com menor número de metabólitos secundários prospectados, conduzindo a interpretações que a diversidade de metabólitos secundários presente num extrato vegetal favorece uma maior atividade antimicrobiana.

Neste contexto, o uso de extratos vegetais apontam para perspectivas futuras da sua utilização como alternativa para controle microbiológico nos ambientes avícolas, contribuindo para medidas de controle e preservação dos ecossistemas, da saúde humana e animal.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos e a Dra. Floricea Magalhães Araujo – Laboratório de Química Orgânica (CETEC/UFRB) – pelo auxílio nas análises fitoquímicas.

## LITERATURA CITADA

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2017**. Disponível em: <[http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c\\_final\\_abpa\\_relatorio\\_anual\\_2016\\_portugues\\_web\\_reduzido.pdf](http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf)>. Acesso em: 20 abr. 2018.

ADUOL, O. M.; OGILA, K. O.; JOHN, K. Evaluation of antibacterial effects and phytochemical screening of the aqueous and methanolic extracts of *Hibiscus diversifolius*. **Journal Microbiology and Antimicrobials**, v. 6, n. 5, p. 88-93, 2014.

ALEZANDRO, M. R.; LUI, M. C. Y.; LAJOLO, F. M.; GENOVEVES, M. I. Commercial spices and industrial ingredients: evaluation of antioxidant capacity and flavonoids content for functional foods development. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 527-533, 2011.

BADGUJAR, S. B.; PATEL, V. V.; BANDIVDEKAR, H. A. *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. **BioMed Research International**, v. 2014, n. 1, p. 1-32, 2014.

BARBOSA, L. N.; PROBST IDA, S.; ANDRADE, B. F.; ALVES, F. C.; ALBANO, M.; CUNHA, M. de L.; DOYAMA, J. T.; RALL, V. L.; FERNANDES JUNIOR, A.. In vitro Antibacterial and Chemical Properties of Essential Oils Including Native Plants from Brazil against Pathogenic and Resistant Bacteria. **Journal of Oleo Science**, v. 64, n. 3, p. 289-298, 2015.

BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J.; GROSS, W. B. Colibacillosis. In: SAIF, Y. M. (Org.). **Diseases of poultry**. 11 ed. Ames: Iowa State University Press, 2003.

BEHBAHANI, M. H.; GHASEMI, Y.; KHOSHNOUD, M. J.; FARIDI, P.; MORADLI, G.; NAJAFABADY, N. M.. Volatile oil composition and antimicrobial activity of two *Thymus* species. **Pharmacognosy Journal**, v. 5, n. 1, p. 77-79, 2013.

BETTEGA, P.V.C.; CZLUSNIAK, G. R.; PIVA, R.; NAMBA, E. L.; RIBAS, C. R.; GRÉGIO, A. M. T.; ROSA, E. A. R.. Fitoterapia: dos canteiros ao balcão da farmácia. **Archives of Oral Research**, v. 7, n.1, p.89-97, 2011.

BONA, E. A. M. de.; PINTO, F. G. da S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. de. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, n. 3, p. 218-225, 2014.

BORUGA, O.; JIANU, C.; MISCA, C.; GOLET, I.; GRUIA, A. T.; HORHAT, F. G. *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. **Journal of Medicine and Life**, v. 7, n. 3, p. 56-60, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Projeções do Agronegócio – Brasil 2014/15 a 2024/25**. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/acs/2016/projecoes-agronegocio-2016-2026.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/acs/2016/projecoes-agronegocio-2016-2026.pdf)>. Acesso em: 21 out. 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil - 2018**. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2018.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. *Salmonella* Enteritidis em aves e na saúde pública: revisão De literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 11, n. 21, p. 1-27, 2013.

CHILANTE, R. B.; KUSSAKAWA, K. C. K.; FLEMMING, J. S. Efeitos da utilização de óleos essenciais na alimentação de aves matrizes pesadas. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 10, n. 4, p. 387-394, 2012.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute . **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Sixth Edition. CLSI document M7-A6 .CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

CROXEN, M. A.; FINLAY. B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 26-38, 2010.

DAHAK, K.; TAOURIRTE, M. Comparative study of in vitro antimicrobial activities of *Foeniculum vulgare* Mill. (Umbelliferae) extract. **Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 4, p. 115-120, 2013.

DAUQAN, E. M. A.; ABDULLAH, A. Medicinal and Functional Values of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Herb. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 17-22, 2017.

EMBRAPA AVES E SUÍNOS. **Central de Inteligência de Aves e Suínos**, Concórdia, Mai. 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/frangos/brasil>>. Acesso em: 14 mai. 2018.

GACCHE, R.N.; SHAIKH, R.U.; PUND, M.M. In vitro evaluation of anticancer and antimicrobial activity of selected medicinal plants from Ayurveda. **Asian Journal of Traditional Medicines**, v.6, n.3, p.127-133, 2011.

GUIMARÃES, C. de C.; FERREIRA, T. C.; OLIVEIRA, R. C. P. de.; SIMIONI, P. U.; UGRINOVICH, L. A.. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 15, n. 2, p. 83-89, 2017.

HOSSAIN, M. A.; AL-RAQMI, K. A.; AL-MIJIZY, Z. H.; WELI, A. M.; AL-RIYAMI, Q. Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 9, p. 705-710, 2013.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSSELL, F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **Veterinary Journal**, v. 187, n. 1, p.182-188, 2011.



ISMAIL, M. M.; ESSAM, T. M.; MOHAMED, A. F.; MOURAD, F. E. Screening for the Antimicrobial Activities of Alcoholic and Aqueous Extracts of Some Common Spices in Egypt. **International Journal of Microbiological Research**, v. 3, n. 3, p. 200-207, 2012.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: an Overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, n. 1, p. 1-16, 2013.

LEMOS, M. F.; LEMOS, M. F.; POLTRONIERI, H.; ENDRINGER, P. D. C.; SCHERER, R.. Seasonality modifies Rosemary's composition and biological activity. **Industrial Crops and Products**, v. 70, n. 1, p. 41-47, 2015.

MATOS, J. F. de A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3. ed. Fortaleza, CE: UFC, 2009.

MONECKE, S.; RUPPELT, A.; WENDLANDT, S.; SCHAWARZ, S.; SLICKERS, P.; EHRICHT, R.; JACKEL, S. C. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates from diseased poultry. **Veterinary Microbiology**, v. 162, n. 1, p. 806-812, 2013.

NAIR, J. J.; WILHELM, A.; BONNET, S. L. STADEN, J. Antibacterial constituents of the plant family Amaryllidaceae. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 1, p. 4943-4951, 2017.

NABAVI, S. M.; MARCHESI, A.; IZADI, M.; CURTI, V.; DAGLIA, M.; NAVABI, S. F. Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: from farm to pharmacy. **Food Chemistry**, v. 173, n.1, p. 339-347, 2015.

OKTAY, M.; GULÇİM, I.; KUFREVİOĞLU, O. I. Determination of *in vitro* antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 36, n. 2, p. 263-271, 2003.

PAVARINI, D. P.; PAVARINI, S. P.; NIEHUS M.; LOPES, N. P. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, n. 1, p. 5-16, 2012.

PINTARO, S. P.; FIORANI, L.V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjeriço (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 686-691, 2012.

SAAD, S.; TEHER, M.; SUSANTI, D.; QARALLER, H.; AWANG, A. F. I. In vitro antimicrobial activity of mangrove plant *Sonneratia alba*. **Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 6, p. 427-429, 2012.

SAKARIDIS, I.; SOULTOS, N.; IOSSFIDOU, P.; KOIDIS, P.; AMBROSIADIS, I. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Serovars From Chicken Carcasses in Northern Greece. **Journal of Food Safety**, v. 31, n. 1, p. 203-210, 2011.

SANGALETI, T. P.; GEROMEL, M. R.; FAZIO, M. L. S. Atividade antibacteriana de extratos aquosos de açafrão, cominho, estragão, endro e tomilho. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 1, p. 113-117, 2017.

SCUH, M. C.; PINTO, F. G. da S.; DE BONA, E. A. M.; WEBER, L. D.; ALVES, L. F. A.; MOURA, A. C. Occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolates recovered from poultry of Western Paraná, Brazil. **African Journal of Agriculture Research**, v. 9, n. 9, p. 823-830, 2014.

SERDELIDIS, D.; ANGELIDIS, A. S. Methicillin -resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a controversial food - borne pathogen. **Lett Appl Microbiol**, v. 64, n. 4, p. 409-418, 2017.

SILVA, N. C. C.; FERNANDES JUNIOR, A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 16, n. 3, p. 402-413, 2010.

SILVA, R. M. ***Escherichia coli* em aviários, celulites e fígados de frango e suas consequências para a avicultura**. 2015. 107 f. Tese (Doutorado em Biociência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.

SOUZA, R. B. de.; MAGNANI, M.; FERRARI, R. G.; KOTTWITZ, L. B. M.; SARTORI, D.; TOGNIM, M. C. B.; OLIVEIRA, T. C. R. M. de. Detection of Quinolone-Resistance Mutations In *Salmonella* spp. Strains of Epidemic and Poultry Origin. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 211-215, 2011.

TEIXEIRA, E. N. M.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; GOULART, C. C.; MELO, T. S. Óleo essencial de erva-doce na ração de frangos de corte alojados em cama nova e reciclada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 874-884, 2013.

---

## **CAPÍTULO 3**

**Extrato aquoso de tomilho reduz carga bacteriana em cama de frango**

---

## Extrato aquoso de tomilho reduz carga bacteriana em cama de frango

Pedro Paulo de Jesus Pimentel<sup>1</sup>, André Luís Alves Costa<sup>2</sup>, Isabella de Matos Mendes da Silva<sup>3</sup>, Ricardo Mendes da Silva<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola. E-mail: pimentel.pedro@hotmail.com.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras. Departamento de Estatística. E-mail: andrealvesest@gmail.com.

<sup>3</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências da Saúde. E-mail: isabellamatos@ufrb.edu.br; E-mail: ricardomendesvet@gmail.com.

**Resumo** – O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do uso do extrato aquoso de *Thymus vulgaris* (tomilho) para redução de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em cama de frango. Foram aplicados três tratamentos: T1 – adição do extrato aquoso de tomilho a 30mg.mL<sup>-1</sup>, T2 – extrato de tomilho a 60mg.mL<sup>-1</sup>; e T3 – sem adição do extrato (controle). Foram realizadas ainda análises microbiológicas em camas de frango novas e após criação de um lote de aves no período de novembro de 2017 a fevereiro de 2018. O delineamento experimental adotado no estudo foi inteiramente casualizado com dois fatores. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. A cama de frango nova apresentou alta contagem de *E. coli*, não diferindo significativamente ( $p>0,05$ ) da contagem na cama usada. A cama nova mostrou-se isenta de *Salmonella* spp. e com baixa contagem de *S. aureus*, a qual diferiu significativamente ( $p<0,05$ ) da cama usada. Não houve diferença significativa ao nível de 5% no tratamento controle entre os dias de avaliação. A aplicação do extrato na concentração de 60mg.mL<sup>-1</sup> apresentou maior redução da carga bacteriana.

**Palavras-chave:** avicultura; colibacilose; *Thymus vulgaris* L.; ervas condimentares. APEC

## Aqueous extract of thyme as an alternative treatment for broiler litter

**Abstract** – The objective of this study was to evaluate the aqueous extract of *Thymus vulgaris* (thyme) to reduce *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in broiler litter. It was not

before treatments: T1 - sodium extract at  $30\text{mg.mL}^{-1}$ , T2 - thyme extract at  $60\text{mg.mL}^{-1}$ ; and T3 - without addition to the extract (control). Microbiological analyzes were carried out on new chicken litters and after a batch of broylers. The experimental design adopted in the study was completely randomized with two factors. The data were analyzed by analysis of variance and were compared by the Tukey test at the 5% level of significance. A new broiler litter was high *E. coli* count, not significantly differing ( $p>0.05$ ) from the count in broiler litter used. A new bed proved to be free of *Salmonella* spp. and with the *S. aureus* count, a significant difference ( $p<0,05$ ) in the bed used. They were not submitted to level 5% without control between the evaluation days. The application of the extract in the concentration of  $60\text{mg.mL}^{-1}$  produced a greater reduction of the bacterial load.

**Key words:** Poultry farming. Colibacillosis. *Thymus vulgaris* L. Condiment herbs. APEC.

## INTRODUÇÃO

Os constantes investimentos no setor, sobretudo no que diz respeito às tecnologias de produção e abate, têm consagrado o Brasil como um dos maiores exportadores de produtos avícolas do mundo, ocupando posição de destaque no cenário mundial, consolidado como segundo maior produtor e maior exportador de carne de frango do mundo (ABPA, 2017).

De acordo com o Relatório de Projeções do Agronegócio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no período de 2014/2015 a 2024/2025, é estimado um crescimento anual de 3% na produção de carne de frango, índice superior ao projetado para produção bovina e suína. Ainda segundo o relatório, a taxa de exportação deve crescer a 3,6% ao ano e o consumo per capita nacional deve alcançar a marca de 54,7 quilos (Brasil, 2015).

Neste cenário de crescente demanda pelos produtos avícolas, tanto do mercado interno quanto do mercado externo, a indústria avícola brasileira intensifica suas atividades a cada ano, alcançando altos índices de produtividade. Porém, como reflexo do aumento na produção nacional, a avicultura industrial gera uma enorme quantidade de resíduos, sendo necessário pensar em medidas de manejo e diminuição dos impactos ambientais causados pela atividade avícola.

A cama de frango se configura como maior resíduo da atividade avícola industrial moderna. Também chamada de cama de aviário, a cama de frango é resultado da mistura de um material absorvente utilizado na forração do piso do galpão, geralmente maravalha mais todo material incorporado durante o ciclo de criação das aves, incluindo excretas das aves,

descamações da pele, restos de ração, penas e água dos bebedouros (Silva, 2011; Fogaça et al., 2017).

Como forma de diminuir os custos da produção e impactos ambientais gerados pela avicultura, a reutilização da cama de frango é prática comum na indústria avícola brasileira (Avila et al, 2008). Contudo, devido às suas características microbiológicas, torna-se necessário submetê-la a algum tipo de tratamento, visando diminuir a carga microbiana indesejável, a fim de garantir a sanidade das aves que serão criadas sobre a mesma cama de frango (Vieira et al., 2015).

Segundo Silva (2011), diversos métodos podem ser empregados para tratamento da cama de frango, sendo que os mais comuns são a adição de cal virgem e a fermentação da cama, seja enleirada no centro do galpão ou pela cobertura da cama em toda extensão do galpão. Porém, embora sejam métodos amplamente utilizados, algumas pesquisas têm relatado que estes métodos não são tão eficazes na diminuição da carga microbiana indesejável (Silva, 2011; Muniz et al., 2014).

Além disso, o tempo necessário para tratamento da cama de frango é ponto crucial na sua reutilização. O tempo destinado ao vazio sanitário, período compreendido entre os lotes de criação das aves, precisa ser o menor possível, a fim de possibilitar maior número de criação de lotes de aves num dado intervalo de tempo. Assim, além da eficácia na eliminação da microbiota indesejável, o tratamento escolhido precisa ser realizado num menor tempo possível.

Os extratos vegetais já são utilizados pela indústria avícola, tendo em vista as suas propriedades antimicrobianas, sendo comumente utilizados como aditivo fitogênico no intuito de melhorar o desempenho animal, aumentando as taxas de conversão alimentar, ou no controle de enteroparasitos aviários (Mountzouris et al., 2011; Bona et al., 2012). O uso do extrato de *Thymus vulgaris* (tomilho) na alimentação das aves de cortes tem revelado muitos benefícios, devido ao seu reconhecido potencial antimicrobiano (Rizzo et al., 2010).

Contudo, apesar dos benefícios no uso de extratos vegetais atribuídos ao seu potencial antimicrobiano, não há relatos na literatura especializada sobre o uso destes produtos visando o tratamento da cama de frango. Neste sentido, este trabalho foi desenvolvido com o intuito de avaliar o efeito da introdução do extrato aquoso de *Thymus vulgaris* (tomilho) na cama de frango enquanto método de tratamento para reutilização da cama entre lotes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O extrato aquoso de *T. vulgaris* foi produzido pelo método de infusão. As amostras vegetais, obtidas na feira da cidade de Santo Antônio de Jesus – Bahia, previamente secas, foram trituradas em moinho de facas tipo Wiley (Tecnal<sup>®</sup> TE-650/1) e adicionadas em água destilada a 90 °C na proporção de 1:10; permanecendo sob agitação por 24 horas. Na sequência, a mistura foi filtrada e liofilizada (Terroni<sup>®</sup> LS 3000) até adquirir consistência de pó. O extrato foi diluído em água destilada e armazenado sob refrigeração ao abrigo da luz até o momento da utilização.

A cama de frango, anteriormente utilizada por um lote de criação de aves, foi acondicionada em caixas plásticas com dimensões de 30cm de largura, 15cm de altura e 50cm de profundidade. Foram utilizados 0,10 m de cama em cada caixa, obtendo-se volume final de 0,225m<sup>3</sup> de cama por caixa. As amostras de cama de frango foram submetidas a três tratamentos: T1 – extrato de tomilho a 30mg.mL<sup>-1</sup>; T2 – extrato de tomilho a 60mg.mL<sup>-1</sup>; e T3 – água destilada esterilizada (controle). Os extratos, bem como a água destilada estéril, foram pulverizados, com auxílio de um borrifador, por toda extensão da cama de frango.

Foram realizadas avaliações da carga bacteriana em quatro períodos: tempo 0 – antes da aplicação do extrato; tempo 2 – dois dias após aplicação do extrato; tempo 5 – cinco dias após aplicação do extrato; e tempo 8 – oito dias após aplicação do extrato, em que foram coletadas amostras de cinco pontos distribuídos ao longo da caixa plástica e colocadas em um saco plástico de primeiro uso, homogêneas e retirada uma alíquota de 25g para prosseguir às análises microbiológicas.

A quantificação da população de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi realizada por meio do método rápido Petrifilm<sup>™</sup> (3M Company), utilizando placas EC (AOAC 998.08) para *E. coli* e STX (AOAC 975.55) para *S. aureus*, conforme recomendações do fabricante. As placas foram incubadas em tempo e temperatura adequadas e, com auxílio do contador de colônias digital (Phoenix<sup>®</sup> CP600 Plus), foram contadas colônias típicas de *E. coli* (colônias azuis com bolha de gás) e *S. aureus* (coloração colônias vermelho-violeta), com os valores expressos em log<sub>10</sub> UFC.g<sup>-1</sup>.

A fim de comparar a população bacteriana em camas de frango novas e utilizadas após um lote de criação de aves, foram coletadas amostras destas camas diretamente no galpão de criação das aves. As amostras foram coletadas de forma asséptica a partir de 10 pontos equidistantes distribuídos aleatoriamente pelo galpão. As amostras foram reunidas em uma única embalagem e transportadas em caixa térmica contendo gelo reciclável até o Laboratório de Pesquisa em Microbiologia do Núcleo de Segurança Alimentar e Nutricional (SANUTRI)

do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (CCS/UFRB).

A caracterização microbiológica das amostras de cama de frango foi realizada pela quantificação da população de *E. coli* e *S. aureus*, conforme a metodologia descrita acima. Foi realizada ainda a pesquisa para *Salmonella* spp., por meio do método rápido Petrifilm™ (3M Company), utilizando placas SALX, conforme recomendação do fabricante.

O experimento foi conduzido empregando-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com dois fatores (tempo e tratamento). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o *software* estatístico R. O modelo estatístico adotado no experimento foi o seguinte:  $Y_{ijk} = m + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$ ; em que,  $Y_{ijk}$  é o valor observado para a variável em estudo referente a k-ésima repetição da combinação do i-ésimo nível do fator A com o j-ésimo nível do fator B;  $m$  é a média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;  $\alpha_i$  é o efeito do i-ésimo nível do fator A no valor observado  $Y_{ijk}$ ;  $\beta_j$  é o efeito do j-ésimo nível do fator B no valor observado  $Y_{ijk}$ ;  $(\alpha\beta)_{ij}$  é o efeito da interação do i-ésimo nível do fator A com o j-ésimo nível do fator B;  $e_{ijk}$  é o erro associado a observação  $Y_{ijk}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos dados analisados (Tab. 1) pôde-se observar alta contagem de *E. coli* na cama nova, que de acordo com o teste de Tukey com nível de 5% de significância não diferiu significativamente da contagem na cama usada, após um ciclo de criação de aves.

Este resultado chama atenção sobre a qualidade microbiológica das camas novas. Uma elevada carga bacteriana deste material pode estar associada à sua origem, provavelmente com inadequadas condições de produção, conservação, armazenamento e transporte ao aviário. Uma carga elevada deste microrganismo pode representar um desafio sanitário significativo para as aves que serão alojadas neste ambiente, especialmente quando se trata de pintos de um dia de vida.

Tabela 1 – Comparação da presença de microrganismos em camas de frango nova e após criação de um lote de aves (usada).

Microrganismos	Cama de Frango	
	Cama Nova	Cama Usada



<i>Escherichia coli</i>	3,15 <sup>a</sup>	3,37 <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1 <sup>a</sup>	3,23 <sup>b</sup>
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente	Presente

\*Valores expressos em  $\log_{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>.

\*\*Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

A população de *S. aureus* na cama nova foi  $<1 \log_{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>, a qual com nível de 5% de significância, diferiu da contagem de *S. aureus* na cama usada, em que foi registrada população de  $3,23 \log_{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>. Assim, supõe-se que a incorporação de *S. aureus* à cama de frango ocorra, principalmente, durante o ciclo de criação das aves. A entrada de microrganismos nos ambientes de criação pode ocorrer de diversas formas, destacando-se a contaminação das rações destinadas à alimentação dos frangos de corte e a água de dessedentação. Além destas fontes, Menezes et al. (2018) salientam que a própria ave pode atuar como contaminante de *S. aureus* para cama de frango, pela presença da bactéria na pele, nas penas e no trato respiratório das aves. Assim, as descamações da pele e as pernas das aves, ao serem incorporadas à cama de frango durante o seu ciclo de criação, atuam como importante fonte de contaminação.

Segundo Marcon et al. (2013), as rações, quando contaminadas, além de veicular importantes patógenos ao plantel, podem diminuir a eficiência alimentar das aves e ocasionar problemas de ordem sanitária, culminando no desenvolvimento de doenças e consideráveis perdas econômicas a esse sistema de produção.

Além da qualidade microbiológica da ração, Amoroso et al. (2015) destacaram que, embora a água seja indispensável para produção avícola, sua qualidade microbiológica tem sido questionada, servindo de fonte de contaminação para as aves, pondo em risco à saúde animal e, por consequência, humana, caso estas bactérias sejam veiculadas para a carcaça durante o processamento industrial. Assim, tornam-se necessárias ações que visam reduzir ou eliminar determinados microrganismos nos ambientes de criação, e, com isso, diminuir a presença destes nas etapas de processamento. A qualidade microbiológica dos insumos avícolas, sobretudo a ração e a água, é um item que deve ser cautelosamente observado, já que, em caso de contaminação, irá afetar todo plantel avícola.

A cama de frango nova mostrou-se isenta de *Salmonella* spp., diferente da cama usada, em que foi possível observar a presença da bactéria em todas as amostras analisadas. Assim, acredita-se que a incorporação de *Salmonella* spp. à cama de frango, bem como *S. aureus*, ocorra durante o ciclo de criação das aves.

A entrada desta bactéria nos ambientes de criação de aves, segundo Marin et al. (2011), ocorre principalmente através dos pintos de um dia e da ração para os frangos. Os pintos podem ser contaminados principalmente via transmissão vertical, em que as aves transferem, através da contaminação do ovo, a bactéria para os pintos (Cardoso & Tessari, 2013). Uma vez que estão contaminadas com *Salmonella* spp., as aves transferem a bactéria para cama de frango principalmente através de suas excretas, devido a grande quantidade de material fecal incorporado à cama durante o ciclo de criação das aves. Neste ambiente, a bactéria encontra condições favoráveis (pH, atividade de água e temperatura) para sua multiplicação (Silva, 2011; Muniz et al, 2014).

Já a presença de *Salmonella* spp. na ração dos frangos, segundo Hermann (2012), pode ocorrer devido a utilização de alguma matéria-prima contaminada, geralmente de origem animal, contribuindo para contaminação do produto final. Assim, este conjunto de fatores possibilita a contaminação progressiva de toda cadeia de produção avícola, necessitando de esforços conjuntos, visando a sanidade animal e a produção de alimentos seguros do ponto de vista microbiológico.

Embora seja difícil pensar num ambiente de criação avícola que seja isento de microrganismos patogênicos, torna-se necessário buscar estratégias para diminuir a incidência destes microrganismos no ambiente avícola, assegurando a criação das aves num ambiente microbiologicamente seguro.

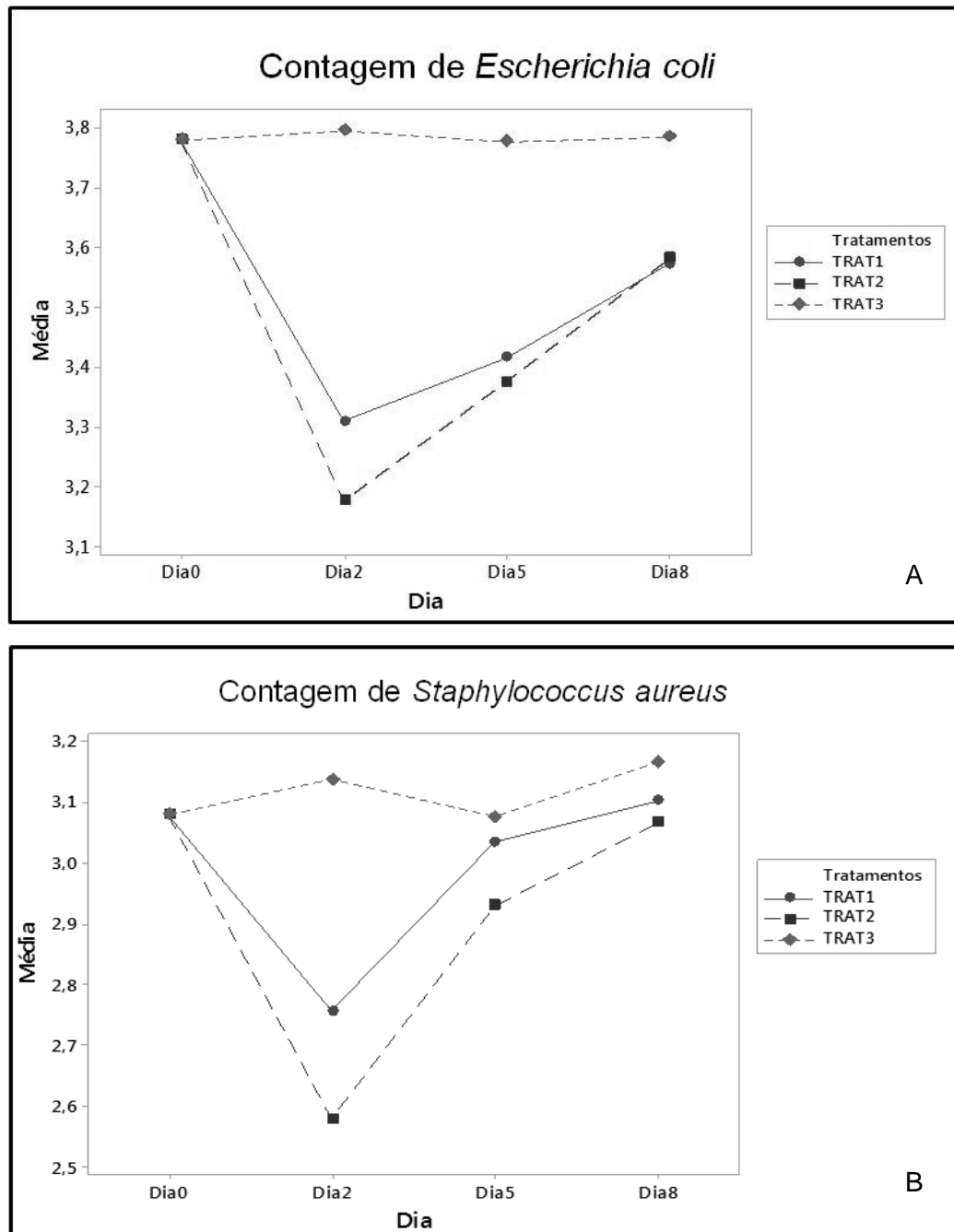
Neste sentido, sugere-se o desenvolvimento de pesquisas que atestem a qualidade microbiológica destes insumos avícolas, a fim de evitar a entrada de bactérias patogênicas no ambiente avícola. Além disso, é importante o monitoramento periódico da presença de patógenos nos insumos avícolas, com a finalidade de preservar a saúde humana e animal.

Ainda que não tenha sido o objetivo do trabalho, ao longo das coletas de cama de frango no aviário, foi possível observar grande quantidade de larvas e indivíduos adultos de *Alphitobius diaperinus* (cascudinho). Este inseto, por vezes, não é eliminado durante os métodos de tratamento em que a cama é submetida e pode atuar como importante fonte de contaminação para cama nova, por albergar microrganismos patogênicos (Fogaça et al., 2017).

Visando a ampliar as opções de tratamento atualmente disponíveis em que as camas de frango são comumente submetidas, os dados obtidos mostraram que houve diferença significativa, ao nível de 5% de significância, nas médias da contagem de bactérias entre os três tratamentos e entre os dias analisados. Além disso, de acordo com as informações

contidas na Fig. 1, foi possível observar um efeito de interação entre o fator tratamento e o fator tempo, ou seja, ambos os fatores causam um efeito simultâneo na contagem de bactérias.

Figura 1. Efeitos da aplicação do extrato aquoso de *T. vulgaris* sobre a população de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* ( $\log_{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>).



Contagem de *Escherichia coli* em (A) e *Staphylococcus aureus* em (B). Tratamento 1 (TRAT1)= 30mg.mL<sup>-1</sup>; Tratamento 2 (TRAT2) = 60mg.mL<sup>-1</sup>; Tratamento 3 (TRAT3) = controle.

No tratamento controle, em que não foi aplicado o extrato, não foram encontradas diferenças significativas ao nível de 5% nos diferentes períodos de coleta, o que significa que

a cama não tratada permaneceu contaminada durante todo período experimental. Além disso, importante observar, a partir das médias da contagem de ambos os microrganismos, a água utilizada no tratamento controle não apresentou qualquer efeito sobre a microbiota da cama, uma vez que não houve, ao nível de 5% de significância, diferença significativa na contagem de microrganismos entre os períodos analisados.

Estes dados são importantes na medida em que revelam que a cama, caso não seja submetida a algum tipo de tratamento, permanece contaminada durante todo o tempo, não havendo diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) na contagem de bactérias entre os dias de avaliação. Assim, em caso de reutilização, é indispensável à adoção de algum tratamento voltado a redução da microbiota indesejável, a fim de garantir a sanidade das próximas aves que serão criadas sobre a mesma cama.

Pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, antes da aplicação do extrato vegetal não houve diferença significativa para a contagem de ambos os microrganismos para os três tratamentos. Após dois dias da aplicação do extrato vegetal foi possível observar diferenças nas contagens de microrganismos nos tratamentos realizados. Para ambos os microrganismos investigados, o tratamento 2 ( $60\text{mg.mL}^{-1}$ ) mostrou-se melhor em relação ao tratamento 1 ( $30\text{mg.mL}^{-1}$ ) por apresentar menor contagem em média de microrganismos. Ao nível de 5% de significância, os tratamentos 1 e 2 diferiram significativamente entre si e em relação ao tratamento 3 (controle).

Embora tenha sido possível observar um aumento na contagem de ambos os microrganismos em relação ao período anterior de avaliação, mesmo após cinco dias da aplicação do extrato de tomilho a carga bacteriana, ao nível de 5% de significância, foi significativamente menor que a contagem de bactérias no tempo 0 (antes da aplicação do extrato) e no tratamento controle. Tanto para população de *E. coli* quanto para população de *S. aureus*, ainda que o tratamento 1 e o tratamento 2 não tenham diferido significativamente entre si pelo teste de Tukey, o tratamento 2 proporcionou melhor qualidade microbiológica para cama de frango devido a menor contagem em média logarítmica das populações bacterianas.

No teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, as populações de *S. aureus*, após oito dias da aplicação do extrato, nos tratamentos 1 e 2 não apresentaram diferença significativa entre si, com valores de média bastante próximas. As médias da população bacteriana em ambos os tratamentos também não diferiram significativamente do tratamento controle. Isso demonstra que após oito dias da aplicação o extrato de tomilho não apresenta qualquer efeito inibidor sobre a população de *S. aureus*.

Após oito dias da aplicação do extrato de tomilho, a contagem de *E. coli* dos tratamentos 1 e 2 não diferiu ao nível de 5% de significância. No entanto, ambos os tratamentos diferiram do tratamento controle, demonstrando que, diferente de *S. aureus*, o extrato aquoso de tomilho continuou exibindo ação inibitória sobre a população de *E. coli*.

Embora o extrato de tomilho tenha sido responsável por uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) na população de *E. coli* e *S. aureus*, conforme observada no segundo dia de avaliação, a redução da capacidade de inibição apresentada pelo extrato de tomilho, a partir do terceiro dia de avaliação, pode estar relacionada à volatilização de seus constituintes químicos e/ou a instabilidade dos mesmos, na presença de luz, calor, umidade e outros agentes responsáveis pela degradação dos compostos químicos (Simões & Spitzer, 2000). A volatilização dos constituintes químicos é inerente ao uso dos extratos vegetais. Neste sentido, sugere-se a reaplicação do extrato vegetal após cinco dias da primeira aplicação, garantindo a continuidade dos efeitos proporcionada por estes produtos sobre a microbiota da cama de frango.

A presença de metabólitos secundários é responsável por inúmeras atividades biológicas atribuídas ao extrato de tomilho. Além do seu potencial antibacteriano, estudos são conduzidos no intuito de demonstrar seu potencial antioxidante, antiviral, antiparasitário, antifúngico, antisséptico (Dauqan & Abdullah, 2017) e inseticida (Pavela, 2016).

Na busca por produtos alternativos, visando substituir os antimicrobianos convencionais e tendo em vista o reconhecido potencial antimicrobiano, o extrato de tomilho é comumente utilizado pela indústria avícola como aditivo fitogênico na dieta de frangos de corte, objetivando melhorar o desempenho zootécnico a partir da modulação da microbiota intestinal (Koiyama et al., 2014; Deminiciis et al., 2018), além de controlar a coccidiose, importante parasitose aviária causada por protozoários do gênero *Eimeria* (Bona et al., 2012). Além destas finalidades, recentemente tem sido relatada a utilização do extrato de tomilho enquanto alternativa para controle do cascudinho na cama de frango (Volpato et al., 2018).

Como visto, embora seu uso seja comum na indústria avícola, não há relatos sobre a utilização de extratos vegetais, sobretudo o de tomilho, enquanto tratamento alternativo para cama de frango. Neste sentido, embora ainda careça de mais estudo e a realização de experimentos em campo, a partir dos dados obtidos neste trabalho nos períodos analisados, o extrato aquoso de tomilho demonstra grande potencial para o tratamento da cama de frango. A aplicação do extrato de tomilho por até cinco dias a partir da concentração de  $60\text{mg.mL}^{-1}$  oferece maior diminuição da carga bacteriana presente na cama.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos conclui-se que a aplicação do extrato aquoso de tomilho em diferentes concentrações reduz significativamente as populações de *E. coli* e *S. aureus* na cama de frango.

Neste sentido, é possível acreditar que a adoção de extratos vegetais, sobretudo o de tomilho, enquanto tratamento para cama de frango contribua para ampliar as possibilidades de tratamento atualmente disponíveis ao produtor de frango de corte. A introdução do extrato de tomilho à cama frango mostrou-se um método eficaz, além de demandar pouco tempo, o que irá permitir a criação de um maior número de lotes de aves num dado intervalo de tempo, com possibilidade de elevar a qualidade sanitária dos produtos oriundos deste lote.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos

## REFERÊNCIAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2017**. Disponível em: < [http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c\\_final\\_abpa\\_relatorio\\_anual\\_2016\\_portugues\\_web\\_reduzido.pdf](http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf) >. Acesso em: 20 abr. 2018.

AMOROSO, L.; BARALDI-ARTONI, S. M.; SOARES, N. M.; PINTO, F. R. PACHECO, M. R.; SAGULA, A. L.; ALVA, J. C. R.; AMOROSO, P. Influência da qualidade microbiológica da água de dessedentação na morfologia intestinal de frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 80-88, 2015.

AVILA, V. S. de; COSTA, C. A. F.; FIGUEIREDO, E. A. P. de; ROSA, P. S.; OLIVEIRA, U. de; ABREU, V. M. N. **Materiais alternativos em substituição à maravalha como cama de frangos**. Concórdia, SC: EMBRAPA-CNPSA, 2007. (EMBRAPA-CNPSA. Comunicado Técnico, 465).

BONA, T. D. M. M.; PICKLER, L.; MIGLINO, L. B.; KURITZA, L. N.; VASCONCELOS, S. P.; SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 5, p.411-418, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Projeções do Agronegócio – Brasil 2014/15 a 2024/25**. Disponível em: <

[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/acs/2016/projecoes-agronegocio-2016-2026.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/acs/2016/projecoes-agronegocio-2016-2026.pdf)>. Acesso em: 21 out. 2016.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. *Salmonella* enteritidis em aves e na saúde pública: revisão De literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Belo Horizonte-MG, v. 11, n. 21, p. 1-27, 2013.

DAUQAN, E. M. A.; ABDULLAH, A. Medicinal and Functional Values of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Herb. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 17-22, 2017.

DEMINICIS, R. G. da S. Efeito da utilização de fitobióticos no desempenho zootécnico e perfil da flora bacteriana do trato gastrointestinal de frangos de corte: uma revisão sistemática. IV Simpósio de Avicultura do Nordeste, 2018. João Pessoa (PB). **Anais...** João Pessoa, 2018, p. 113-115.

FOGAÇA, I.; FERREIRA, E; SATURNINO, K. C.; SANTOS, J. CAVALI, J.; PORTO. M. O. Álcool para controle de cascudinho em cama de frango de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 256, p. 509-514, 2017.

HERMANN, S. Principais pontos críticos de controle de ciclo da *Salmonella* na cadeia de produção avícola. XIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2012. Chapecó (SC). **Anais...** Chapecó, 2012. p. 13-26.

KOYAMA, N. T. G.; ROSA, A. P.; PADILHA, M. T. S.; BOEMO, L. S.; SCHER, A.; MELO, A. M. da S.; FERNANDES, M. de O. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 3, p. 225-231, 2014.

MARIN, C.; BALASCH, S.; VEGA, S.; LAINEZ, M. Sources of *Salmonella* contamination during broiler production in Eastern Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 98, n. 1, p. 39-45, 2011.

MENEZES, L. D. M.; LIMA, A. L.; PENA, E. C.; SILVA, G. R.; KLEIN, R. W. T.; SILVA, C. A.; ASSIS, D. C. S.; FIGUEIREDO, T. C.; CANÇADO, S. V. Caracterização microbiológica de carcaças de frangos de corte produzidas no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 2, p. 623-627, 2018.

MOUNTZOURIS, K. C.; PARASKEVAS, V.; TSIRTIKOS, P.; PALAMIDI, I.; STEINER, T.; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K. Assessment of a phytogenic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. **Animal Feed and ScienceTechnology**, v. 168, n.3, p. 223-231, 2011.

MUNIZ, E.; MESA, D.; CUASPA, R.; SOUZA, A. M.; SANTIN, E.. Presence of *Salmonella* spp. in reused broiler litter. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, v. 27, n. 1, p. 12-17, 2014.

PAVELA, R. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects—a review. **Plant Protection Science**, v. 52, p. 229-241, 2016.

RIZZO P.V.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; TRALDI, A. B.; SILVA, C. 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.

SILVA, V. S. Métodos e Segurança Sanitária na Reutilização de Cama de Aviários. In: PALHARES, J. C. P.; KUNZ, A. **Manejo Ambiental na Avicultura**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 149).

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2000. p. 475.

VOLPATO, A.; GALI, G.; CAMPIGOTTO, G.; GLOMBOWSKY, P.; SANTOS, R.; SILVA, A. S.; VAUCHER, R.. Avaliação in vitro dos efeitos inseticida e larvicida de oito óleos essenciais sobre o cascudinho aviário (*Alphitobius diaperinus*). **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 2, p. 84-90, 2018.

VIEIRA, M. de F. A.; TINOCO, I. de F. F.; SANTOS, B. M.; INOUE, K. R. A.; MENDES, M. A. dos S. A. Sanitary Quality of Broiler Litter Reused. **Journal of the Brazilian Association of Agricultural Engineering**, v. 35, n. 5, p. 800-807, 2015.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

É clara a importância da indústria avícola para a economia do país. O crescente aumento da população mundial demanda a cada dia maior oferta de alimentos, que devem oferecer, além de preços acessíveis ao consumidor, boa qualidade sanitária e nutricional. Neste sentido, a indústria avícola brasileira intensifica sua produção, a fim de abastecer o mercado interno e externo.

No entanto, como em qualquer atividade industrial, o aumento da produção implica também em maiores quantidades de resíduos que são gerados, exigindo que cada vez mais que esforços sejam empreendidos no intuito de garantir o adequado manejo destes resíduos.

A grande disponibilidade da cama de frango – principal resíduo da atividade avícola industrial – e as tendências do aumento da sua produção requerem o direcionamento de pesquisas e a disseminação de técnicas que permitam o máximo aproveitamento deste resíduo, contribuindo, dessa forma, para o estabelecimento de um sistema avícola que seja economicamente viável e cause o mínimo de impacto ambiental possível.

Contudo, o reaproveitamento da cama de frango tem como grande desafio a redução da carga de elementos potencialmente causadores de contaminação ambiental, especialmente microrganismos que representam riscos à saúde humana e animal e contaminantes do meio ambiente.

A presença de microrganismos na cama de frango é inerente à produção avícola, podendo ser minimizada, mas não evitada. Desta forma, cabe buscar estratégias de manejo deste resíduo de forma a garantir, em todo caso, qualidade sanitária seja qual for a sua aplicação. Ou seja, é preciso submeter a cama de frango a algum tipo de tratamento, visando reduzir a alta carga microbiana deste material, sobretudo àquela composta por microrganismos patogênicos e/ou potencialmente patogênicos.

O uso terapêutico de extratos vegetais tem sido relatado pela literatura científica graças à presença de metabólitos secundários que garantem diversas atividades biológicas a estes compostos. O potencial antimicrobiano destes extratos, embora tenham sido explorados durante séculos de forma empírica, ganhou

notoriedade nos últimos anos, chamando atenção de pesquisadores pela possibilidade de substituição aos antimicrobianos convencionais, sobretudo após a crescente preocupação com o desenvolvimento de linhagens bacterianas multirresistentes.

Neste trabalho, a atividade antimicrobiana dos extratos aquosos de *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris* e *Rosmarinus officinalis* foram avaliados contra cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. Embora o extrato de erva-doce não tenha apresentado qualquer atividade inibitória contra as cepas testadas, seu potencial antimicrobiano é conhecido pela literatura. A ausência da atividade antimicrobiana pode estar relacionada com o reduzido número de metabólitos secundários neste extrato, como evidenciado na triagem fitoquímica realizada.

Por outro lado, o extrato de tomilho, o qual apresentou todos os metabólitos secundários prospectados na triagem fitoquímica, apresentou melhor resultado contra as cepas testadas, sendo, então, utilizado para avaliar a sua eficácia enquanto tratamento para cama de frango.

No experimento conduzido, o extrato de tomilho mostrou-se eficiente na redução da carga bacteriana da cama de frango. Entre os períodos de avaliação, foi demonstrado que com dois dias de aplicação do extrato sobre a cama de frango é possível observar redução significativa na contagem de *E. coli* e *S. aureus*. Embora cinco dias após a aplicação do extrato a carga bacteriana tenha voltado a crescer, esta foi significativamente menor que a contagem de bactérias anterior à aplicação do extrato.

Assim, os resultados indicam o potencial do extrato de tomilho enquanto tratamento alternativo para cama de frango. Contudo, como não há relatos sobre a utilização de extratos vegetais para esta finalidade, sugere-se o desenvolvimento de pesquisas com avaliação em campo e outros modelos experimentais.

O estudo desenvolvido, sem dúvidas, servirá como ponto de partida para a realização de outros estudos acerca da atividade antimicrobiana em cama de frangos. Vale destacar o ineditismo deste trabalho, que mesmo com a rotineira utilização de extratos vegetais pela indústria avícola, estes nunca foram avaliados visando o tratamento da cama de frango para redução dos níveis de contaminação microbiológica.