

**EXTRATO DE ORÉGANO COMO ADITIVO
EM RAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE**

Ellen Hatsumi Fukayama

2004

ELLEN HATSUMI FUKAYAMA

**EXTRATO DE ORÉGANO COMO ADITIVO EM RAÇÕES DE
FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador
Prof. Antonio Gilberto Bertechini

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2004

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Fukayama, Ellen Hatsumi

Extrato de orégano como aditivo em rações de frangos de corte / Ellen
Hatsumi Fukayama. -- Lavras : UFLA, 2004.

48 p. : il.

Orientador: Antonio Gilberto Bertechini.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Extrato de orégano. 2. Frangos de corte. 3. Fitoterápico. 4. Aditivo. 5.
Promotor de crescimento. 6. Desempenho. 7. Imunidade. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD-636.50855

ELLEN HATSUMI FUKAYAMA

**EXTRATO DE ORÉGANO COMO ADITIVO EM RAÇÕES DE
FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 9 de julho de 2004.

Prof. Luis David Solis Murgas	UFLA
Prof. Elias Tadeu Fialho	UFLA
Prof. Paulo Borges Rodrigues	UFLA
Prof. Édison José Fassani	UNIFENAS

**Prof. Antonio Gilberto Bertechini
UFLA
(Orientador)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

Aos meus amáveis pais Kiyoci e Taeko, e irmão Hebert, que mesmo nas horas mais difíceis de suas vidas, não me permitiram interromper o mestrado e ajudá-los. Ao contrário, me deram muitos incentivos para realizar este sonho, o qual hoje é realidade!

Dedico

Ao meu amor, Rafael, o meu MUITO OBRIGADO por toda ajuda na decisão deste experimento, pela paciência e por acreditar em mim... cumpri!

Ofereço

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade da realização deste curso.

Ao meu orientador, Prof. Antonio Gilberto Bertechini, pela pessoa que é, sem palavras... e pelos ensinamentos, amizade e confiança.

Aos professores membros da banca examinadora, Luis David Solis Murgas, Édison José Fassani, Elias Tadeu Fialho e Paulo Borges Rodrigues, por todas as orientações, os conselhos e as correções.

Aos professores que me ajudaram muito nas orientações durante o meu mestrado, Cristina Dellareti, Roberta Piccoli, Rilke de Freitas, Antônio Soares, Renata Apocalypse, Raimundo Souza, Priscila Logato e Ana Viveiros, obrigada!

As empresas OURO FINO Saúde Animal do Brasil e MERIDEN da Inglaterra por toda ajuda na realização deste experimento.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, Rogéria, Pedro, Carlos, Borginho, Gilberto, João, Keila, Márcio, Hélio, Claudinho, Dona Lia, Betinho, Hernani, entre vários outros, pela amizade, ajuda e incansáveis momentos de conversas.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária, William, Marquinho e Weslei, por todo auxílio e amizade.

Ao funcionário da biblioteca, Luís, pelas correções das referências bibliográficas da minha dissertação.

Aos meus amigos “irmãos” Reinaldo, Jerônimo, Adriano Geraldo, Henrique, Édison, Gislene, Lyvia, Vanessa, Juliana, Kamilla, Adriano Kaneo, Pedro, Victor, Lucas, Márcio, Júlio, Rodrigo, Fabrício, Michel, Renata, Paula, Mônica, Kênia, Ana Lígia e Vinícius o meu MUITO OBRIGADA, por toda ajuda, durante o meu mestrado. Se todos pudessem ter a oportunidade de ter

vocês em um grupo de trabalho, com certeza seriam muito felizes, assim como eu fui! Vocês entraram e para sempre irão morar em meu coração, VALEU!

Aos meus amigos de alegrias, Roberta, Alessandra, Arnaldo, Sérgio, Sirlei, Cristóvan, Augusto, Márcia, Aniela, Márcio, Renato, Nelson, Yolanda, Paula, Juliana, Leonardo Lara, José Walter, Anderson, Germano, Leozinho, Leonardo (japonês), Joice, Simone, Fabiana, Malu, Pedro, Gabriela, Lutércia, Ana Luiza, Viviane, Milena, Thaís, por toda ajuda e alegria, pois sem eles, meu mestrado não teria graça.

As minhas famílias Nakau, Fukayama e Denise Nishimura pelos créditos depositados em mim.

Em especial, meu eterno agradecimento ao meu Vovô Nakau por todo carinho e companheirismo. *Dedico essa vitória ao senhor!*

A minha Família Neme, a qual tanto afeto e respeito tenho. Obrigada!

Realmente, passou muito rápido!

A todos aqueles que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, o meu mais profundo agradecimento.

OBRIGADA !

BIOGRAFIA

ELLEN HATSUMI FUKAYAMA, filha de Kiyoci Fukayama e Taeko Nakau Fukayama, nasceu em Ribeirão Preto - SP, em 07 de maio de 1980.

Concluiu o ensino fundamental na escola Centro Educacional SESI 301 e o ensino médio no Colégio Carlos Chagas (Anglo) de Ribeirão Preto - SP, em 1997.

Em março de 1998, ingressou na Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, onde, em novembro de 2002, obteve o título de Zootecnista.

Em fevereiro de 2003 iniciou o curso de pós-graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Lavras, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Monogástrico.

Em 09 de julho de 2004 submeteu-se à defesa de dissertação para a obtenção do título de “Mestre”.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	i
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....
.....iv	
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Uso do extrato de orégano como aditivo substituto aos promotores de crescimento.....	3
2.2 Definição e situações da utilização dos fitoterápicos.....	5
2.3 Retirada dos antibióticos na alimentação de frangos de corte	8
2.4 Microbiota intestinal de aves.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 Localização e época de realização do experimento	15
3.2 Aves, instalações e equipamentos.....	15
3.3 Tratamentos e rações experimentais	16
3.4 Medidas de desempenho dos frangos	18
3.5 Rendimento de carcaça	19
3.6 Medidas de peso e tamanho de órgãos do sistema imunológico.....	19
3.7 Morfometria do trato gastrointestinal	20
3.7.1 Preparação das lâminas.....	20
3.8 Análise microbiológica – Contagem total de bactérias.....	23
3.9 pH do conteúdo do duodeno e ceco	24
3.10 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1 Desempenho dos frangos	25
4.2 Avaliação de carcaça	29
4.3 Órgãos relativos à imunidade.....	31
4.4 Morfometria do trato digestório.....	33
4.5 Análise microbiológica – Contagem de bactérias.....	36
4.6 pH do duodeno e do ceco.....	39
5 CONCLUSÕES	41
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 Composição percentual das rações basais utilizadas em cada fase experimental.....	17
TABELA 2 Consumo médio de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar média (CA), no período de 1 a 21 dias e 1 a 42 dias de idade das aves, e seus respectivos desvios padrões (DP) em função dos tratamentos experimentais.....	34 26
TABELA 3 Rendimento de carcaça, peito e gordura abdominal, aos 42 dias de idade das aves e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.....	30
TABELA 4 Peso do baço, peso do timo, peso da bursa de Fabricius em relação à percentagem do peso das aves e tamanho da bursa de Fabricius aos 21 e aos 42 dias de idade, e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.....	32
TABELA 5 Altura de vilosidades (μm), profundidade de criptas (μm) e relação vilosidade:cripta (μm) do duodeno das aves, aos 21 e aos 42 dias de idade e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.....	34

TABELA 6	Contagem total de bactérias e teste destas bactérias para identificação de gram negativo e gram positivo na amostra do ceco das aves aos 42 dias de idade, de acordo com os tratamentos.....	37
TABELA 7	pH do duodeno e ceco das aves, aos 21 dias e 42 dias de idade e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.....	40

RESUMO

FUKAYAMA, Ellen Hatsumi. **Extrato de orégano como aditivo em rações de frangos de corte**. LAVRAS: UFLA, 2004. 48 p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia).*

Os objetivos deste experimento foram avaliar os efeitos da inclusão de extrato de orégano, como aditivo promotor de crescimento, nas rações, sobre o desempenho (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar), o sistema imune das aves (peso e tamanho da bursa de Fabricius, peso do baço e peso do timo), as características anatomo-fisiológicas do trato gastrointestinal (altura de vilosidade, profundidade de cripta e suas relações), a microbiologia do ceco e o pH do duodeno e ceco de frangos de corte. Foram utilizados 1.440 pintos de corte machos Cobb 500, em duas fases de criação (1 a 21 e 22 a 42 dias de idade), distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e oito repetições de 30 aves cada. Utilizou-se uma ração basal (RB) para cada fase da criação sendo que os tratamentos constituídos foram T1 - RB; T2 - RB com antibiótico (25 ppm de bacitracina de zinco); T3 - RB com 0,025% de extrato de orégano (EO); T4 - RB com 0,050% de EO; T5 - RB com 0,075% de EO e T6 - RB com 0,100% de EO, sendo utilizados os mesmos tratamentos nas duas fases de criação. Observou-se que os tratamentos não influenciaram ($P>0,05$) o desempenho das aves nas duas fases de criação. As variáveis de imunidade e avaliação fisiológica-anatômica do trato gastrointestinal aos 21 dias, não apresentaram diferenças ($P>0,05$). Apenas o peso do baço e altura de vilosidade aos 42 dias de idade, foram influenciados pelos diferentes tratamentos ($P<0,05$). Houve uma redução no número de bactérias no ceco das aves, a medida que se elevou o conteúdo do EO nas rações, sendo que este resultado, indicou ação antimicrobiana dos componentes deste extrato. Não houve diferenças ($P>0,05$) nos pHs dos conteúdos duodenal e cecal entre os tratamentos. Na condição em que foi realizado o experimento, pode-se concluir que o uso do extrato de orégano como aditivo promotor de crescimento, não apresentou comportamento diferente ao antibiótico e a testemunha.

* Comitê de Orientação: Prof. Antonio Gilberto Bertechini- UFLA (orientador), Prof. Luis David Solis Murgas - UFLA, Prof Elias Tadeu Fialho.- UFLA, Prof. Paulo Borges Rodrigues- UFLA, Prof. Édison José Fassani - UNIFENAS

ABSTRACT

FUKAYAMA, Ellen Hatsumi. **Oregan extract as an additive in broiler diet.** LAVRAS:UFLA, 2004. 48 p. (Dissertation – Master in Animal Science).*

The objectives of this experiment were to evaluate the efficacy of oregano extract, as growth promoter on performance (feed intake, body weight and feed conversion), immune system (bursa Fabricius weight and volume, spleen weight and thymus weight), anatomic-physiological parameters of the gastrointestinal tract (villy heigh, crypta profundity and villy:crypta ratio), microbiological analysis of broilers caecum, caecum pH and duodenum pH. 1440 Cobb 500 males, in two stages of development (1 to 21 and 22 to 42 days of age). Were randomly distributed into six treatments and eight replicates. A different basal diets (BD) was used for each phase and the treatments were: T1 - BD; T2 - BD with antibiotic (25 ppm zinc bacitracin); T3 - BD with 0.025% oregano extract (OE); T4 - BD with 0.050% OE; T5 - BD with 0.075% OE and T6 - BD with 0.100% OE. The broiler performance both stages of development was not affected by any diet. The immune system and anatomic-physiological parameters of gastrointestinal tract was not affect by any diet, during the first stage. Spleen weight and villy height were affect by diets. There was a decrease on the number of bacteriums in caecum, indicating antimicrobial action of oregan extract. Duodenum and caecum pH were not affected by any diet. Based on these results, it is not possible to conclude the efficacy of oregan extract as growth promoter.

* Guidance Committee: Professor Antonio Gilberto Bertechini_UFLA (Adviser), Professor Luis David Solis Murgas –UFLA, Professor Elias Tadeu Fialho –UFLA, Professor Paulo Borges Rodrigues –UFLA, Professor Édison José Fassani - UNIFENAS.

1 INTRODUÇÃO

Desde a década de 1970 a avicultura industrial vem se destacando pela sua alta eficiência em produzir carnes de excelente qualidade protéica, em menores tempo e custo, quando comparadas às outras carnes. Para sustentar o desenvolvimento de toda a cadeia produtiva avícola, muitas pesquisas nas áreas de melhoramento genético, nutrição, sanidade e manejo vêm sendo realizadas. Junto a esse desenvolvimento, deu-se início ao uso em larga escala de antibióticos como promotores de crescimento na produção de frangos de corte, melhorando o desempenho animal e diminuindo a mortalidade causada por infecções clínicas e subclínicas.

Após anos seguidos do uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação de aves, alguns questionamentos foram levantados. Dentre eles, se estes produtos continham os mesmos princípios ativos de antibióticos usados na terapêutica humana ou apresentavam moléculas cuja estrutura induzia resistência cruzada a antibióticos usados em humanos. Resíduos desses antibióticos poderiam permanecer na carne e, assim, passar ao consumidor final, propiciando o aparecimento de resistência de bactérias intestinais aos promotores de crescimento. Muitas pessoas têm um incorreto conceito de que os alimentos contêm concentrações altas de drogas ou resíduos de hormônio que causam significantes preocupações ou problemas para a saúde. Uma vez respeitadas as dosagens e períodos de retirada dos promotores de crescimento, os alimentos se encontram nos padrões mais altos de segurança para o consumidor.

No entanto, o uso de antibióticos como promotores de crescimento está sendo gradualmente banido por países da Comunidade Européia e poderá ser eliminado até 2006. Sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial de frango de corte, é preciso estar preparado para atender às exigências de exportações, desenvolvendo novas tecnologias e pesquisas que possibilitem alternativas para a substituição dos antibióticos.

Dentre as alternativas, os aditivos fitogênicos, extratos herbais ou extratos vegetais, fazem parte de uma classe de produtos que pode vir a substituir os agentes antimicrobianos. Dentre as diferentes opções, destaca-se o extrato de orégano, por ser composto de dois principais fenóis com propriedades antimicrobianas: o carvacrol e o thymol, que agem sobre a membrana celular bacteriana, impedindo sua divisão mitótica, causando desidratação nas células e, com isso, impedindo a sobrevivências de bactérias patogênicas, apresentando grande efeito como agente antimicrobiano.

Assim, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar os efeitos dos níveis crescentes do extrato de orégano como alternativa aos aditivos em rações de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Uso do extrato de orégano como aditivo substituto aos promotores de crescimento

De acordo com a Federal Food and Drug Administration (FDA), o orégano é classificado como “Generally Recognized as Safe”. Este termo é usado para descrever todas ervas e espécies que são usadas na alimentação humana. O orégano tem sido utilizado na alimentação humana, no mínimo, há 2.300 anos.

O extrato de orégano é uma planta cujo óleo essencial é extraído e destilado a vapor de plantas híbridas de *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*. Em sua composição, 85% constituem-se de dois componentes fenóis naturais fundamentais na ação antimicrobiana, o carvacrol e o thymol, os quais agem sobre a membrana celular bacteriana impedindo sua divisão mitótica, causando desidratação nas células e, com isso, impedindo a sobrevivências de bactérias patogênicas. Outros estudos mostraram que estes dois componentes são conhecidos como isoprenóides, ou seja, flavorizantes naturais, apresentando um efeito positivo na ingestão de ração, não proporcionando odor e gosto para a carne e ovos de animais alimentados com o extrato de orégano (Tsinas, [2003?]).

Estudos realizados com animais mostraram que o uso do extrato de orégano proporcionou um aumento do comprimento da vilosidade, melhorando a área de superfície e, conseqüentemente um aumento da absorção de nutrientes, entre outras funções, como antioxidante, antifúngico, antimicrobiano e anticoccidiano (Tsinas, [2003?]).

Segundo Stiles et al. (1995) e Sivropoulou et al. (1996), o óleo essencial de orégano mostrou efeito antagonista às bactérias gram-positivas e na gram-

negativas, especialmente com *E. coli*, mostrando assim a sua eficiência antimicrobiana.

Em contraste com o antibiótico promotor de crescimento, não há evidência de resistência bacteriana pelo uso do extrato de orégano (Ingram, 1997).

Segundo Miltenburg (2000), a maioria dos extratos deve ser incluída em altas doses para que se observem efeitos comparáveis aos efeitos bacteriostáticos dos antibióticos. Pode-se concluir que muitos extratos contêm vários princípios ativos e que apenas alguns destes princípios ativos, pela sua estrutura química, tem algum efeito antimicrobiano. Para o *Origanum vulgare*, foram descritos mais de 30 compostos químicos antibacterianos, porém, apenas 3 ou 4 têm uma ação antibacteriana por si mesmo, no entanto, não em uma concentração suficiente para mostrar efeitos semelhantes aos antibióticos promotores de crescimento. Os especialistas e nutricionistas da indústria de alimentação animal afirmam que formulações com extratos de ervas devem ser suplementadas em combinações (misturas) de diferentes extratos ou reforçados com princípios bioativos para alcançar resultados técnicos satisfatórios.

Cada vez mais vem se tornando vultosa a participação de plantas medicinais e seus vários usos no cotidiano, tendo em vista a melhoria da qualidade de vida, a crescente busca pela saúde plena e a retirada dos efeitos colaterais da grande maioria dos remédios industrializados (Emiliano, 2003).

Atualmente, várias alternativas para os antibióticos promotores de crescimento vêm sendo utilizadas, mas ainda são necessárias muitas pesquisas para encontrar novos aditivos por um custo mais econômico (Miltenburg, 2000).

2.2 Definição e situações da utilização dos fitoterápicos

A palavra fitoterapia é formada de dois radicais gregos: **fito**, que vem de phyton, que significa planta e **terapia**, vem de therapia, que significa tratamento. Ou seja, tratamento utilizando plantas medicinais. Esta palavra foi criada para designar tradições populares de tratamento, nas quais as plantas medicinais são usadas como medicamento. O uso terapêutico de plantas medicinais ficou restrito à abordagem leiga desde o salto tecnológico da indústria farmacêutica ocorrido nas décadas de 1950 e 60. As plantas medicinais têm sido um importante recurso terapêutico desde os primórdios da antiguidade até nossos dias, contudo, até 2002 representavam a principal arma terapêutica conhecida (Indicador terapêutico, 2002).

Estimativas recentes da Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam que 80% da população dos países em desenvolvimento dependem da medicina tradicional e que cerca de 85% dessa medicina envolvem o uso de extratos de plantas (Pavan–Fruehauf, 2000). Estima-se também que 25.000 espécies de plantas sejam usadas nas preparações da medicina tradicional. É conveniente lembrar que mais de 365.000 espécies de plantas já foram catalogadas, o que corresponde a cerca de 60% das existentes. Estes valores tornam-se mais significantes na demonstração da importância das plantas medicinais e como estímulo à sua investigação, se os considerarmos frente às estimativas de que somente cerca dos 8% das espécies existentes de plantas são sistematicamente estudadas em termos de compostos bioativos e que apenas 1.100 espécies das 365.000 conhecidas foram estudadas em suas propriedades medicinais. Na velocidade em que ocorre o fenômeno de extinção das espécies vegetais, um enorme número de plantas com propriedades medicinais corre o risco de desaparecer antes de seu valor ser reconhecido, o que torna ainda mais urgente intensificar os investimentos nesta área (Garcia et al., 2003).

Entretanto, com o pouco que se conhece sobre a biodiversidade das florestas tropicais torna-se óbvio que o estudo de plantas medicinais no Brasil ainda é fragmentário e escasso. Cerca de 2/3 das espécies de plantas se encontram nos trópicos. Como consequência, pode-se esperar que as potenciais descobertas de novos produtos naturais biologicamente ativos ocorrerão em florestas tropicais. Nosso país possui cerca de 60.000 espécies de plantas, o que corresponde a cerca de 20% de toda a flora mundial conhecida e não menos de 75% de todas as espécies existentes nas grandes florestas. Com este número de espécies, não é surpresa o descobrimento de plantas que contêm valores de cura ainda não explorados em nossa flora.

Aquino (2002) menciona que 40% dos medicamentos produzidos no Brasil possuem princípios ativos retirados das plantas.

Atualmente, as mais poderosas indústrias farmacêuticas do planeta estão investindo na tentativa de descobrir novas moléculas de valor terapêutico a partir da riquíssima biodiversidade presente nas florestas tropicais, como a existente na região amazônica (Sabbatini, 2002).

De acordo com Menten (2002), uma classe de produtos que pode vir a substituir os agentes antimicrobianos consiste dos aditivos fitogênicos, extratos herbais ou extratos vegetais. Esses extratos de plantas são constituídos por óleos essenciais que contêm misturas de substâncias, algumas das quais são princípios ativos, com efeito de promotor de crescimento de aves e outros animais. Os óleos essenciais são extraídos por destilação a vapor de diferentes partes das plantas, como folhas, sementes, frutos, bulbos, rizomas, cascas, etc. Muitos produtos são produzidos comercialmente com propriedades terapêuticas e aromatizantes.

Deans & Ritchie (1987) fizeram uma avaliação das propriedades antibacterianas de óleos essenciais de 50 plantas e, entre os mais potentes,

indicaram os de cravo, amêndoa amarga, pimenta vermelha e noz moscada. Outros autores acrescentaram os extratos de louro, alecrim, orégano e coentro. Diversos princípios ativos dos extratos vegetais tiveram seus efeitos antimicrobianos demonstrados *in vitro*. Entretanto, a concentração inibitória mínima (CIM) encontrada para essas substâncias é muito superior à dos antibióticos. Como exemplo, Kamel (2000) apresentou resultados de CIM de diversos óleos essenciais contra patógenos *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter* sp e *Clostridium perfringens* variando, na maioria dos casos, de 100 a 500 ppm, enquanto que, para o olaquinox, as CIM contra essas bactérias foram de 10 a 20 ppm. Além disso, considerando que as doses recomendadas dos aditivos fitogênicos nas rações são inferiores às CIM encontradas *in vitro* e que, no conteúdo intestinal, o efeito da diluição reduz muito sua concentração, pode-se concluir que, na prática, o efeito antibacteriano não é importante para explicar seu efeito promotor de crescimento.

Em contraposição, Freitas et al. (2001) não obtiveram resultados no desempenho de frangos de corte criados até 42 dias, quando trabalharam com níveis de suplementação de alho (*Allium sativum* L.) na ração em substituição ao antibiótico bacitracina de zinco. A justificativa foi que, possivelmente, o ambiente em que as aves foram criadas (baterias metálicas, desinfetadas, localizadas em salas limpas e arejadas) tenha contribuído para que não houvesse um desafio sanitário adequado, de forma que, ao receberem os aditivos estudados, demonstrassem melhores respostas em relação ao tratamento que não continha qualquer aditivo.

Portanto, informações considerando a resposta à dose, ao metabolismo, à toxicidade e ao máximo nível de resíduos deveriam ser amplamente conhecidas para criar um banco de dados internacional, tornando tais informações disponíveis aos especialistas em alimentos balanceados e aos consumidores (Brugalli, 2003).

O desafio para os pesquisadores e nutricionistas da indústria de alimentação animal é pesquisar e quantificar as funções que estes componentes possuem. Até o momento não é bem conhecido, se um determinado óleo essencial atua como antioxidante, antimicrobiano, imunomodulador, estimulante de consumo e outras funções. Nem mesmo que determinado princípio ativo poderá ter funções múltiplas. A verdade é que devemos pesquisar estes compostos tão antigos com as modernas técnicas de pesquisa, para avaliar as vantagens e eventuais desvantagens dos extratos de ervas e plantas para substituir os antibióticos promotores de crescimento. Somente assim a indústria e o consumidor poderão se sentir seguros, consumindo alimentos de origem animal (Miltenburg, 2000).

2.3 Retirada dos antibióticos na alimentação de frangos de corte

Desde a descoberta do primeiro antibiótico, em 1943, pelo cientista Alexander Fleming, os antibióticos foram considerados as drogas milagrosas do século XX, pois levariam a raça humana a um novo milênio por meio do controle das infecções bacterianas.

O uso profilático dos antibióticos como promotores de crescimento nas rações é praticado desde os anos 1950, viabilizando as criações intensivas na melhoria das taxas de crescimento, na eficiência alimentar e diminuindo a mortalidade devido a infecções clínica e subclínica. De acordo com Carrilo et al. (1995), citados por Freitas et al. (2001), estas melhorias são observadas possivelmente devido ao controle de microrganismos não identificados e moderadamente patogênicos que residem no trato gastrointestinal. No entanto, com o uso intensivo dos baixos níveis de antibióticos, células resistentes sobrevivem e crescem, selecionando uma população de bactérias antibiótico-resistentes (Hernández et al., 2004). Ao mesmo tempo, com o aparecimento de resistência bacteriana a vários antibióticos utilizados em humanos, com a

opinião pública abalada por notícias na mídia sobre a doença da vaca louca, salmonela, dioxina, metais pesados e resíduos de antibióticos nos alimentos consumidos pela população, aumentou a responsabilidade do produtor em produzir alimentos mais seguros (Miltenburg, 2000).

A Comissão das Comunidades Europeias (2001) tem dado uma maior atenção à necessidade de restringir a utilização de antibióticos a problemas graves de saúde humana e animal. De fato, o número de antibióticos autorizados como promotores do crescimento na nutrição animal tem diminuído constantemente, após as proibições à avoparcina, em janeiro de 1997, à ardacina, em janeiro de 1998 e de outros quatro antibióticos em dezembro de 1998 (bacitracina-zinco, virginiamicina, fosfato de tilosina e espiramicina).

No seguimento da revisão de novas provas, o Comité Científico Director concluiu recentemente que as provas que justificaram a proibição original destas substâncias continuam válidas. No entanto, tal como definido no Livro Branco sobre a Segurança dos Alimentos, a Comissão irá alargar a proibição ou a eliminação progressiva de antibióticos utilizados como promotores de crescimento na União Europeia, como parte da sua estratégia geral de controle e contenção da resistência aos antibióticos. Entretanto, é necessário efetuar estudos sobre os setores mais críticos (designadamente, na produção de leitões e frangos) no sentido de minimizar possíveis prejuízos econômicos ou o aumento da utilização de antibióticos para tratamento sob receita veterinária.

De acordo com Menten (2001), com as restrições a uma série de antibióticos impostas anteriormente, os produtores europeus atualmente podem recorrer a apenas quatro promotores de crescimento: monensina, salinomicina, avilamicina e flavomicina; os dois primeiros são ionóforos bastante utilizados como agentes anticoccidianos para aves, restando apenas os dois últimos como promotores do crescimento para frangos de corte e outras aves. No Brasil, produtos que foram utilizados no passado e hoje estão proibidos como aditivos

de rações incluem tetraciclina, penicilinas, cloranfenicol, sulfonamidas sistêmicas, furazolidona, nitrofurazona e avoparcina.

O Ministério da Agricultura acompanhou a União Européia na suspensão da avoparcina e, possivelmente, outros antibióticos no futuro. Atualmente, os aditivos autorizados pelo Ministério da Agricultura como promotores do crescimento de frangos de corte no Brasil são: ácido 3-nitro, ácido arsânico, avilamicina, colistina, flavomicina, lincomicina, nitrovin, olaquinox, tilosina, virginiamicina, bacitracina de zinco, espiramicina e enramicina (Menten, 2001).

Dessa forma, a União Européia foi forçada a suspender o uso de vários antibióticos disponíveis no mercado. Em 1999, seis antibióticos (bacitracina de zinco, virginiamicina, espiramicina, tilosina, carbadox e olaquinox) foram proibidos para uso. Atualmente, somente quatro aditivos antimicrobianos ainda são permitidos na União Européia, a avilamicina, flavomicina, salinomicina e monensina. A proibição total, ou seja, dos quatro últimos, deverá ser a partir de 2006 (Brugalli, 2003).

Em contraposição a essas proibições, Souza et al. (2000) observaram que as indústrias exportadoras de produtos avícolas mantêm controle sobre a presença dos resíduos, não sofrendo sanções comerciais, sobretudo dos países do Mercado Comum Europeu. De acordo com um comentário publicado pela Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura (SDA), veiculado pelo Jornal V&Z do CRMV-MG, em fevereiro de 2000, “Os produtos avícolas brasileiros não oferecem perigo à saúde humana, além disso, eles estão em conformidade com as normas e procedimentos sanitários da União Européia”. A SDA esclarece que o Programa de Controle de Resíduos de Carnes do Brasil, criado em 1978, tem aprovação da União Européia, Estados Unidos e Canadá. Segundo o documento, o Brasil vem acatando as orientações dos organismos internacionais de garantia de segurança alimentar.

Mesmo sem conclusões definitivas, as autoridades da União Européia vêm determinando uma redução na lista de antibióticos de uso autorizado como promotores de crescimento. Segundo Sugeta et al. (2004), existe uma certa contradição em relação à retirada dos antibióticos como promotores de crescimento, pois alguns estudos na Europa mostraram que a quantidade de antibióticos ingeridos pelos frangos foi muito superior, quando se criaram frangos sem promotores de crescimento, devido ao aumento de casos clínicos de infecções e utilização dos antibióticos para o tratamento das aves. O resíduo desses antibióticos na carne das aves é praticamente inexistente, quando respeitados os limites estabelecidos pelas normas internacionais e quando são respeitados o período de carência e a dosagem de cada princípio ativo. Deve-se continuar pesquisando alternativas mais eficientes para a substituição dos antibióticos utilizados como promotores de crescimento, pois ainda perde-se na eficiência produtiva, visto que esta prática já é uma realidade no dia-a-dia das empresas avícolas exportadoras e tendência natural da cadeia produtiva brasileira. Além disso, deve-se buscar agregar valor ao nosso frango produzido com estas substâncias alternativas, devido ao incremento no custo de produção.

2.4 Microbiota intestinal de aves

A microbiota intestinal das aves é composta de inúmeras espécies bacterianas, formando um sistema complexo e dinâmico. Aquelas que colonizam o trato intestinal no início, tendem a persistir ao longo da vida da ave, passando a compor a microbiota intestinal. A formação desta microbiota se dá imediatamente após o nascimento das aves e aumenta durante as primeiras semanas de vida, até se tornar uma população predominantemente de bactérias anaeróbicas (Silva, 2000).

Segundo este mesmo autor, nas aves com microbiota estabelecida, os lactobacilos (*L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*) e estreptococos predominam no papo; no intestino delgado há predominância de lactobacilos e nos cecos, colonização de lactobacilos, enterococos e clostrídios. Os cecos contêm, aproximadamente, 30% de cocos anaeróbicos gram-positivos; 20% de bastonetes gram-negativos não formadores de esporos, 16% de bastonetes gram-positivos não formadores de esporos (incluindo *Eubacterium*) e menores quantidades de bifidobactérias, clostrídios e *Escherichia coli*.

Já Barnes & Impey (1970), citados por Schocken (2003), verificaram que a maior parte das bactérias naturais do ceco das aves constituía-se de 40% de bacilos gram-negativos do grupo *Bacteriodaceae*, 40% de bacilos gram-positivos, incluindo os *Lactobacillaceae* e o restante, principalmente, *Peptostreptococci*.

Os principais gêneros identificados na microbiota cecal de aves são: *Bacillus*, *Bacteróides*, *Bifidobacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Peptostreptococcus*, *Probionibacterium*, *Ruminococcus*, *Serratia*, *Veillonella* e *Streptococcus*. O metabolismo destas bactérias no trato intestinal produz ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico), álcoois,

amoníaco, aminas, sulfeto de hidrogênio, peróxido de hidrogênio, metano, mercaptanos, dióxido de carbono e outros produtos. Nos cecos, as bactérias produzem ácido butírico, que serve como substrato metabólico para células epiteliais e ácido propiônico, que inibe certos enteropatógenos, como as salmonelas. Pode-se encontrar de 200 a 400 espécies diferentes de bactérias no trato digestivo de uma ave. Há que se considerar que menos de 25% de bactérias intestinais foram identificadas. Sua quantidade pode variar de 5 a 7 (Log_{10}) no duodeno e a 9 a 11 (Log_{10}) nos cecos. Contudo, pouco se sabe sobre a interação entre as bactérias. Estima-se que há 10 vezes mais bactérias no trato digestivo que células do corpo do hospedeiro (Silva, 2000).

Existem estimativas de que milhares de espécies de microrganismos habitam o trato digestivo dos animais, incluindo bactérias, protozoários ciliados e flagelados, fungos e bacteriófagos. Essa população pode exceder o número de células do organismo hospedeiro; no lúmen intestinal de uma galinha, pode haver 10^{11} a 10^{12} bactérias, enquanto estima-se em 10^{14} a população microbiana em mamíferos (Apajalahti & Bedford, 2000).

Nos cecos, o tempo de permanência da ingesta é mais longo e as condições são mais estáveis para a proliferação microbiana; as contagens de bactérias no conteúdo cecal são maiores que no intestino delgado (Engberg et al., 2000). Mead (2000) relatou estudos realizados na década de 1970 em que foram identificados cerca de 200 isolados do ceco de frangos de 4 a 6 semanas.

Apesar de muitos relatos nos quais são as espécies que compõem a microbiota de diferentes segmentos do trato digestório, é improvável a existência de uma microbiota típica, uma vez que a composição do alimento, as condições ambientais (temperatura, estresse) e a presença de patógenos afetam de maneira diferente as bactérias. Apajalahti & Bedford (2000) demonstraram mudanças na composição da microbiota do ceco de frangos conforme o cereal

usado nas rações, milho, trigo ou centeio, pelo fato de os substratos favorecerem diferencialmente determinadas espécies.

Dessa forma, torna-se necessário o aprofundamento de pesquisas nesse sentido e a aplicação do conceito de aditivos como alternativas para substituição dos promotores de crescimento em rações para frangos de corte, visto a urgência em estudá-las. No entanto, muitas pesquisas devem ainda ser realizadas para determinar até que ponto há necessidade da utilização dos promotores de crescimentos em condições ideais de manejo. Porém, trabalhos que venham a confirmar tais colocações são necessários.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e época de realização do experimento

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, no período de outubro a novembro de 2003.

O município de Lavras localiza-se na região sul do estado de Minas Gerais, a uma altitude de 910 metros, tendo como coordenadas geográficas 21° 14' 30" de latitude sul e 45° de longitude oeste de Greenwich (Brasil, 1992).

3.2 Aves, instalações e equipamentos

Foram utilizados 1.440 pintos de corte machos, marca Cobb 500, com um dia de idade, vacinados contra a doença de Marek e alojados em 48 boxes (2,0m x 1,5m) no sistema cama, com aquecimento, bebedouro pendular e comedouro tubular. Em cada unidade experimental foram alojadas 30 aves. A cama utilizada foi a de maravalha, por ser um material de alto poder de absorção. Na fase de aquecimento, foram utilizadas lâmpadas incandescentes de 150 Watts.

Registraram-se diariamente as temperaturas e as umidades relativas máximas e mínimas do galpão, utilizando o termo-higrômetro da marca *Oregon Scientific*, localizado na parte mediana da instalação. As médias de temperaturas máximas e mínimas e as umidades relativas máximas e mínimas foram 29,9°C, 18,1°C, 77,9% e 26,5%, respectivamente.

Na tentativa de proporcionar um desafio, foi misturado à cama de maravalha, recém-colocada nos boxes, 1kg de cama utilizada de outro galpão com frangos de corte, por m² de boxe do presente experimento.

3.3 Tratamentos e rações experimentais

Para avaliar o desempenho dos frangos de corte, foram utilizados o antibiótico bacitracina de zinco e quatro níveis de extrato de orégano em substituição ao promotor de crescimento, incluídos juntamente com o inerte, em uma quantidade fixa, não alterando a composição da ração, tanto na fase inicial (1 a 21 dias), quanto nas fases de crescimento (22 a 35) e final (36 a 42 dias). Os tratamentos estão descritos a seguir:

T1 - Ração basal (RB) sem antibiótico e sem extrato de orégano (controle negativo)

T2 – RB com antibiótico (0,025%) e sem extrato de orégano (controle positivo)

T3 – RB com 0,025% de extrato de orégano

T4 – RB com 0,050% de extrato de orégano

T5 – RB com 0,075% de extrato de orégano

T6 – RB com 0,100% de extrato de orégano

Os ingredientes e nutrientes utilizados nas rações experimentais encontram-se na Tabela 1, tendo a composição dos ingredientes e as exigências nutricionais das aves sido obtidas de Rostagno et al. (2000).

TABELA 1. Composição percentual das rações basais utilizadas em cada fase experimental.

Ingredientes	Fases		
	Inicial (01 a 21d)	Crescimento (22 a 35d)	Final (36 a 42d)
Milho	57,807	61,840	64,384
Farelo de soja	35,559	31,082	28,426
Fosfato bicálcico	1,817	1,630	1,538
Calcário calcítico	0,985	0,932	0,892
Óleo de soja	2,595	3,348	3,636
Sal iodado	0,454	0,379	0,331
Premix vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100
Premix mineral ²	0,100	0,100	0,100
DL-metionina (99%)	0,217	0,198	0,172
L-lisina (78%)	0,176	0,181	0,191
Cloreto-colina (60%)	0,040	0,060	0,080
Anticoccidiano ³	0,050	0,050	0,050
Antibiótico ⁴	-	-	-
Extrato de orégano	-	-	-
Inerte (caulim)	0,100	0,100	0,100
Total (kg)	100,000	100,000	100,000
Composição calculada			
Energia Metabolizável			
(kcal/kg)	3000	3100	3150
Proteína Bruta (%)	21,400	19,700	18,700
Cálcio (%)	0,963	0,883	0,834
Fósforo disponível			
(%)	0,453	0,412	0,387
Aminoácidos totais			
Lisina (%)	1,271	1,163	1,096
Metionina (%)	0,495	0,456	0,432
Met. + Cist. (%)	0,902	0,826	0,780
Triptofano (%)	0,211	0,201	0,195
Treonina (%)	0,796	0,717	0,668
Arginina (%)	1,300	1,210	1,154

¹- Suplemento Vitamínico contendo por kg do produto: vit. A (12.000.000 UI); Vit B₁ (2.200mg); vit B₂ (6.000mg); vit B₆ (3.300mg); vit B₁₂ (16.000mcg); vit. D₃ (2.200.000 UI); vit. E (30.000 mg); vit. K₃ (2.500mg); biotina (110mg); nicotinamida (53.000mg); niacina (25000mg); ácido pantotênico (13.000mg); ácido fólico (1.000mg); antioxidante (120.000mg); enzimas (2.003.848UI); veículo Q.S.P. (1.000g).

²- Suplemento mineral contendo, por kg do produto: Zn (50.000mg); Fe (20.000mg); Mn (75.000mg); Cu (4.000mg); I (1.500mg); Co (200mg); Veículo QSP (1.000g).

³ Anticoccidiano maduramicina para todas as fases, na quantidade 0,5kg/t de ração.

⁴ Controle positivo: na ração basal utilizou-se bacitracina de zinco a 10%, sendo usado 250g/tonelada, fornecendo 25g/tonelada do princípio ativo.

O extrato de orégano na forma de pó (Orego-Stim®) utilizado no experimento foi composto de: α -Pinene, Camphine, β -Pinene, Sabinene, Myrecene, α -Phellandrene, α -Terpinene, Limonene, 1,8 Cineole, β -Ocimene, Terpinolene, 1-Octen-3-ol, Trans-Sabinene hydrate, Linalool, Cis-Sabinene hydrate, Terpinen-4-ol, Carvacrol methyl ether, β -Carvophvellone, α -Humulen, α -Terpineol, Borneol, β -Bisabolene, γ -Terpinene, ρ -Cymene, Thymol, Carvacrol.

3.4 Medidas de desempenho dos frangos

Foi realizado um plano nutricional para cada fase (inicial, crescimento e final) e a análise de desempenho foi avaliada apenas aos 21 e aos 42 dias de idade das aves, com o objetivo de evitar estresse.

Os cálculos para o consumo de ração foram realizados pela diferença entre as pesagens de ração fornecida e a sobra nos comedouros e tambores das unidades experimentais. Foi considerada também, para o cálculo de cada unidade experimental, a mortalidade existente.

Para controlar o ganho de peso, foram feitas pesagens no 1º, 21º e 42º dias de idade, do grupo de aves de cada unidade experimental, obtendo-se, então, o ganho de peso médio por ave.

A conversão alimentar também foi calculada para as fases de 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade, utilizando-se, para os cálculos, os dados referentes ao consumo e ganho de peso de cada unidade experimental.

3.5 Rendimento de carcaça

O rendimento de carcaça foi avaliado aos 42 dias de idade, quando foi separada uma ave por repetição por tratamento, com peso médio representativo da unidade experimental. As aves foram submetidas a um jejum de seis horas e depois, pesadas e abatidas. As carcaças evisceradas com cabeça, pescoço e pés, vísceras comestíveis e gordura abdominal foram pesadas antes do resfriamento por 24 horas. O rendimento de carcaça (incluindo os pés e cabeça da ave) e os rendimentos do peito e gordura abdominal foram calculados com base no peso vivo no momento do abate.

3.6 Medidas de peso e tamanho de órgãos do sistema imunológico

Ao final do ensaio experimental, aos 21 e 42 dias de idade, oito aves por tratamento foram submetidas a um jejum de seis horas, sendo pesadas e, em seguida, processadas segundo os procedimentos normais de abate: sangria, depenagem e evisceração. Em seguida, foram coletados o baço, o timo e a bursa de Fabricius de cada ave para verificar, por meio das medidas morfométricas (peso e tamanho) destes órgãos, alguma relação de resposta do sistema imunológico das aves, em relação às dietas com antibiótico e com os níveis de extrato de orégano, aditivos beneficiadores do crescimento. Dentre estes órgãos, somente a bursa de Fabricius foi mensurada alometricamente (mm).

Estes órgãos foram avaliados, pois, segundo Macari (2002), a medula óssea, a bursa de Fabricius, local do desenvolvimento e diferenciação dos linfócitos B e o timo, onde linfócitos T desenvolvem-se e se diferenciam, são considerados órgãos linfóides primários. O baço, por sua vez, é classificado como órgão linfóide secundário ou periférico. As estruturas linfóides encontradas no trato gastrointestinal representam parte importante do sistema imune, principalmente devido ao fato de existirem inúmeros patógenos que podem estar presentes na luz do tubo digestivo. Para o frango, essa porção do

sistema imune representa papel fundamental, já que patógenos de importância econômica multiplicam-se no epitélio intestinal.

3.7 Morfometria do trato gastrointestinal

As vilosidades e as criptas do duodeno foram avaliadas microscopicamente após o abate de oito aves por tratamento, no 21º e 42º dias de idade das aves.

Os segmentos do intestino foram cuidadosamente coletados com aproximadamente 1,5 cm de comprimento e lavados imediatamente em água destilada, identificados e armazenados em solução Bouin (150ml de solução concentrada de ácido pícrico, 50ml de formol comercial 40% e 10ml de ácido acético glacial) por 24 horas e depois transferidos para álcool 70%, onde ficaram armazenados durante um mês, até a confecção das lâminas.

3.7.1 Preparação das lâminas

A confecção das lâminas para as análises morfométricas foi realizada no Laboratório de Histologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, seguindo a técnica descrita por Junqueira & Junqueira (1983), com algumas adaptações.

Desidratação

Trata-se da primeira etapa da inclusão das amostras nas soluções, consistindo na retirada da água dos tecidos e a sua substituição por álcool, na seguinte seqüência de soluções com concentrações crescentes de álcool: 70%, 80% e 90% e duas baterias de álcool etílico absoluto (100%), pelo período de 6 horas cada.

Diafanização

Na segunda etapa, ocorre a substituição do álcool presente nos tecidos, por xilol. As amostras foram mantidas em álcool e xilol (1:1) por 1 hora e posteriormente colocadas em duas baterias de xilol com 30 minutos cada.

Inclusão em parafina

Na impregnação, o xilol é substituído por parafina, o que foi feito por meio de banho em parafina fundida em estufa entre 56°C a 58°C. Os tecidos impregnados foram colocados em formas de papel, em temperatura ambiente, até o endurecimento da parafina. As amostras então envoltas por parafina sólida foram denominadas blocos.

É necessário parafina de consistência firme para que seja possível o corte do material em finas camadas, possibilitando sua visualização microscópica.

Microtomia

Os blocos de parafina contendo as amostras de intestino foram cortados em aparelho micrótomo (ANCAP 781), sendo realizadas secções com cinco micrômetros de espessura. As fitas obtidas durante a microtomia foram transferidas para banho-maria mantido a 40°C. Os cortes foram distendidos na superfície da água do banho-maria e depois transferidos cuidadosamente para uma lâmina que estava mergulhada no banho-maria, deixando-as secar por 24 horas até que os cortes ficassem bem fixos nas lâminas.

Derretimento da parafina

As lâminas já secas contendo dois cortes cada, foram colocadas por 5 a 10 minutos, na estufa a 200°C para derreter a parafina, sendo que o corte da

vilosidade continuou fixado na lâmina antes de começar o processo de coloração.

Coloração

Nesta etapa, as lâminas foram colocadas em uma barreira de xilol por 20 minutos. Posteriormente, foram mergulhadas em soluções decrescentes de álcool a 100%, 90%, 80% e 70% (fase denominada de hidratação), por um período de 5 minutos e depois permanecendo em água corrente por mais 15 minutos.

Os cortes foram então corados pela solução aquosa de hematoxilina por 1 minuto e colocados em água corrente por 15 minutos. Em seguida, foram corados pela solução de eosina por 1 minuto e depois passados em água potável para tirar o excesso de eosina.

Após esta etapa, iniciou-se a desidratação, na seguinte seqüência de soluções com concentrações crescentes de álcool: 70%, 80%, 90% e duas baterias de álcool etílico absoluto (100%) por 5 minutos cada e iniciando a diafanização, com duas baterias de xilol, a primeira por cinco minutos e a segunda por vinte minutos. As lâminas foram então montadas com uma gota de bálsamo do Canadá sobre o corte e, por final, acrescentando-se a lamínula.

Análises morfométricas

As análises morfométricas dos cortes histológicos do intestino delgado das aves foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (DMV/UFLA), utilizando o microscópio óptico (OLYMPUS BX50) com aumento de 40 vezes. Foram selecionados e medidos, comprimentos em linha reta de acordo com a unidade adotada (μm), 10 vilosidades e 10 criptas, bem orientadas, de cada região intestinal, por animal. As relações entre vilosidades e criptas também foram calculadas.

As medidas de altura de vilosidades foram tomadas a partir da base superior da cripta até o ápice da vilosidade e as criptas foram medidas entre as vilosidades da base inferior até a base superior da cripta.

3.8 Análise microbiológica – contagem total de bactérias

Foram coletadas amostras do ceco no 42º dia de idade das aves, com a finalidade de determinar a contagem total de bactérias presentes, como também a determinação gram.

De cada ave abatida, isolou-se uma seção do ceco, de aproximadamente 15 cm de comprimento, separada por ligaduras, removida, acondicionada em sacos de plástico, colocada em caixa térmica contendo gelo e imediatamente transportada ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA).

A cada oito repetições por tratamento foi formado um “pool” das amostras, coletando-se 25 gramas do conteúdo cecal por tratamento e transferidos imediatamente para erlenmeyers de 225 ml de água peptonada a 0,1% estéril. Em seguida, foram realizadas diluições decimais das amostras em tubos de ensaio contendo 9 ml de água peptonada. Posteriormente, foi coletada uma amostra de 1 ml dos tubos de ensaio contendo diluições de 10^{-5} a 10^{-8} das amostras e transferida para placas de Petri, em duplicatas, contendo o meio ágar de man, rogosa e sharpe (MRS) para favorecer o crescimento de bactérias. As placas foram recobertas com o mesmo meio, invertidas e incubadas a 28°C, por 72 horas.

Posteriormente, foram selecionadas as placas que apresentavam entre 25 e 250 colônias e contadas com o auxílio de um contador de colônias “Quebec”.

Os resultados obtidos foram expressos como log. na base 10 da contagem, por grama do conteúdo da digesta (UFC/g).

3.9 pH do conteúdo do duodeno e ceco

Após o abate, o conteúdo fecal de cada parte do duodeno e do ceco das aves foi colocado em um béquer contendo 20mL de água destilada e levado ao Laboratório de Pesquisa Animal, da Universidade Federal de Lavras, para ser analisado em um pHmetro.

3.10 Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo seis tratamentos e oito repetições de 30 aves por unidade experimental, totalizando 48 parcelas e 1.440 aves.

As análises estatísticas foram realizadas pelo pacote estatístico SISVAR, descrito por Ferreira, D. F. (2000). Os contrastes foram testados pelo teste de Dunnett a 5%, descrito por Sampaio (1998), comparando-se o tratamento com antibiótico (controle positivo) em relação aos outros tratamentos. Em seguida, foi realizada a análise de regressão para os tratamentos sem antibiótico e aqueles com níveis crescentes do extrato de orégano nas rações.

O modelo estatístico adotado para as medidas avaliadas no experimento foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij},$$

em que:

Y_{ij} : valores observados das aves que foram alimentadas com diferentes níveis do extrato de orégano (tratamentos) i , na repetição j ;

μ : média geral do experimento;

T_i : efeito dos níveis do extrato de orégano i , sendo $i= 1, 2, 3, 4, 5$ e 6 .

e_{ij} : erro aleatório associado a cada observação, sendo $j= 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$ e 8 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho dos frangos

Os resultados relativos ao desempenho das aves de 1 a 21 dias e 1 a 42 dias de idade encontram-se na Tabela 2.

Não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos sobre o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar, no período de 1 a 21 dias de idade das aves.

Estes resultados indicam que as condições experimentais não permitiram observar os efeitos do uso do extrato de orégano, já que o tratamento com uso de antibiótico se comparou com todos os outros, inclusive sem o extrato de orégano.

O presente trabalho confirma com os argumentos de Whitehair & Thompson (1956) e Forbes & Park (1959), citados por Menten (2001), que segundo os quais há necessidade de um desafio sanitário de campo para que os promotores passem a produzir efeitos sobre o desempenho de aves e suínos.

Outros pesquisadores, como Alvarez et al. (1994), Cavalcanti et al. (1996), Henrique et al. (1998) e Moreira et al. (2001), também não observaram diferenças significativas com o uso de outros promotores de crescimento, como os prebióticos e probióticos, em substituição ao antibiótico e estão de acordo com os resultados observados no presente experimento.

TABELA 2. Consumo médio de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar média (CA), no período de 1 a 21 dias e 1 a 42 dias de idade das aves e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.

TRATAMENTO							
Desempenho (1 a 21d)	Controle negativo ¹	Controle positivo ²	Orégano 0,025%	Orégano 0,050%	Orégano 0,075%	Orégano 0,100%	C.V. (%)
CR (g)*	1128 (42,74)	1134 (42,04)	1142 (35,02)	1137 (25,58)	1121 (57,53)	1144 (50,46)	3,83
GP (g)*	653 (31,62)	672 (37,82)	687 (31,30)	687 (38,00)	677 (19,47)	683 (43,57)	5,09
CA (g/g)*	1,73 (0,09)	1,69 (0,07)	1,66 (0,07)	1,66 (0,09)	1,66 (0,07)	1,68 (0,08)	4,59
TRATAMENTO							
Desempenho (1 a 42d)	Controle negativo ¹	Controle positivo ²	Orégano 0,025%	Orégano 0,050%	Orégano 0,075%	Orégano 0,100%	C.V. (%)
CR (g)*	4357 (109,90)	4354 (89,82)	4372 (93,65)	4444 (65,72)	4338 (119,17)	4333 (139,47)	2,42
GP (g)*	2510 (156,01)	2567 (261,98)	2631 (180,86)	2444 (253,59)	2637 (110,81)	2597 (148,90)	7,54
CA (g/g)*	1,74 (0,10)	1,71 (0,18)	1,67 (0,11)	1,84 (0,20)	1,65 (0,08)	1,67 (0,08)	7,69

* Efeito não significativo, pelo teste de Dunnet, em relação ao controle positivo e análise de regressão não significativa (P>0,05)

¹ Controle negativo: ração basal sem antibiótico e extrato de orégano

² Controle positivo: ração basal com antibiótico

Considerando o período total de criação, verificou-se que também não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos sobre o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar das aves.

Os resultados de desempenho das aves aos 42 dias de idade, obtidos deste trabalho, estão acima dos indicados no manual da Cobb 500 (2004). Assim, os benefícios que poderiam ser obtidos com o uso dos promotores não foram observados, já que as condições de manejo, ambiente e nutrição foram adequadas para que a ave desempenhasse o seu potencial.

Hernández et al. (2004), trabalhando com dois tipos de extratos de plantas, sendo orégano e labiatae em substituição ao antibiótico avilamicina para frangos de corte de 21 a 42 dias de idade e Lima et al. (2001) com níveis crescentes de um composto de ervas naturais (*Hyperium perforatum*, *Allium sativum*, *Origanum majorana*, *Menta piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Juniperus communis* e *Allium cepa*), em substituição ao antibiótico salinomicina, também não observaram diferenças estatísticas entre os tratamentos sobre o desempenho dos frangos de corte nesta fase.

Da mesma forma, os resultados obtidos por Loddi et al. (2000) e Vargas et al. (2001), para características de desempenho (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar), independente do uso ou não do antibiótico avilamicina, probiótico e/ou prebiótico, não foi observado diferenças estatísticas entre os tratamentos e estão de acordo com os resultados observados no presente experimento.

Resultados revisados por Menten (2001), referentes a 12.153 experimentos em que antibióticos foram utilizados, revelaram que em 28% deles não ocorreram respostas no desempenho dos animais. Isso deixa claro que a análise de uns poucos trabalhos de pesquisa pode modificar o verdadeiro valor do produto estudado e, para que se obtenham resultados efetivos do promotor testado, são necessárias condições experimentais com desafio sanitário próximo

à realidade do campo onde, geralmente, é possível observar baixa sanidade. Em experimentos realizados no Brasil, nos últimos anos, pôde-se observar que as respostas aos antibióticos nas rações de frangos de corte foram de pequena magnitude. Grande parte delas foi não significativa e em alguns casos a resposta foi até negativa, concordando com os resultados apresentados neste experimento, no qual não foram observadas diferenças estatísticas no desempenho dos animais em nenhum tratamento estudado.

Devido às boas condições sanitárias do galpão e manejo adequado, no presente experimento não foi observado desafio que proporcionasse qualquer problema às aves e assim afetasse o desempenho, o que provavelmente propiciaria uma condição em que pudesse haver efeito do promotor de crescimento.

4.2 Avaliação de carcaça

Os resultados relativos à avaliação de carcaça das aves aos 42 dias de idade encontram-se na Tabela 5.

Não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos sobre o rendimento de carcaça (carcaça com pés e cabeça), peito e gordura abdominal aos 42 dias de idade, de acordo com os tratamentos.

Estes resultados indicam que as condições experimentais não permitiram efeitos de qualquer aditivo, já que o tratamento com uso de antibiótico se comparou com todos os outros, inclusive com o da ração sem o aditivo. Destacando que em ambiente com um manejo sanitário adequado, provavelmente, não há necessidade de qualquer aditivo utilizado como promotor de crescimento.

Henrique et al. (2000), Loddi et al. (2000), Dionizio (2001), Leandro et al. (2001), Vargas et al. (2001) e Loddi et al. (2002) também não observaram diferenças significativas no rendimento de carcaça e de peito ao utilizarem diferentes aditivos nas rações para frangos de corte.

Para teor de gordura abdominal, os resultados estão de acordo com vários autores (Jin et al., 1998; Loddi et al., 2000; Pelicano et al., 2002; Santos et al., 2002 e Santos, 2003), que utilizaram antibióticos, probióticos e prebióticos nas rações de aves.

TABELA 3. Rendimento de carcaça, peito e gordura abdominal aos 42 dias de idade das aves e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.

Rendimento (aos 42d)	TRATAMENTO						C.V. (%)
	Controle negativo¹	Controle positivo²	Orégano 0,025%	Orégano 0,050%	Orégano 0,075%	Orégano 0,100%	
Carcaça (%)*	82,26 (1,82)	84,31 (4,12)	82,43 (1,35)	81,31 (2,89)	81,80 (3,78)	83,80 (2,23)	9,48
Peito (%)*	31,03 (0,74)	32,42 (1,19)	30,99 (1,52)	32,20 (1,73)	32,61 (1,55)	30,79 (1,86)	10,96
Gordura³ (%)*	1,64 (0,40)	1,32 (0,30)	1,63 (0,36)	1,62 (0,48)	1,40 (0,35)	1,63 (0,39)	29,92

* Efeito não significativo, pelo teste de Dunnet, em relação ao controle positivo e análise de regressão não significativa (P>0,05)

¹ Controle negativo: ração basal sem antibiótico e extrato de orégano

² Controle positivo: ração basal com antibiótico

³ Gordura abdominal relacionada ao peso de abate

4.3 Órgãos relativos à imunidade

A imunidade dos frangos de corte, avaliada segundo os resultados de peso do baço e do timo e medidas da bursa de Fabricius, aos 21 e 42 dias de idade, encontram-se na Tabela 6.

Aos 21 e 42 dias, não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) para peso do baço e do timo e as medidas relativas a bursa de Fabricius, concordando com Fuini (2001). Ao estudar a influência do cogumelo *Agaricus blazei* como alternativa ao uso de antibióticos em rações para frangos de corte, este autor também não encontrou diferenças para estas variáveis.

Mesmo no tratamento testemunha, no qual não se utilizou extrato de orégano e antibiótico, verificou-se que não houve diferença estatística ($P>0,05$) em relação ao tratamento positivo em que foi utilizado o antibiótico bacitracina de zinco (25ppm). Isso, possivelmente, se deve às condições experimentais, proporcionando um ambiente sanitário bom, conseqüentemente não obtendo desafio para a atuação dos aditivos utilizados.

Tais resultados sugerem que, em condições ideais de manejo, possivelmente pode não haver necessidade de utilização de antibióticos na ração. Porém, trabalhos que venham a confirmar tais colocações são necessários.

Para o peso do baço aos 42 dias de idade, houve efeito significativo ($P<0,05$). No entanto, ele não foi suficiente para expressar o efeito do sistema imune sobre o desempenho das aves, uma vez que a ave com baixa imunidade pode não apresentar um ideal potencial no seu desempenho.

As causas de alteração da resposta imune podem ser por vários fatores, como nutricionais, genéticos e os relacionados ao manejo. No entanto, os resultados da ação do estresse sobre a imunidade são complexos e, por vezes, encontra-se imunossupressão e, em outras, imunoestimulação. Essas variações são, em parte, causadas por diferenças na intensidade do estressor, duração do

TABELA 4. Peso do baço, peso do timo, peso da bursa de Fabricius em relação à percentagem do peso das aves e tamanho da bursa de Fabricius aos 21 e aos 42 dias de idades e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.

Órgãos de imunidade (aos 21d)	TRATAMENTO						C.V. (%)
	Controle negativo ¹	Controle positivo ²	Orégano 0,025%	Orégano 0,050%	Orégano 0,075%	Orégano 0,100%	
Peso baço (%)*	0,087 (0,02)	0,077 (0,02)	0,093 (0,02)	0,082 (0,02)	0,084 (0,02)	0,098 (0,02)	24,50
Peso timo (%)*	0,306 (0,08)	0,269 (0,11)	0,318 (0,14)	0,285 (0,09)	0,313 (0,07)	0,286 (0,08)	32,89
Peso bursa (%)*	0,232 (0,08)	0,196 (0,03)	0,221 (0,04)	0,227 (0,03)	0,217 (0,07)	0,222 (0,04)	23,00
Tamanho bursa (mm) ^{*3}	5 (0,74)	5 (0,35)	5 (0,35)	5 (0,35)	5 (0,53)	5 (0,35)	10,27

Órgãos de imunidade (aos 42d)	TRATAMENTO						C.V. (%)
	Controle negativo ¹	Controle positivo ²	Orégano 0,025%	Orégano 0,050%	Orégano 0,075%	Orégano 0,100%	
Peso baço (%) ⁴	0,107 (0,03)b	0,113 (0,03)b	0,134 (0,02)a	0,092 (0,02)c	0,113 (0,03)b	0,101 (0,02)b	24,50
Peso timo (%)*	0,235 (0,07)	0,194 (0,06)	0,221 (0,06)	0,254 (0,09)	0,272 (0,07)	0,209 (0,05)	29,57
Peso bursa (%)*	0,191 (0,07)	0,184 (0,05)	0,159 (0,03)	0,198 (0,07)	0,169 (0,03)	0,160 (0,04)	30,25
Tamanho bursa (mm) ^{*3}	7 (0,74)	7 (0,74)	7 (0,74)	7 (1,25)	7 (0,52)	6 (1,06)	13,23

* Efeito não significativo, pelo teste de Dunnet, em relação ao controle positivo e análise de regressão não significativa (P>0,05)

¹ Controle negativo: ração basal sem antibiótico e extrato de orégano

² Controle positivo: ração basal com antibiótico

³ Não foi realizada análise de estatística para esta variável

⁴ Médias seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes entre si, pelo teste de Dunnet e análise de regressão significativa, com um ajuste para o 4º grau, porém, não explicativo (P>0,05)

estímulo estressor e variações genéticas de linhagens e de indivíduos. Com isso, as variações dos resultados experimentais relacionados à imunidade da ave devem-se a vários fatores em conjunto, os quais, muitas vezes, não é possível separar e controlar.

4.4 Morfometria do trato digestório

Os resultados relativos a altura de vilosidades, profundidade de criptas e relação vilosidade:cripta do duodeno das aves aos 21 e aos 42 dias de idade encontram-se na Tabela 7.

Não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos sobre altura de vilosidades, profundidade de criptas e relação vilosidade:cripta do duodeno das aves, estando de acordo com os dados de desempenho, onde também não se verificou diferença significativa ($P>0,05$) entre os aditivos. Apenas a altura de vilosidade aos 42 dias de idade foi afetada ($P<0,05$). Porém, este dado não foi suficiente para expressar o efeito da morfometria do trato digestório sobre o desempenho das aves.

A altura média das vilosidades do duodeno das aves aos 42 dias observada neste estudo foi de $1523\mu\text{m}$ e se assemelha à de Santos (2003), que encontrou uma altura média de $1.535\mu\text{m}$. Mas é superior aos encontrados por Silva (1999) e Fuini (2001) que foram valores médios de $1.402\mu\text{m}$ e $1.430\mu\text{m}$, respectivamente. No entanto, estes valores estão abaixo dos encontrados por Dionízio (2001), que obteve média de $1.666\mu\text{m}$ quando trabalhou com antibiótico e prebióticos nas rações de frangos de corte.

As médias das profundidades de criptas do duodeno nos tratamentos utilizados neste experimento, aos 42 dias, foram entre 209 a $275\mu\text{m}$. Estes resultados se assemelham aos $273\mu\text{m}$ encontrados por Santos (2003), quando trabalhou com probióticos, prebióticos e simbióticos em rações de frangos de

TABELA 5. Altura de vilosidades (μm), profundidade de criptas (μm) e relação vilosidade:cripta (μm) do duodeno das aves aos 21 e aos 42 dias de idade e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.

Morfometria do TGI (aos 21d)	TRATAMENTO						C.V. (%)
	Controle negativo ¹	Controle positivo ²	Orégano 0,025%	Orégano 0,050%	Orégano 0,075%	Orégano 0,100%	
Alt.vilos.*	1320 (163,30)	1494 (139,23)	1218 (241,71)	1332 (101,16)	1063 (99,45)	1303 (383,67)	15,41
Prof. cripta*	326 (44,58)	310 (39,71)	257 (41,05)	272 (71,27)	342 (127,94)	372 (87,19)	23,53
Alt./profun.*	4,16 (0,31)	5,05 (1,05)	4,90 (0,59)	5,29 (1,64)	3,64 (1,58)	3,92 (2,04)	28,11
Morfometria do TGI (aos 42d)	TRATAMENTO						C.V. (%)
	Controle negativo ¹	Controle positivo ²	Orégano 0,025%	Orégano 0,050%	Orégano 0,075%	Orégano 0,100%	
Alt.vilos. ³	1274 (116,45)b	1523 (164,75)a	1135 (139,53)b	1111 (186,74)b	1579 (182,32)a	1304 (114,92)b	11,07
Prof. cripta*	227 (38,24)	236 (38,00)	262 (37,36)	209 (50,09)	261 (103,06)	275 (52,81)	23,07
Alt./profun.*	5,93 (1,22)	6,62 (0,34)	4,69 (1,38)	5,64 (1,28)	6,57 (2,38)	4,98 (0,91)	24,92

TGI: Trato gastrointestinal

* Efeito não significativo, pelo teste de Dunnet, em relação ao controle positivo e análise de regressão não significativa ($P>0,05$)

¹ Controle negativo: ração basal sem antibiótico e extrato de orégano

² Controle positivo: ração basal com antibiótico

³ Médias seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes entre si, pelo teste de Dunnet e análise de regressão significativa, com um ajuste para o 4º grau, porém, não explicativo ($P>0,05$)

corte, mas estão acima dos encontrados por Schwarz et al. (2002), citados por Santos (2003), que obtiveram médias de 132 μ m quando utilizaram os mesmos tratamentos do autor citado.

Embora o aditivo utilizado no presente experimento tenha sido diferente do utilizado por Loddi (1998), o mesmo também não observou diferença na altura das vilosidades e profundidade de criptas do jejuno em frangos de corte.

De maneira geral, a relação vilosidade:cripta também não apresentou diferenças estatísticas ($P>0,05$), concordando com os resultados, independente da altura de vilosidades e profundidade de cripta apresentados neste trabalho.

Os resultados obtidos podem ter sido influenciados pelo fato das aves não terem sido submetidas a um desafio suficiente para provocar um efeito expressivo do uso de aditivo.

As medidas relacionadas com as vilosidades e as criptas intestinais podem sofrer várias alterações em função de fatores como nutrição, ambiente, manejo, genética e sanidade. Como exemplo disso, Viola et al. (2003) observaram que diferença no consumo de água pela ave poderá alterar o comprimento das vilosidades intestinais e, conseqüentemente, influenciar o desempenho da ave. Com isso, variações nos resultados do presente experimento podem ser respostas de vários fatores de difícil controle.

4.5 Análise microbiológica – contagem de bactérias

Os resultados relativos à contagem total e teste de gram das bactérias na amostra do ceco das aves aos 42 dias de idade, de acordo com os tratamentos, encontram-se na Tabela 8.

A redução no número de bactérias nos tratamentos utilizando 0,025%; 0,050% e 0,100% de extrato de orégano na ração pode ter ocorrido devido a 85% do extrato de orégano serem compostos por carvacrol e thymol. Estes são componentes fenóis naturais fundamentais no controle da ação antimicrobiana, que agem sobre a membrana celular bacteriana impedindo sua divisão mitótica, causando desidratação nas células e, com isso, impedindo a sobrevivência destas bactérias patogênicas.

Ventura et al. (2003) utilizaram alho e ou probiótico como estimulantes do crescimento de suínos e observaram que o tipo de infestação do trato gastrointestinal por microrganismos não foi suficiente para reduzir o ganho de peso dos suínos que não receberam alho ou probiótico (*Bacillus subtilis*) ou antibiótico (nitrovin).

De acordo com Silva (2000), entre as gram-positivas, as bactérias ácido lácticas, em particular, produzem uma grande variedade de proteínas antimicrobianas, incluindo peptídeos antibióticos, substâncias semelhantes a antibióticos, bacteriocinas e substâncias semelhantes. Concordando com estas afirmações, as bactérias gram-positivas apresentadas no tratamento com antibiótico deste experimento podem ter produzido algum tipo de bacteriocinas que eliminassem as bactérias gram-negativas.

TABELA 6. Contagem total de bactérias e teste destas bactérias para identificação de gram negativo e gram positivo na amostra do ceco das aves aos 42 dias de idade, de acordo com os tratamentos.

Total (UFC/g) ³ no ceco dos frangos (aos 42 dias)	TRATAMENTO					
	Controle negativo ¹	Controle positivo ²	Orégano 0,025%	Orégano 0,050%	Orégano 0,075%	Orégano 0,100%
Gram negativo	0,29 x 10 ⁷	---	0,19 x 10 ⁷	7,60 x 10 ⁷	0,15 x 10 ¹⁰	0,25 x 10 ⁷
Gram positivo	---	0,19 x 10 ¹⁰	0,09 x 10 ⁷	1,90 x 10 ⁷	0,30 x 10 ¹⁰	0,18 x 10 ⁷

¹ Controle negativo: ração basal sem antibiótico e extrato de orégano

² Controle positivo: ração basal com antibiótico

³ Log. na base 10 da contagem, por grama do conteúdo da digesta (UFC/g).

Ainda segundo Silva (2000), a presença de zonas de inibição em torno da bactéria teste não significa, necessariamente, que foi devido à produção de bacteriocinas. A atividade inibitória também pode ser causada por ácidos orgânicos, peróxido e hidrogênio, bacteriófagos, etc. Pode-se postular que todas as bactérias produzem bacteriocinas, uma vez que a produção de bacteriocinas pode ser um mecanismo de defesa utilizado na competição de uma população bacteriana mista. O trato gastrointestinal constitui um ecossistema bastante complexo, no qual uma permanente competição entre as diferentes populações de microrganismos existentes.

No entanto, a composição nutricional, o pH de cada porção do intestino, a tensão de O₂ (intestino delgado) e CO₂ (ceco) regulam a população dos microrganismos, pois cada espécie habitará um determinado sítio ou porção do intestino, de acordo com a ausência total (anaerobiose) ou parcial (aerobiose e microaerofilia) de oxigênio (Ferreira, A. J. P., 2000).

Segundo Menten (2001), ao contrário do que se poderia presumir a respeito da ação de antibióticos promotores do crescimento na ração sobre a microbiota de animais, não ocorre uma redução no número de microrganismos no trato intestinal dos animais tratados. De maneira geral, a contagem total de bactérias não se altera, mas pode haver mudanças na proporção de várias espécies.

4.6 pH do duodeno e do ceco

Os resultados relativos ao pH do duodeno e ceco das aves aos 21 e aos 42 dias de idade encontram-se na Tabela 9.

Não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos, sobre o pH do duodeno e do ceco, em todos os períodos estudados.

As medidas obtidas no pH cecal estão acima do valor do pH descrito por Sturkie (1965), em torno de 5,71 e por Duke (1994), que variou entre 4,0 a 5,0. No entanto, estão próximos dos valores encontrados por Moran Junior (1982) e Santos (2003), que foram em média, de 6,9 com amplitude de 5,7 a 8,4 em frangos de corte criados até os 40 dias de idade.

Este comportamento oscilante do pH pode ser devido ao efeito do extrato de orégano, por possuir componentes fenóis naturais fundamentais na ação antimicrobiana como o carvacrol e thymol e pelo antibiótico sobre a microbiota intestinal que, provavelmente, pode ter exercido um controle tanto em bactérias benéficas quanto algumas bactérias patogênicas às aves e isto ter influenciado em seus metabólitos e, conseqüentemente, afetado as mensurações do pH.

O fato de não terem ocorrido efeitos significativos entre os tratamentos também poderia ser atribuído ao aspecto da competição patogênica ser insignificante para que os aditivos pudessem interferir nos resultados obtidos. Esta possível explicação é baseada no fato de que como os animais terem sido foram criados em condições profiláticas muito boas e com um mínimo de estresse (que normalmente está associado a fatores nutricionais, ambientais ou emocionais), o que não levou a um aumento de bactérias e à probabilidade de causar algum tipo de doença, principalmente intestinal.

TABELA 7. pH do duodeno e ceco das aves, aos 21 dias e 42 dias de idade e seus respectivos desvios padrões (DP), em função dos tratamentos experimentais.

TRATAMENTO							
pH	Controle	Controle	Orégano	Orégano	Orégano	Orégano	C.V.
(aos 21d)	negativo ¹	positivo ²	0,025%	0,050%	0,075%	0,100%	(%)
pH duodeno*	6,47 (0,15)	6,41 (0,17)	6,54 (0,12)	6,39 (0,07)	5,75 (0,36)	6,38 (0,21)	3,00
pH ceco*	6,29 (0,26)	6,03 (0,33)	6,55 (0,79)	6,03 (0,24)	6,56 (0,40)	6,34 (0,39)	7,01
TRATAMENTO							
pH	Controle	Controle	Orégano	Orégano	Orégano	Orégano	C.V.
(aos 42d)	negativo ¹	positivo ²	0,025%	0,050%	0,075%	0,100%	(%)
pH duodeno*	6,69 (0,24)	6,79 (0,13)	6,67 (0,13)	6,61 (0,16)	6,57 (0,33)	6,47 (0,49)	4,18
pH ceco*	6,87 (0,25)	7,11 (0,25)	6,98 (0,35)	7,12 (0,38)	6,83 (0,16)	7,10 (0,26)	4,05

* Efeito não significativo, pelo teste de Dunnet, em relação ao controle positivo e análise de regressão não significativa ($P > 0,05$)

¹ Controle negativo: ração basal sem antibiótico e extrato de orégano

² Controle positivo: ração basal com antibiótico

5 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o experimento, pode-se concluir que o uso do extrato de orégano como aditivo substituto do promotor de crescimento, não apresentou comportamento diferente do antibiótico e da testemunha, em relação ao desempenho, qualidade da carcaça, avaliação fisiológico-anatômica do trato digestório e as bactérias encontradas no ceco das aves.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, L. C.; BARRERA, E. M.; GONZÁLES, E. A. **Veterinaria**, México, v. 24, n. 2, p. 141-144, 1994.

AQUINO, T. M. “Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Recife”. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ETNOBIOLOGIA E ETNOECOLOGIA, 4., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBEE, 2002. p. 96.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Normas Climatológicas**: 1961-1990. Brasília, 1992. 84 p.

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: CBNA, 2003. p. 167-182.

BUTOLO, J. F. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: CBNA, 2002. 430 p.

CAVALCANTI, J. S.; TEIXEIRA, A. S.; OLIVEIRA, B. L.; OLIVEIRA, A. I. G. Probióticos e farinha de carne e ossos com diversos níveis de contaminação bacteriana para frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 23., 1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBZ, 1996. p. 50-52.

CAVAZZONI, V.; ADAMI, A.; CASTROVILLI, C. A preliminary experimentation on broilers with a strain of *Bacillus coagulans* as probiotic. **Microbiologie Aliments Nutrition**, Milan, v. 11, p. 457-462, 1993.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Food Microbiology**, Amsterdam, v. 5, n. 2, p. 165-168, Nov. 1987.

DIONIZIO, M. A. **Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte**. 2001. 60 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DUKE, G. E. Physiology of digestion and metabolism. **Zootecnia Internacional**, v. 17, n. 8, p. 50-53, Oct. 1994.

EMILIANO, M. K. F. **O uso popular de plantas medicinais e suas representações sociais:** um estudo em Jaboticabal, SP. 2003. (Trabalho de Graduação) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias; Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Jaboticabal.

ENGBERG, R. M.; HEDEMANN, M. S.; LESER, T. D.; JENSEN, B. B. Effect of zinc bacitracina and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n. 9, p. 1311-1319, Sept. 2000.

ENGLAND, J. A.; WATKINS, S. E.; SALEH, E. Effects of *Lactobacillus reuteri* on live performance and intestinal development of male turkeys. **Journal Applied of Poultry Research**, v. 5, p. 311-324, 1996.

FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema de análises de variância para dados balanceados:** programa de análises estatística e planejamento de experimentos, versão 4.3. Lavras: UFLA/DEX, 2000.

FERREIRA, A. J. P. Exclusão competitiva na avicultura. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000. p. 101-108.

FORBES, M.; PARK, J. T. Growth of germ-free and conventional chicks: effect of diet, dietary penicillin, and bacterial environment. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 67, p. 69-84, 1959.

FREITAS, R. de.; FONSECA, J. B.; SOARES, R. da T. R. N.; ROSTAGNO, H. S.; SOARES, P. R. Utilização do alho (*Allium sativum L.*) como promotor de crescimento de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 761-765, maio/jun. 2001.

FRIZZAS, A. C. **Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte.** 1996. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias; Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

FUINI, M. G. **Utilização do cogumelo *Agaricus blazei* como alternativa ao uso de antibióticos em rações para frangos de corte.** 2001. 64 p. Dissertação (Mestrado em). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GARCIA, E. S.; SILVA, A. C. P.; GILBERT, B.; CORRÊA, C. B. V.; CAVALHEIRO, M. V. S.; FARMAGUINHOS, R. R. dos S.; FARMAGUINHOS, T. T. **Biodiversidade: perspectivas e oportunidades tecnológicas: biodiversidade: Fitoterápicos**. 2003. Base de Dados Tropical (BDT). Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/publicacoes/padct/bio/cap10/eoi.html>>. Acesso em: 2004

HENRIQUE, A. P. F.; FARIA, D. E.; FRANZOLIN, R.; ITO, D. T. Uso de probióticos e antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 2000, Viçosa, MG. **Anais...Viçosa**, MG: SBZ, 2000. 3 p. 1 CD-ROM.

HENRIQUE, A. P. F.; FARIA, D. E. Uso de probióticos e antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1998, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 1998. p. 35.

HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; GARCIA, V.; ORENGO, J.; MAGÍAS, M. D. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and Ddigestive organ size. **Poultry Science**, champaign, v. 83, n. 2, p. 169-174, Feb. 2004.

INDICADOR Terapêutico. Disponível em: <<http://www.cravoecanela.com/Indicador.htm>>. Acesso em: 10 out. 2002.

INGRAM, C. **The cure is in the cupboard (How to usse oregano for better health)**. Illinois: Knowledge House, 1997.

JIN, L. Z.; HO, Y. W. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets *Lactobacillus* cultures. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 9, p. 1259-1265, Sept. 1998.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1983. 123 p.

KAMEL, C. A novel look at a classical approach of plant extracts. **Feed Mix**, p. 19-21, Nov. 2000. Special.

LEANDRO, N. S. M.; FIRMINO, G.; STRIGHINI, J. H.; SCHAITI, M.; TIBERY, E.; GODOI, F. Utilização de probióticos em frangos de corte com peso baixo na primeira semana de vida. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 35, n. 3, p. 53, 2001. Suplemento.

LIMA, G. J. M. M. de.; RUTZ, F.; BORGES, S. A.; VIOLA, E. S. Efeito da adição de um composto de ervas naturais como promotor de crescimento em dietas de suínos em crescimento e terminação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Canoas - RS: LA SALLE, 2001. v. 2, p. 323-324.

LODDI, M. M.; GONZALES, E.; TAKITA, T. S.; MENDES, A. A.; ROÇA, R. O. Adição de probiótico e antibiótico como promotor de crescimento para frangos de corte. Características de carcaça. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: APINCO, 1998. p. 31.

LODDI, M. M.; TUCCI, F. M.; HANNAS, M. I.; SATO, R. N.; KISHIBE, R.; MORAES, V. M. B.; ARIKI, J. Probióticos, mananoligossacarídeos + ácidos orgânicos em dietas de frangos. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. 3 p. 1 CD-ROM.

LODDI, M. M.; SATO, R. N.; ARIKI, J.; PEDROSO, A. A.; MORAES, V. M. B. de; KISHIBE, R. Ação isolada ou combinada de antibiótico e probiótico como promotor de crescimento em rações iniciais de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 37., 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: SBZ, 2000. 1 CD-ROM.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte: Imunologia Aplicada**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 231-245.

MEAD, G. C. Microbial ecology of the digestive tract. In: WORLD'S POULTRY SCIENCE CONGRESS, 2000, Montreal. **Anais...** Montreal, Canadá: WPSA, 2000. 8 p. 1 CD ROM.

MENTEN, J. F. M. Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. 1 CD-ROM.

MENTEN, J. F. M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: CBNA, 2002. p. 251-276.

MILTENBURG, G. Extratos Herbais como substitutos de antimicrobianos na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA

NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: [s. n.], 2000. p. 87-108.

MORAN J. R. E. T. Starch digestion in fowl. **Poultry Science**, Champaign, v. 62, n. 7, p. 1257-1267, July 1982.

MOREIRA, J.; MENDES, A. A.; GARCIA, E. A.; GARCA, R. G.; ALMEIDA, I. C. L. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 38., 2001, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. 1 CD-ROM.

PAVAN-FRUECHAUF, S. **Plantas medicinais da Mata Atlântica: manejo sustentado e amostragem**. São Paulo: Annablume/FAPESP, 2000. 216 p.

PELICANO, E. R. E.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; OBA, A.; NORKUS, E. A.; KODAWARA, L. M.; LIMA, T. M. A. Rendimento de carcaça e qualidade de carne de petio de frangos alimentados com dietas contendo diferentes princípios ativos de probióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. 5 p. 1 CD-ROM.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 141 p.

SABBATINI, R. **Medicina Natural**. Disponível em: <<http://www.geocities.com/saudeinfo/natural.htm>>. Acesso em: 10 out. 2002.

SANTOS, E. C.; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A. G.; FREITAS, R. T. F.; DIAS, E. S.; TORRES, D. M.; SANTOS, A. V.; GIACOMETTI, R. A. Uso de aditivos beneficiadores de crescimento sobre o rendimento de carcaça de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. 4 p. 1 CD-ROM.

SANTOS, É. C. dos. **Avaliação de aditivos beneficiadores de crescimento alternativos ao uso de antibiótico na alimentação de frangos de corte**. 2003. 20 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, M. S. **Probióticos à base de Lactobacilos para leitões na fase de aleitamento e de creche**. 1998. 76 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. **Efeito da adição de antimicrobianos e/ou prebiótico na ração sobre a microbiota intestinal e cecal de frangos.** 2003. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SILVA, E. N. **Probióticos em rações para frangos de corte.** 1999. 66 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, E. N. da. Antibióticos intestinais naturais: bacteriocinas. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: [s.n.], 2000. p. 15-24.

SIVROPOULOU, A.; PAPANIKOLAOU, E.; NIKOLAOU, C.; KOKKINI, S. LANARA, T.; ARSENAKIS, M. J. Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 44, n. 5, p. 1202-1205, May 1996.

SOUZA, R. V. de.; CARNEIRO, D. O. **Farmacologia dos quimioterápicos.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 105 p. Curso de Pós Graduação “Lato-Sensu” Especialização em Farmacologia: Atualização e Novas Perspectivas.

STILES, J. C.; SPARKS, W.; RONZIO, R. A. The inhibition of candida albicans by oregano. **Journal of Applied Nutrition**, La Habra, CA, v. 47, n. 4, p. 96-102, 1995.

STURKIE, P. D. **Avian Physiology.** 2. ed. New York: Cornell University Press, 1965. 766 p.

SUGETA, S. M.; BERSCH, F. X.; BUENO, C. J. C.; BORGES, C. A. Q. Substituição dos promotores de crescimento por probióticos na dieta de frangos de corte. **Revista Brasileira de ciência Avícola**, Campinas, v. 6, p. 53, 2004. Suplemento.

TSINAS, A. C. **Naturally selected.** England, Meriden: Northampton, [2003?]. 8 p.

VARGAS JR, J. G. de.; TOLEDO, R. S.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; CARVALHO, D. C. O.; OLIVEIRA, J. E. de. Uso de probiótico e antibiótico

em rações de frango de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. 1 CD-ROM.

VENTURA, B. G.; SOARES, R. da T. R. N.; CHIQUIERI, J.; CANNIZZAS, A. de P. Utilização de alho e/ou probiótico como estimulantes do crescimento de suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD-ROM.

VIOLA, T. H. **A influência da restrição de água no desempenho de fraangos de corte.** 2003. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

YOUNG, J. F.; STAGSTED, J.; JENSEN, I. S. K.; KARLSSON, A. H.; HENCKEL, P. Ascorbic Acid, α -Tocopherol, and Oregano Supplements Reduce Stress-Induced Deterioration of Chicken Meat Quality. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 8, p. 1343-1351, Aug. 12003.