

UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL COM ÊNFASE EM
PRODUTOS BIOATIVOS

GABRIELA ROCHA SANTOS

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Gallesia integrifolia* (PHYTOLACCACEAE) NA CASCA DE OVOS INCUBÁVEIS DE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE E PARÂMETROS DE PRODUÇÃO DE PINTAINHOS DE UM DIA

Umuarama
2025

GABRIELA ROCHA SANTOS

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Gallesia integrifolia* (PHYTOLACCACEAE) NA CASCA DE OVOS INCUBÁVEIS DE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE E PARÂMETROS DE PRODUÇÃO DE PINTAINHOS DE UM DIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com área de concentração em Saúde Única.

Orientação: Dra. Luciana Kazue Otutumi

Umuarama
2025

Ficha Catalográfica

S237a Santos, Gabriela Rocha.

Avaliação do efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) na casca de ovos incubáveis de matrizes de frangos de corte e parâmetros de produção de pintainhos de um dia / Gabriela Rocha Santos. – Umuarama : Universidade Paranaense - UNIPAR, 2025.
61 f.

Orientadora: Dr^a. Luciana Kazue Otutumi.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense - UNIPAR.

1. Pau-d’alho. 2. Organosulfurados. 3. Desinfecção. 4. Fungos. 5. Mesófilos aeróbios. I. Universidade Paranaense - UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 636.5

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense, na *Unidade de Umuarama da Universidade Paranaense* e no Matrizeiro e Incubatório da Levo Alimentos como requisito para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – Área de Concentração Saúde Única, sob orientação da Dra. Luciana Kazue Otutumi.

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Gallesia integrifolia* (PHYTOLACCACEAE) NA CASCA DE OVOS INCUBÁVEIS DE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE E PARÂMETROS DE PRODUÇÃO DE PINTAINHOS DE UM DIA

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionadas:

- 1 CAPES: Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior
- 2 Coordenação de Pós-graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa

GABRIELA ROCHA SANTOS

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Galesia integrifolia* (PHYTOLACCACEAE) NA CASCA DE OVOS INCUBÁVEIS DE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE E PARÂMETROS DE PRODUÇÃO DE PINTAINHOS DE UM DIA

Trabalho de conclusão do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos aprovado como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos pela Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dra. Luciana Kazue Otutumi

Doutora em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina - UEL
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (orientadora)

Dr. Gerson Nakazato

Doutor em Genética e Biologia Molecular
Docente da Universidade Estadual de Londrina - UEL (banca externa)

Dra. Zilda Cristiani Gazim

Doutora em Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual de Maringá - UEM
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (banca interna)

Umuarama, 11 de maio de 2025.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por sempre estar ao meu lado e por me conceder tudo isso.

À minha orientadora Dra. **Luciana Kazue Otutumi**, pela oportunidade, orientação, ajuda, confiança, compreensão, preocupação, amizade, competência, disponibilidade e pelo incentivo, por compartilhar seus conhecimentos e sempre estar disposta a me ajudar quando precisei. Sou grato por tudo que tem feito por mim durante o mestrado.

À querida professora **Zilda Cristiani Gazim**, pela parceria na extração e fornecimento do óleo essencial utilizado nesse estudo, assim como as valiosas sugestões compartilhadas.

Aos colegas da graduação de Medicina Veterinária da Unipar, em especial a **Derick, Denise, Isadora, Rafael, Luiz Gustavo, Celina, Larissa, Flávio e Halison** pela ajuda durante os preparos das análises laboratoriais e a realização de algumas avaliações práticas do estudo.

Ao meu colega **Itaruã**, pelos conhecimentos compartilhados e pela disponibilidade em todos os momentos que precisei, colaborando com o preparo dos materiais de laboratórios para que fosse possível a realização desse experimento.

A **Plusval Agroavícola** e a todos os parceiros de trabalho registro aqui, um agradecimento especial, por permitirem a realização desse estudo e possibilitarem meu desenvolvimento.

A toda minha **família** e ao meu esposo **Lucas Reati** pelo amor, incentivo, força e apoio incondicional.

À **Capes**, pela concessão da taxa de mestrado.

À **Universidade Paranaense**, pela oportunidade de cursar o mestrado.

A **todos** aqueles que não foram citados, mas que de alguma maneira foram importantes ao longo dessa jornada.

“A gratidão é o único tesouro dos humildes.”(William Shakespeare, 1603)”.

SANTOS, Gabriela Rocha. **Avaliação do efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Gallesia Integrifolia* (Phytolaccaceae) frente a bactérias isoladas da casca de ovos incubáveis de matrizes de frangos de corte e parâmetros de produção de pintainhos de um dia.** Orientadora: Luciana Kazue Otutumi. 2025. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

RESUMO

O Brasil se destaca na produção de carne de frango, com 14,833 milhões de toneladas em 2024, atendendo à crescente demanda interna e externa devido à alta qualidade proteica e o baixo custo da carne de frango. Para otimizar a produção avícola, a desinfecção eficaz dos ovos incubáveis é essencial, pois influencia a taxa de eclosão e a qualidade dos pintainhos. Tradicionalmente, o formaldeído tem sido utilizado nesse processo devido à sua ação antimicrobiana. No entanto, seus riscos à saúde humana e ao meio ambiente impulsionam a busca por alternativas naturais e sustentáveis. Dentre essas alternativas, os óleos essenciais têm se destacado pelo amplo espectro de atividades biológicas, incluindo ação antimicrobiana e antifúngica. O óleo essencial dos frutos de *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) apresenta potencial antimicrobiano, devido à presença de compostos bioativos como organosulfurados, que podem interferir na membrana celular de microrganismos patogênicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do óleo essencial da espécie *G. integrifolia* como alternativa para a desinfecção de ovos incubáveis oriundos de dois matrizeiros de frangos de corte na região Noroeste do Paraná. Foram selecionados 384 ovos, divididos igualmente entre dois matrizeiros, e distribuídos em grupos controle e tratamento. No grupo controle, os ovos foram desinfetados com solução aquosa contendo polisorbato a 2% (2 mL/ovo). No grupo tratamento, utilizou-se uma solução semelhante, acrescida de óleo essencial de *G. integrifolia* na concentração de 0,44 mg/mL. A eficácia da desinfecção foi avaliada por meio da contagem de mesófilos aeróbios e fungos da superfície da casca. Além disso, foram analisados os parâmetros produtivos, como taxa de eclosão, relação peso do pintainho/peso do ovo e qualidade dos pintainhos por meio de scores. Os resultados mostraram que a contagem de mesófilos aeróbios e os parâmetros produtivos avaliados não diferiram estatisticamente entre os tratamentos ($P > 0,05$) em ambos os matrizeiros. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o óleo essencial de *G. integrifolia* não reduziu a contagem de mesófilos e fungos da casca dos ovos férteis, no entanto, não comprometeu os parâmetros produtivos avaliados. Novos estudos são importantes para validar sua eficácia, segurança e viabilidade econômica, além de estabelecer protocolos de aplicação mais robustos. A adoção de alternativas naturais para a desinfecção de ovos férteis alinha-se aos Objetivos de

Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU. O ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável) é contemplado pela busca por práticas que otimizem a produção avícola e garantam maior segurança alimentar. O ODS 3 (Saúde e Bem-Estar) relaciona-se à substituição do formaldeído, um agente tóxico, por métodos mais seguros para trabalhadores e consumidores. Já o ODS 12 (Consumo e Produção Sustentáveis) incentiva a redução do uso de produtos químicos prejudiciais ao meio ambiente, promovendo uma produção mais responsável. Assim, o estudo reforça a importância da pesquisa em métodos alternativos para garantir a segurança alimentar e a sustentabilidade da avicultura.

Palavras-chave: Pau-d'alho. Organosulfurados. Desinfecção. Fungos. Mesófilos aeróbios.

SANTOS, Gabriela Rocha. **Evaluation of the antimicrobial effect of the essential oil of *Galesia Integrifolia* (Phytolaccaceae) against bacteria isolated from the shells of hatching eggs of broiler breeders and production parameters of day-old chicks.** Advisor: Luciana Kazue Otutumi. 2025. 61 p. Dissertation (Master's degree in Animal Science with Emphasis on Bioactive Products) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

ABSTRACT

Brazil stands out in chicken meat production, with 14.833 million tons in 2024, meeting growing domestic and foreign demand due to the high protein quality and low cost of chicken meat. To optimize poultry production, effective disinfection of hatching eggs is essential, as it influences the hatch rate and the quality of the chicks. Traditionally, formaldehyde has been used in this process due to its antimicrobial action. However, its risks to human health and the environment are driving the search for natural and sustainable alternatives. Among these alternatives, essential oils have stood out for their broad spectrum of biological activities, including antimicrobial and antifungal action. The essential oil from the fruit of *Galesia integrifolia* (Phytolaccaceae) has antimicrobial potential due to the presence of bioactive compounds such as organosulfur compounds, which can interfere with the cell membrane of pathogenic microorganisms. The aim of this study was to evaluate the efficacy of the essential oil of the *G. integrifolia* species as an alternative for disinfecting hatching eggs from two broiler hatcheries in the northwestern region of Paraná. A total of 384 eggs were selected, divided equally between two nurseries and distributed into control and treatment groups. In the control group, the eggs were disinfected with an aqueous solution containing 2% polysorbate (2 mL/egg). In the treatment group, a similar solution was used, plus *G. integrifolia* essential oil at a concentration of 0.44 mg/mL. The effectiveness of the disinfection was assessed by counting aerobic mesophiles and fungi on the shell surface. In addition, production parameters such as hatch rate, chick weight/egg weight ratio and chick quality were analyzed using scores. The results showed that the aerobic mesophile count and the production parameters evaluated did not differ statistically between treatments ($P > 0.05$) in both broiler houses. Based on the results obtained, it can be concluded that the essential oil of *G. integrifolia* did not reduce the count of mesophiles and fungi on the shells of fertile eggs, however, it did not compromise the productive parameters evaluated. Further studies are important to validate its efficacy, safety and economic viability, as well as to establish more robust application protocols. The adoption of natural alternatives for disinfecting fertile eggs is in line with the UN's Sustainable Development Goals (SDGs). SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture) includes the search for practices that optimize poultry production and ensure greater food security. SDG 3 (Health and Well-being) relates to the replacement of

formaldehyde, a toxic agent, with safer methods for workers and consumers. SDG 12 (Sustainable Consumption and Production) encourages a reduction in the use of environmentally harmful chemicals, promoting more responsible production. The study thus reinforces the importance of research into alternative methods to guarantee food safety and the sustainability of poultry farming.

Keywords: Pau-d'algo. Organosulfur. Disinfection. Fungi. Aerobic mesophiles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 1 - Avaliação do efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Galesia integrifolia* (Phytolaccaceae) frente a bactérias e fungos isoladas da casca de ovos incubáveis de matrizes de frangos de corte e parâmetros de produção de pintainhos de um dia.

Figura 1 - Qualidade dos pintainhos ao nascimento classificados por escores em função dos tratamentos e origem (matrizeiros)..... 43

LISTA DE TABELAS

Artigo 1 - Avaliação do efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) frente a bactérias e fungos isoladas da casca de ovos incubáveis de matrizes de frangos de corte e parâmetros de produção de pintainhos de um dia.

Tabela 1 - Classificações em scores de qualidade de pintainhos neonatos.....	39
Tabela 2 - Média \pm erro padrão (Log_{10}) de contagem de mesófilos aeróbios e fungos de ovos de ninhos desinfetados ou não com óleo essencial de <i>G. integrifolia</i>	40
Tabela 3 - Média \pm erro padrão dos parâmetros peso ovo (g), peso pintainho (g) e escore de qualidade de pintainhos oriundos de ovos de ninhos desinfetados ou não com óleo essencial de <i>G. integrifolia</i>	42
Tabela 4 - Média \pm erro padrão dos parâmetros de eclosão total, eclosão sobre os férteis e relação peso pintainho/peso ovo.....	44

LISTA DE SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
BDA	Batata Dextrose Agar
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEPEEA	Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal
CIM	Concentração Inibitória Mínima
GI ₅₀	Concentração necessária para inibir em 50% a proliferação celular
IC ₅₀	Concentração que inibe 50% de uma determinada atividade biológica
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UNIPAR	Universidade Paranaense
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetros
g	Gramas
Kg	Quilogramas
Log	Logaritmo
m	Metros
mg	Miligramas
mL	Mililitros
%	Porcentagem
μ L	Microlitro

SUMÁRIO

	CAPITULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1.1	Introdução	18
1.2	Revisão da Literatura	20
1.3	Referências	25
1.4	Objetivo	31
	CAPITULO 2 – ARTIGO	32
2.1	ARTIGO - Efeito antimicrobiano do óleo essencial de <i>Gallesia integrifolia</i> (Phytolaccaceae) frente a bactérias e fungos da casca de ovos incubáveis e sua influência nos parâmetros de produção de pintainhos de um dia ao nascimento.....	33
	RESUMO.....	34
	ABSTRACT.....	35
	Introdução	36
	Material e Métodos	37
	Seleção, identificação e desinfecção dos ovos	37
	Coleta e processamento das amostras	37
	Avaliação da qualidade dos pintainhos	38
	Análise estatística.....	39
	Resultados e Discussão	40
	Conclusão.....	45
	Referências.....	45
3	CONCLUSÃO	48
4	ANEXOS	49
	ANEXO 1 - Normas da Revista Semina – Ciências Agrárias.....	49

ANEXO 2 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação

Animal (CEPEEA)..... 61

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

**IMPORTÂNCIA DA DESINFECÇÃO DE OVOS INCUBÁVEIS E DE MÉTODOS
ALTERNATIVOS PARA A ECLODIBILIDADE E QUALIDADE DE PINTAINHOS
DE FRANGOS DE CORTE: REVISÃO DE LITERATURA**

O capítulo 1 foi editado de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.

IMPORTÂNCIA DA DESINFECÇÃO DE OVOS INCUBÁVEIS E DE MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA A ECLODIBILIDADE E QUALIDADE DE PINTAINHOS DE FRANGOS DE CORTE: REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Introdução

O Brasil situa-se em uma posição de destaque sendo considerado o país com a maior riqueza de plantas no mundo, com uma estimativa de 50.000 espécies, que fornecem madeira, celulose, alimentos, óleos vegetais e óleos essenciais (Fioravanti, 2016). No entanto, somente 8% das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos e apenas 1.100 espécies vegetais desta flora foram avaliadas em suas propriedades medicinais (Furtado *et al.*, 2022).

A espécie *Gallesia integrifolia* pertencente à família Phytolacaceae, é uma árvore de grande porte popularmente conhecida como Pau d'alho, nativa no Brasil, característica da mata fluvial atlântica e da floresta semidecidual e que ocorre naturalmente em vários estados brasileiros, desde o Ceará até o Paraná (Barros *et al.*, 2005). Seu nome popular se dá devido todas as partes da planta exalarem cheiro de alho, mais forte em dias com alta umidade do ar, no qual pode ser sentido à distância (Lima, 2014).

No óleo essencial foram relatados compostos de enxofre nas folhas (97,00%), flores (93,33%) e frutos (86,74%). Nos frutos os principais compostos foram 2,3,5-tritiahexano, 6-ditiaoctana-1,8-diol, metanotiol, 2,8-Ditianonano, trissulfeto de dimetila e lentionina com potencial antimicrobiano (Raimundo *et al.*, 2018).

De acordo com Anwar *et al.* (2008) substâncias naturais contendo enxofre, característica de plantas aromáticas como *G. integrifolia*, frequentemente possuem inúmeras atividades biológicas, entre elas, propriedades antimicrobianas, demonstrando então a possibilidade de ser um produto alternativo para uso na desinfecção de ovos incubáveis.

De acordo com Cony *et al.* (2008), a qualidade dos ovos incubáveis é fundamental para obtenção de altos níveis de eclosão e práticas para à manutenção desta qualidade requerem coletas frequentes, limpeza e desinfecção adequadas, uma vez que a microbiota bacteriana existente na superfície da casca pode infectar e causar mortalidade de embriões e pintainhos recém-nascidos. A maior parte da contaminação presente na casca do ovo ocorre por transmissão horizontal, após a postura, seja por presença de microrganismos presentes na cama dos aviários ou do próprio ninho de postura (Carvalho, 2019).

A redução ou eliminação dos microrganismos presentes na casca do ovo após a postura é um dos pontos chaves na produção de frangos de corte de alta qualidade (Oliveira; Santos, 2018). Os ovos devem passar por esse processo, no máximo, 30 minutos após a coleta, minimizando assim a penetração de microrganismos (Carvalho, 2019).

Dentre os desinfetantes mais utilizados tem-se o formaldeído, porém com adversidades devido a implicações na carcinogênese, além de que próximo aos pintainhos pode causar alterações em nível de traqueia e pulmões, como ruptura da membrana ciliar e descamação epitelial, o que tem forte impacto na produtividade por comprometer as barreiras naturais dessas aves, dificultando sua defesa no ambiente de criação (Branco; Dallago; Bernal, 2021).

Esse contato próximo dos pintainhos com o formaldeído pode ocorrer nos nascedouros ou por erros de dosagem no momento da desinfecção. Dessa forma, os óleos essenciais vêm sendo estudados como alternativa devido às suas propriedades antimicrobianas e por serem aceitos por programas de biossegurança, além da demanda dos consumidores por produtos sustentáveis, o que têm estimulado o interesse na desinfecção natural de ovos (Nogueira *et al.*, 2019).

1.2 Revisão da Literatura

Manejo de ovos incubáveis

O manejo empregado desde a postura dos ovos até o momento do nascimento no incubatório são fatores que podem interferir na qualidade de incubação, eclodibilidade e, conseqüentemente, no pintainho (Andrade, 2018). Sendo assim, a manutenção da qualidade é dependente de um rigoroso controle de biossegurança nas granjas, cuidados no manejo na coleta dos ovos, e na desinfecção, garantindo assim, a saúde animal e produção de ovos (Calil, 2007).

Embora o ovo apresente barreiras naturais (casca, cutícula e membrana), microorganismos podem passar para o conteúdo interno do ovo. Isso ocorre porque após a postura, o ovo esfria, e com esse resfriamento causa o encolhimento da parte interna, havendo uma sucção de bactérias e fungos, ou seja, os microorganismos patogênicos penetram na casca do ovo, por meio dos poros, podendo prejudicar o desenvolvimento embrionário e posteriormente o desempenho produtivo dos frangos (Gustin, 2003).

O ovo está sujeito a contaminações desde a sua formação e passagem pela cloaca, e a partir de então, qualquer superfície em contato pode levar ao aumento dessa carga (Cony, 2007). Diante disso, o manejo dos ninhos é crucial para a qualidade do ovo que será incubado. Quando a postura é feita em ninhos limpos contendo material limpo, absorvente, durável, textura média e com coleta frequente, se contribui positivamente para a qualidade dos ovos (Oliveira, 2018).

Além disso, os ninhos devem ser escuros e com boa ventilação, devendo ser fechados à noite para impedir que as aves permaneçam dentro deles, evitando assim a contaminação da área com material fecal e posterior contaminação do ovo (Bermudez; Brown, 2003).

Ao longo do tempo buscam-se práticas para intensificar a postura em ninhos, mantendo melhor sanidade dos ovos, e evitando a postura na cama, pois a postura na cama proporciona aumento de ovos sujos. Por isso se preconiza o manejo adequado dos ninhos e uma maior coleta dos ovos diariamente para evitar ao máximo a contaminação por microorganismos (Avila *et al.*, 2001).

Mecanismos de contaminação microbiana e microbiota em ovos

A contaminação dos ovos é considerada um dos grandes problemas enfrentados na incubação, visto que interfere significativamente nas taxas de eclosão (Costa, 2021). A contaminação do ovo por microorganismos acontece por duas principais rotas, chamadas

transmissão vertical e transmissão horizontal. Na transmissão vertical ou transovariana ocorre a contaminação do conteúdo interno do ovo ainda durante a sua formação no oviduto, devido à infecção dos órgãos e do trato reprodutivo da galinha (Oliveira, 2021). Já na transmissão horizontal, ou trans-casca, ocorre quando há a exposição do ovo ao ambiente contaminado, que também pode resultar na penetração de agentes microbianos pela casca, através de trincas microscópicas, rachaduras ou simplesmente pelos poros da casca (Gantois *et al.*, 2009). Apesar da importância dada à contaminação microbiana vertical que ocorre no trato reprodutivo de galinhas, por levar a alterações significativas na qualidade dos pintainhos de um dia, a transmissão microbiana horizontal é tida como principal via responsável pela contaminação e deterioração dos ovos de galinhas reprodutoras e de postura (Clímaco, 2017).

Entre os gêneros bacterianos presentes na superfície da casca e no conteúdo interno de ovos pode-se citar: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Aeromonas*, *Proteus* e *Serratia* (Board; Tranter, 1995).

Em relação aos gêneros fúngicos presentes na microbiota da casca e no conteúdo interno dos ovos estão *Alternaria*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Trichothecium*, *Scopulariopsis*, *Botryotrichum*, *Engyodontium*, *Fusarium*, *Purpureocillium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Candida* e *Trichoderma* (Cook *et al.*, 2003; Neamatallah *et al.*, 2009; Tomczyk *et al.*, 2018).

Embora a microbiota da casca de ovos incubáveis seja predominantemente de bactérias Gram-positivas (Board; Tranter, 1995), a penetração trans-casca de bactérias gram-negativas como a *Escherichia coli*, pode representar sérios riscos para o desenvolvimento de embriões e pintainhos, uma vez que essa bactéria é a principal responsável pela infecção do saco vitelino, contribuindo assim para a redução da qualidade dos embriões e pintainhos ao nascimento e também causando mortalidade embrionária e de pintainhos recém nascidos (Cortés *et al.*, 2004).

Em razão disso, é essencial o manejo sanitário de desinfecção dos ovos incubáveis logo após a postura, de forma correta e com desinfetantes apropriados, uma vez que a maioria dos problemas resultantes da invasão de microrganismos deve-se a falhas na sanitização dos ovos (Valdo *et al.*, 2020).

Desinfecção de ovos incubáveis

Mesmo ovos de ninhos limpos apresentam certa quantidade de microrganismos na casca que, em condições favoráveis de crescimento, podem comprometer a eclodibilidade e a

saúde dos pintainhos neonatos (Clímaco *et al.*, 2018). Diante disso, a sanitização de ovos quando mal sucedida resulta em perdas significativas em todo o processo, detectado por meio do aumento da mortalidade embrionária, baixa eclodibilidade, aumento da mortalidade de pintainhos recém nascidos, aves com desempenho indesejáveis e incremento nos custos de produção (Cony, 2007).

Dentre os métodos mais utilizados para a desinfecção de ovos incubáveis, estão a pulverização, imersão e fumigação, sendo que os princípios ativos comumente utilizados são os compostos quaternários de amônia e o formaldeído (Valdo *et al.*, 2020). O uso do formaldeído por meio da fumigação é uma técnica de fácil administração e eficiência contra um amplo espectro de microrganismos, porém, seu uso foi proibido em diversos países devido a sua elevada toxicidade e o seu efeito carcinogênico, visto também que nos incubatórios, essa substância oferece alto risco aos embriões e à saúde de seus manuseadores (Kusstascher *et al.*, 2017).

Óleos essenciais

Os óleos essenciais vêm sendo estudados como alternativa devido às suas propriedades antimicrobianas e por serem aceitos por programas de biossegurança (Nogueira *et al.*, 2019). Se originam do metabolismo secundário das plantas, sendo extraído de flores, botões, folhas, ramos, cascas, sementes, frutos, raízes e rizomas (Simoes, 2001). São também chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essência e estão presentes nas plantas como produto natural e que contêm compostos aromáticos constituídos geralmente, por hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos como enxofre (Sarto; Zanusso Junior, 2014).

O mecanismo de ação desses compostos envolve principalmente a interação entre diferentes moléculas alvo e nas funções das células bacterianas como mecanismos antibacterianos principalmente de inibição da síntese de ácido nucléico, distúrbios nas propriedades da membrana citoplasmática e no metabolismo energético (Barbosa *et al.*, 2015).

Vários trabalhos publicados indicam diferenças no potencial de ação dos óleos essenciais contra bactérias, com maior potencial de ação contra bactérias gram-positivas e menor potencial de ação contra bactérias gram-negativas, basicamente porque a membrana externa das bactérias gram-negativas possui moléculas de lipopolissacarídeos hidrofílicos em sua composição (Fournomiti *et al.*, 2015). Em contraste, alguns estudos mostraram que alguns

óleos essenciais apresentavam maior potencial contra bactérias gram-negativas do que bactérias gram-positivas (Esteves; Da Silva Ecker, 2020; Lopez Romero *et al.*, 2015; Valeriano *et al.*, 2012) ou o mesmo potencial contra os dois tipos de bactérias (Greatti *et al.*, 2014; Prabuseenivasan *et al.*, 2006; Puskarova *et al.*, 2017). Logo, nenhuma regra geral pode ser estabelecida em relação ao potencial de ação dos óleos essenciais contra bactérias gram-positivas ou gram-negativas, visto que sua eficácia irá depender de diversos fatores incluindo o tipo de planta. Em relação à contaminação fúngica, também foi demonstrado que os óleos essenciais podem inibir vários fungos (Ooi *et al.*, 2006; Puskarova *et al.*, 2017).

No Brasil diversas espécies vegetais são usualmente utilizadas como antifúngicos. Devido à sua diversidade vegetal, a região Amazônica conta com grande variedade de óleos essenciais e extratos utilizados sendo considerado por isso uma das maiores biodiversidades no tratamento de infecções fúngicas (Botelho *et al.*, 2007). Dentre as diversas espécies, algumas merecem destaque, tais como: *Copaifera multijuga* (Copaíba), *Carapa guianensis* Aubl. (Andiroba), *Piper aduncum* (Pimenta-de-macaco), *Piper hispidinervum* (Pimenta longa), *Annona glabra* L. (Araticum-do-brejo), *Azadirachta indica* A. Juss (Nim indiano), *Bryophyllum calycinum* Salisb. (folha-de-pirarucu), *Eleutherine plicata* Herb. (Marupazinho), *Mammea americana* L (Abricó), *Psidium guajava* var. (Goiabeira) e *Syzygium aromaticum* L (Cravo-da-índia) (Menezes *et al.*, 2009).

Além dessas espécies, o óleo essencial de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms tem apresentado ação fungicida de amplo e variado espectro em modelos experimentais *in vitro*, possivelmente por atuar inibindo a formação da parede celular, bem como fatores de virulência (Vasconcelos, 2020).

Gallesia integrifolia

A espécie *Gallesia integrifolia* faz parte da família Phytolaccaceae, gênero *Gallesia*, sendo considerada uma árvore de grande porte, nativa no Brasil e encontrada em diversos estados brasileiros como Acre, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Mato Grosso, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (Forzza *et al.*, 2010).

Esta árvore é popularmente conhecida como pau d'alho, sendo também citada como sinonímia de *Gallesia gorazema*, *Gallesia ovata* e *Gallesia scorododendrum* (POWO, 2025).

Apresenta-se como de grande porte, com altura de 15 a 30 metros, copa ampla e densa com diâmetro do tronco de 70 a 140 cm, com frutos do tipo sâmara que facilita a dispersão, e apresenta coloração parda quando amadurecem no período de junho a outubro; já suas folhas são simples, ovais lisas e brilhantes nas duas faces e as flores são pequenas, reunidas em

panículas terminais, de coloração branca (Romeiro, 2013; Sato *et al.*, 2004). A floração ocorre entre os meses de fevereiro e abril e a madeira da planta e outras partes exalam um odor acentuado de alho, sendo por isso, conhecida vulgarmente como pau-d'alho (Barros *et al.*, 2005; Lima *et al.*, 2010).

O pau d'alho é muito utilizado na medicina popular, no tratamento de bronquite, asma, gripe, tosse e pneumonia, apresentando aplicações medicinais também no tratamento externo de otite, gonorréia, verminoses, reumatismo e no combate a tumores da próstata; além de ser indicado como hipotensores e redutores da taxa de colesterol e em casos de dores nas pernas (Lorenzi, 2002).

Em relação à sua fitoquímica foram relatadas substâncias da classe dos triterpenos, porfirinas, diterpenos, alcoóis ramificados, fenóis e cetonas aromáticas (Akisue *et al.*, 1986). Além de substâncias naturais contendo enxofre, que podem apresentar várias atividades biológicas, como propriedades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica contra certas células cancerígenas (Anwar *et al.*, 2008; Neves, 2012).

Preparações de diferentes partes da planta são indicadas em alguns países da América Latina no tratamento de infecções (bacterianas e fúngicas) e manejo de abscessos por diferentes grupos étnicos na bacia amazônica (Akisue *et al.*, 1986; Balbach, 1992; Duke, 1985). Além disso, seu uso na medicina tradicional, na forma de chás feitos de suas folhas e cascas, são utilizados para tratamento de tosse e afecções da pele (Munoz *et al.*, 2000), infecções da garganta (Carneiro *et al.*, 2014), diarreia, asma, reumatismo, redução de espasmos, infecções helmínticas, hemorragias, febres (Bourdy *et al.*, 2000) e em condições inflamatórias (Agra *et al.*, 2008; Bieski *et al.*, 2015).

Estudos científicos também demonstram que os extratos e óleo essencial de *G. integrifolia* apresentam propriedades larvicida, antifúngica, acaricida, antiúlcera, antinociceptiva e antiviral (Arunachalam *et al.*, 2016; Silva Junior *et al.*, 2013; Raimundo *et al.*, 2017; Raimundo *et al.*, 2018).

1.3 Referências

- AGRA, M. D. F. *et al.* Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 18, p. 472-508, 2008.
- AKISUE, M. K.; AKISUE, G.; OLIVEIRA, F. Caracterização farmacognóstica de pau d' alho: *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, n. 2, p. 166-182, 1986.
- ANDRADE, Mariana de. **Avaliação do óleo essencial de citronella (*Cymbopogon winterianus*) como agente alternativo na desinfecção de ovos incubáveis**. Trabalho de Conclusão de Curso (curso de Zootecnia) - Campus de Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2018.
- ANWAR, A. *et al.* Naturally occurring reactive sulfur species, their activity against Caco2 cells, and possible modes of biochemical action. **Journal of Sulfur Chemistry**, v. 29, p. 251-268, 2008.
- AQUINO, L.C.L. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjerição frente a bactérias de carnes bovinas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.21, n.4, p.529-535, 2010.
- ARUNACHALAM, K. *et al.* *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms: in vitro and in vivo antibacterial activities and mode of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 184, p. 128-137, 2016.
- AVILA, V. S. *et al.* Influência do horário de arraçamento na produção de ovos de acordo com o horário de coleta em reprodutoras de frango de corte. **Embrapa Suínos e Aves**, Porto Alegre, jun. p. 1-3, 2001.
- BALBACH, A. **Plants that heal**. 2nd ed. Missionary Publishing house, São Paulo, Brazil. 1992.
- BARBOSA, L. C. A. *et al.* Vitamin E and others chemical constituents from the leaves of *Gallesia gorazema*. **Fitoterapia**, p. 515-519, 2015.
- BARROS, U. S. S; SILVA, A.; AGUIAR, B. I. Germinação de sementes de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms (pau-d' alho) sob diferentes condições de temperatura, luz e umidade do substrato. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, n. 4, p. 727-733, 2005.
- BERMUDEZ, A. J.; BROWN, B.S. Principles of disease prevention: Diagnosis and control. *In*: SAIF, Y. M. **Diseases of Poultry**. 11.ed. Iowa: Iowa State Press, p. 17-53, 2003.
- BIESKI, I. G. C. *et al.* Ethnobotanical study of medicinal plants by population of valley of Juruena region, legal Amazon, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 15, n. 173, p. 383-423, 2015.

BOARD, F.G.; TRANTER, H. S. The microbiology of eggs. *In*: STADELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J (Ed.) **Egg Science and Technology**, 4ed. Food Products Press - The Haworth Press: London, 1995. p. 81–104.

BOURDY, G. *et al.* Medicinal plants uses of the Tacana, an Amazonian Bolivian ethnic group. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, p. 87-109, 2000.

BOTELHO, M. A, *et al.* Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia siloides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p. 349-56, 2007.

BRANCO, J. R. O.; DALLAGO, B. S. L.; BERNAL, F. E. M. Efficiency of ultraviolet light for disinfection of fertile broiler eggs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Viçosa, v. 73, n. 05, p. 1137-1146, 2021.

CALIL, T. A. C. Princípios básicos de incubação. *In*: CONFERÊNCIA APINCO 2007, SIMPÓSIO SOBRE INCUBAÇÃO, 2007. Santos. **Anais [...]** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola, 2007. CD-ROM.

CARNEIRO, F. M. *et al.* Tendências dos estudos com plantas medicinais. **Revista Sapiência: Sociedade saberes práticas educacionais**. v. 3, p. 44-75, 2014.

CARVALHO, Matheus Galindo Jácome de. **Manejo de ovos férteis e os principais problemas a serem enfrentados no processo produtivo**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Medicina Veterinária) - Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2019.

CLÍMACO, W. L. S. *et al.* Eggshell microbiology and quality of hatching eggs subjected to different sanitizing procedures. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, p. 1177-1183, 2018.

CLÍMACO, Winnie Luiza dos Santos. **Desinfetantes alternativos ao uso de formaldeído para desinfecção de ovos férteis**. 2017. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

CONY, Carlos Heitor. **Métodos de desinfecção e princípios ativos desinfetantes e a contaminação, mortalidade embrionária e eclodibilidade de ovos e embriões de aves**. 2007. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

CONY, H. C. *et al.* Técnicas de pulverização e imersão com distintos desinfetantes sobre ovos incubáveis. **Ciência Rural**, v. 38, p. 1407-1412, 2008.

COOK, M. I. *et al.* Trans-shell infection by pathogenic microorganisms reduces the shelf life of non-incubated bird's eggs: a constraint on the onset of incubation?. **Proceedings Biological Sciences**, v. 270, n. 1530, p. 2233-2240, 2003.

- CORTÉS, C. R. *et al.* Bacterial isolation rate from fertile eggs, hatching eggs and neonatal broilers with yolk sac infection. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 46, n. 1–2, p. 12–16, 2004.
- COSTA, Bruno Teixeira Antunes. **Incubação de ovos de ninho e cama e aplicação de antibiótico ceftiofur em pintos de um dia sobre a eclosão e qualidade dos pintos**. 2021. Dissertação (Pós-Graduação em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.
- DUKE, James.; AYENSU, Edward. **Medicinal plants of China**, v.14. Reference Publications, Algonac, MI, p. 52-361, 1985.
- ESTEVES, F. M.; DA SILVA ECKER, A. B. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do óleo essencial de eucalyptus urograndis em cepas padrão de bacilos gram negativos. **Revista Uningá**, v. 57, n. 1, p. 11-23, 2020.
- FIORAVANTI, C. A maior diversidade de plantas do mundo. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo, n. 241, p. 42-47. mar 2016.
- FORZZA, R. C. *et al.* **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 2, p. 1699, 2010.
- FOURNOMITI, M. *et al.* Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*. **Microbial Ecology in Health & Disease**, v. 26, p. 23289-23295, 2015.
- FURTADO, C. H. *et al.* Influência de fatores abióticos no rendimento do óleo essencial da *Gallesia integrifolia* (spreng.) Harms. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 11, p. 221-237, 2022.
- GANTOIS, I. *et al.* Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. **FEMS Microbiology**, v. 33, p. 718–738, 2009.
- GREATTI, V. R. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana in vitro da aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) frente a linhagens gram positivas e gram negativas. **Revista Salusvita (Online)**, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, nov. 2014. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-737186>. Acesso em: 26 set. 2024.
- GUSTIN, P. C. **Biossegurança no incubatório**. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. Campinas, SP: Ed. FACTA, 2003. p. 297 - 349.
- KUSSTATSCHER, P. *et al.* Replacing conventional decontamination of hatching eggs with a natural defense strategy based on antimicrobial, volatile pyrazines. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 13253, 2017.

LIMA, I. L. *et al.* Efeito da procedência em algumas propriedades da madeira de *Galesia integrifolia* (Spreng.) Harms. **Revista do Instituto Florestal**, v. 22, n.1, p. 61-69, 2010.

LIMA, Paulo Ricardo. **Efeito do manejo hídrico durante a rustificação em mudas de *Galesia integrifolia* (Spreng.) Harms e *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos**. 2014. Dissertação (Pós-graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Candido Rondon, 2014.

LOPEZ-ROMERO, J. C. *et al.* Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against escherichia coli and staphylococcus aureus. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-9, 2015.

MENEZES, A. *et al.* Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 3, p. 184-91, 2009.

MUNOZ, V. *et al.* A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach: Part I. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, n. 2, p. 127-137, 2000.

NEAMATALLAH, A. A. *et al.* Biosafety against fungal contamination of hen's eggs and mycotoxins producing species. **Meteriology, Environment and Arid Land Agricultural Science**, v. 20, n. 2, p. 63–73, 2009.

NEVES, F. S. **Levantamento Etnofarmacológico das plantas medicinais utilizadas pelas comunidades quilombolas e assentados do norte fluminense com enfoque fitoquímico para a espécie *Galesia integrifolia* (Spreng) Harms**. Dissertação (mestrado em Ciências Naturais), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2012.

NOGUEIRA, W. C. L. *et al.* Disinfection of fertile eggs of free-range poultry with essential oils. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 20, p. e0822019, 2019.

OLIVEIRA, G, S.; SANTOS, V, M. Manejo de ovos férteis: revisão de literatura. **Nutritime Revista Eletrônica**. [s. l.], Vol. 15, n. 06, p. 8337-8351, nov/dez. 2018. Disponível em: <https://nutritime.com.br/wp-content/uploads/2020/02/Artigo-480.pdf>. Acesso em: 26 set.2024.

OLIVEIRA, G. S; SANTOS, V. M. Sanitizantes alternativos ao uso do paraformaldeído para ovos incubáveis: revisão de literatura. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 15 p. 8254-8271, 2018.

OLIVEIRA, Gabriel da Silva. **Sanitização de ovos incubáveis com óleo essencial de cravo-da-índia**. 2021. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

OOI, L. S. M.; *et al.* Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the Chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 34, n. 3, p. 511-522, 2006.

POWO. Plants of the world online. **Royal Botanic Gardens**. 2025. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/>. Acessado em: 14 jan. 2025.

PRABUSEENIVASAN, S.; JAYAKUMAR, M.; IGNACIMUTHU, S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 6, p. 39, 2006.

PUSKAROVA, A. *et al.* The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. **Scientific Reports**, v. 7, p. 8211, 2017.

RAIMUNDO, K. F. *et al.* Antifungal activity of *Gallesia integrifolia* fruit essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. suppl 1, p. 229-235, 2018.

RAIMUNDO, K. F. *et al.* Chemical composition of garlic wood (*Gallesia integrifolia*) (Phytolaccaceae) volatile compounds and their activity on cattle tick. **Australian Journal of Crop Science**. v.11, n. 08, p.1058-1067, 2017.

ROMEIRO, Diego. **A arquitetura hidráulica e a densidade da madeira na separação de espécies arbóreas em grupos funcionais**. 2013. Dissertação (mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente), Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2013.

SARTO, M. P. M.; ZANUSSO JUNIOR, G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Uningá Review**, v. 20, n. 1, 2014.

SATO, A. Y. *et al.* Controle de contaminação e oxidação na micropropagação do pau d' alho (*Gallesia gorazema* Moq.). **Agropecuária Técnica**, v. 25, n. 2, p. 65-70, 2004.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, Nova Odessa, 2002. 384p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre. Ed da Universidade UFRGS. 2001.

SILVA JUNIOR, A. J. *et al.* Chemical composition and antinociceptive, anti inflammatory and antiviral activities of *Gallesia gorazema* (Phytolaccaceae), a potential candidate for novel anti-herpetic phytomedicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v.150, n. 2, p. 595-600, 2013.

TOMCZYK, L. *et al.* Characterisation of the mycobiota on the shell surface of table eggs acquired from different egg-laying hen breeding systems. **Toxins**, v. 10, n. 7, p. 293, 2018.

VALDO, Nadia Nobrega; GARCIA, Sheila Merlo; DE SOUZA, Lilian Francisco Arantes. Diferentes desinfetantes sobre a contaminação e desempenho da incubação de ovos de avestruz. **Colloquium Agrariae**, p. 114-119, 2020.

VALERIANO, C. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 57–67, 2012.

VASCONCELOS, I. P. **Avaliação da atividade e modo de ação antifúngica do óleo essencial da entrecasca do caule de *Galesia integrifolia* (Spreng.) Harms, em modelos experimentais *in vitro***. 2020. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências da Saúde), Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2020.

1.4 Objetivo

Avaliar o efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Galesia integrifolia* na desinfecção de ovos incubáveis de ninho de dois matrizeiros localizados na região noroeste do estado do Paraná por meio de sua aspersão na casca e posterior avaliação dos parâmetros produtivos de pintainhos após o nascimento.

CAPÍTULO 2

ARTIGOS

**EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Gallesia integrifolia*
(PHYTOLACCACEAE) FRENTE A BACTÉRIAS E FUNGOS DA CASCA DE OVOS
INCUBÁVEIS E SUA INFLUÊNCIA NOS PARÂMETROS DE PRODUÇÃO DE
PINTAINHOS DE UM DIA**

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da Revista Semina: Ciências Agrárias

– ISSN 1676-546X.

Efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) frente a bactérias e fungos da casca de ovos incubáveis e sua influência nos parâmetros de produção de pintainhos de um dia

Antimicrobial effect of the essential oil of *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) against bacteria and fungi on the shells of hatching eggs and its influence on the production parameters of day-old chicks

Highlights

Contagem de mesófilos aeróbios dos ovos férteis variou entre 2,92 e 3,42 Log₁₀ UFC.

Contagem de bolores e leveduras dos ovos férteis variou entre 1,74 a 3,78 Log₁₀ UFC.

Os pintainhos apresentaram entre ótimo e bom escore de qualidade.

Resumo

O Brasil é reconhecido como o “celeiro do mundo”. Tal atribuição se deve principalmente ao sistema de integração e o status sanitário diferenciado, mantendo-o produtivo e competitivo no setor ao longo das últimas décadas. Para melhorar a eficiência e reduzir custos, o setor busca estratégias como o alto rendimento de incubação e a produção de pintainhos de alta qualidade. Nesse contexto é comum o uso de desinfetantes químicos principalmente a base de formaldeído na desinfecção dos ovos para prevenção de doenças. No entanto, devido ao alto riscos à saúde de quem o manipula e a crescente demanda dos consumidores, tem-se buscado por produtos naturais e métodos alternativos para produção. Uma das alternativas é o uso de óleos essenciais com poder antimicrobiano e antifúngico, o qual inclui o óleo essencial do fruto de *Gallesia integrifolia*. Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito do óleo essencial do fruto de *G. integrifolia* (Phytolaccaceae) como composto biocida alternativo na desinfecção de ovos incubáveis. Para execução do experimento foram selecionados 192 ovos de ninho de dois matrizeiro localizados na região Noroeste do estado do Paraná. Os ovos selecionados foram separados em grupo controle e tratamento e identificados com números sequenciais em grupos de quatro ovos. Os ovos do grupo controle foram desinfetados por aspersão com uma solução aquosa contendo polisorbato a 2% na proporção de 2 mL por ovo. Já os ovos do grupo tratamento, foram desinfetados com solução aquosa contendo polisorbato a 2% e óleo essencial de *G. integrifolia* na concentração de 0,44 mg mL⁻¹. A eficácia do óleo essencial de *G. integrifolia* foi avaliada por meio da contagem de mesófilos aeróbios e fungos da superfície da casca dos ovos. Os ovos foram incubados e ao nascimento dos pintainhos foram avaliados os parâmetros produtivos e de qualidade dos pintainhos nascidos por meio de escores. Os resultados obtidos demonstraram que o óleo essencial do fruto da *G. integrifolia* não alterou os parâmetros produtivos avaliados, a contagem de mesófilos aeróbios e a avaliação de qualidade dos pintainhos, relação peso do ovo e peso do pintainho, assim como, a eclosão total e a eclosão sobre os férteis não diferiram (P>0,05) entre os tratamentos em ambos matrizeiros. Já

a contagem de fungos do primeiro matrizeiro demonstrou diferença ($P < 0,05$) quando comparado o grupo teste com o controle.

Palavras-chave: Pau-d'alho. Organosulfurados. Desinfecção. Fungos. Mesófilos aeróbios.

Abstract

Brazil is recognized as the “breadbasket of the world”. This attribution is mainly due to the integration system and the differentiated health status, which has kept it productive and competitive in the sector over the last few decades. In order to improve efficiency and reduce costs, the sector is looking for strategies such as high incubation yields and the production of high-quality chicks. In this context, it is common to use chemical disinfectants, mainly formaldehyde-based, to disinfect eggs in order to prevent disease. However, due to the high risks to the health of those who handle them and growing consumer demand, there has been a search for natural products and alternative production methods. One of the alternatives is the use of essential oils with antimicrobial and antifungal properties, including the essential oil from the fruit of *Gallesia integrifolia*. The aim of this study was to evaluate the effect of the essential oil of the fruit of *G. integrifolia* (Phytolaccaceae) as an alternative biocidal compound for disinfecting hatching eggs. In order to carry out the experiment, 192 eggs were selected from the nests of two hatcheries located in the northwestern region of the state of Paraná. The selected eggs were separated into control and treatment groups and identified with sequential numbers in groups of four eggs. The eggs in the control group were disinfected by spraying them with an aqueous solution containing 2% polysorbate at a rate of 2 mL per egg. The eggs in the treatment group were disinfected with an aqueous solution containing 2% polysorbate and *G. integrifolia* essential oil at a concentration of 0.44 mg mL⁻¹. The efficacy of *G. integrifolia* essential oil was assessed by counting aerobic mesophiles and fungi on the surface of the eggshell. The eggs were incubated and the productive and quality parameters of the hatched chicks were evaluated using scores. The results obtained showed that the essential oil from the fruit of *G. integrifolia* did not alter the production parameters evaluated, the aerobic mesophile count and the assessment of chick quality, egg weight to chick weight ratio, as well as total hatching and hatching of fertile chicks did not differ ($P > 0,05$) between the treatments in both broiler houses. On the other hand, the fungal count in the first breeder showed a difference ($P < 0,05$) when comparing the test group with the control.

Keywords: Pau-d'alho. Organosulfur. Disinfection. Fungi. Aerobic mesophiles.

Introdução

Produzir alimentos é um talento natural do Brasil. Isso ocorre devido à combinação da vasta oferta de recursos naturais e insumos, o sistema de produção integrado e o *status* sanitário diferenciado determinante para ganhos de produtividade e competitividade setorial ao longo das últimas décadas. Reflexo disso, a produção brasileira de carne de frango cresceu mais de 11 vezes nas últimas quatro décadas, ficando o consumo *per capita* em 45,1 kg/habitante no ano de 2023 (ABPA, 2024).

Esse crescimento busca atender uma demanda interna e externa crescente, pois a carne de frango possui proteína de alta qualidade e baixo custo de mercado e diante disso o setor avícola necessita de estratégias para tornar a produção ainda mais eficiente e com menor custo (Schmidt; Silva, 2021). Nesse sentido, a desinfecção dos ovos permite a redução de contaminação e quando eficiente pode melhorar a eclodibilidade e a qualidade dos pintainhos. Para isso, atualmente o método mais utilizado é a desinfecção por fumigação com formaldeído (Lauvers *et al.*, 2011). Porém apesar de excelente agente antimicrobiano, o formaldeído pode causar sérios danos ao embrião, se a fumigação for realizada de maneira incorreta, além de não ser recomendado principalmente devido ao risco à saúde das pessoas envolvidas na sua aplicação (Melo *et al.*, 2019).

Diante desse cenário, produtos naturais e métodos alternativos têm sido cada vez mais explorados. Nessa linha, uma das alternativas são os óleos essenciais, que são metabólitos secundários produzidos e armazenados nos órgãos secretores das plantas aromáticas, considerados misturas naturais complexas extremamente voláteis, que possuem um largo espectro de atividades biológicas, sendo que uma das atividades mais bem conhecida é o poder antimicrobiano (Ferreira, 2014).

Considerando isso, a utilização de óleos essenciais como alternativa no controle bacteriano de ovos férteis se mostra promissora, dado que as contaminações bacterianas podem comprometer toda a cadeia produtiva, ocasionando quedas nos índices de eclosão e perdas econômicas substanciais nos incubatórios (Nogueira, 2019).

Nesse contexto, destaca-se a espécie *Gallesia integrifolia* (Spreng) Harms, por tratar-se de uma espécie arbórea vulgarmente denominada de pau-d'alho, devido ao forte cheiro de alho por ela emitido, sendo muito utilizada na medicina popular na preparação de chás, no tratamento de gripe, tosse, pneumonia, verminoses, gonorréia, tumores de próstata e reumatismo (Pinto, 2023). As plantas aromáticas como a espécie *G. integrifolia* contém altas concentrações de organosulfurados, que frequentemente possuem inúmeras atividades biológicas, entre elas propriedades antimicrobianas, antioxidante e citotóxica contra certas células cancerígenas (Anwar *et al.*, 2008).

Diante dessa diversidade de atividades e em especial as indicações com a função antimicrobiana em uso popular, justificam a iniciativa de realizar o estudo para examinar o efeito antimicrobiano do óleo essencial de *G. integrifolia* na desinfecção de ovos incubáveis.

Material e Métodos

Seleção, identificação e desinfecção dos ovos

Para a execução do experimento, foram selecionados ovos incubáveis de ninho, oriundos de dois matrizeiros de frangos de corte localizados na região noroeste do estado do Paraná, pertencente a uma agroindústria da região. Em cada matrizeiro, foram coletados 192 ovos totalizando 384 ovos avaliados. Os ovos coletados foram separados em duas bandejas contendo 96 ovos cada, sendo uma denominada controle e a outra tratamento. Após a seleção e separação dos grupos, os ovos foram identificados com números sequenciais em grupo de quatro ovos, totalizando 24 repetições.

Já identificados, os ovos foram primeiramente pesados e na sequência, os ovos do grupo controle foram desinfetados com uma solução aquosa contendo polisorbato 80 (2mL por ovo), já os ovos do grupo tratamento foram desinfetados com uma solução aquosa contendo polisorbato 80 e óleo essencial de *G. integrifolia* na concentração de 0,44 mg mL⁻¹, na mesma proporção de 2 mL ovo⁻¹ e forma de aplicação.

O óleo essencial de *G. integrifolia* utilizado na desinfecção dos ovos do grupo tratamento foi obtido do fruto da planta, colhidos no mês de junho de 2020 e extraído por meio do método de hidrodestilação num aparelho de clewenger modificado por 3 h, conforme metodologia descrita por Silva *et al.* (2023).

Com o intuito de determinar qual a Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizada na aplicação dos ovos, ensaios com o óleo essencial foi determinado por meio do método de microdiluição em caldo frente a cepa ATCC (*American Type Culture Collection*) da bactéria *Escherichia coli*, com CIM de 0,15 mg/mL. No entanto, para a desinfecção dos ovos a dosagem foi aumentada em aproximadamente três vezes, ou seja, 0,44 mg/mL.

Coleta e processamento das amostras

Após a desinfecção, os ovos foram mantidos em repouso até secagem completa (aproximadamente 20 minutos) e somente após esse período foi realizado a coleta de swab de amostras da casca do ovo, conforme metodologia descrita por Andrade (2018), onde foi utilizado o tempo de exposição de 10 a 20 minutos. Para as coletas, os swabs foram umedecidos em tubo contendo água peptonada 0,1% e comprimidos contra as paredes do tubo para remover o excesso de líquido e posteriormente passado em toda a superfície dos ovos. Cada amostra foi formada por um pool de quatro ovos, os quais foram acondicionados em sacos estéreis contendo 12 mL de água peptonada 0,1% estéril. As amostras coletadas foram mantidas refrigeradas até processamento no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense.

No laboratório, foi feito o processamento das amostras para determinação da contagem de mesófilos aeróbios e fungos da superfície da casca. Para a contagem de mesófilos aeróbios e fungos

foram utilizados respectivamente os seguintes meios de cultura: PCA (*Plate Count Agar*) e ágar BDA (*Batata Dextrose Agar*). Para isso, as amostras foram homogeneizadas por 60 segundos (diluição 10^{-1}). A partir desta diluição, foram efetuadas as demais diluições em solução de água peptonada 0,1% (10^{-2} e 10^{-3}). O plaqueamento foi feito por meio da inoculação de 0,1 mL (100 μ L) de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Em seguida, as amostras foram mantidas em estufa microbiológica a uma temperatura de 37°C por 48 horas para determinação da contagem de mesófilos aeróbios, e mantidas à temperatura ambiente por 120 horas para contagem de fungos. Passado o período de incubação das amostras foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias e os resultados da contagem foram transformados em Log_{10} .

Avaliação da qualidade dos pintainhos

Finalizado as coletas, os ovos foram encaminhados para o processo de incubação, onde posteriormente foram acondicionados em sacos de “filó” em grupo de quatro ovos conforme as identificações durante a transferência da incubadora para o nascedouro aos 19 dias de incubação, para que ao nascimento os pintainhos não se misturassem, permitindo assim a avaliação da qualidade dos mesmos (Andrade, 2018). Por fim, ao nascimento dos pintainhos os mesmos foram pesados conforme as identificações de seus respectivos agrupamentos e avaliados em relação a sua qualidade por meio de alguns parâmetros: atividade, penugem, olhos, umbigo, membrana remanescente, abdome, pernas e canelas. Em cada uma dessas variáveis foram obtidos escores que após somados classificaram as aves em: 4 - ótimo (100 pontos); 3 - bom (entre 80 a 99 pontos); 2 - médio (entre 50 a 79 pontos) e os que somaram 49 pontos, ou menos, foram classificados como fracos (1), conforme metodologia descrita por Tona et al. (2003) (Tabela 1). Vale ressaltar que a realização desse estudo foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisa envolvendo experimentação animal (CEPEEA), protocolo 40144/2023.

Além disso, também foram avaliados os parâmetros produtivos por meio da determinação do percentual de eclosão total, percentual de eclosão sobre os férteis e relação peso do pintainho/peso do ovo. A eclosão total foi avaliada por meio da relação entre o número de pintainhos eclodidos e o número de ovos incubados. A eclosão sobre os férteis foi calculada por meio da relação entre o número de ovos eclodidos e o número de ovos férteis incubados.

Tabela 1
Classificações em scores de qualidade de pintainhos neonatos.

Variável	Definição	Característica	Escore
Atividade	Verificada quando se coloca o pintainho de costas. Um rápido retorno a posição em pé é definido como boa. Quando permanecer deitado, é definido como fraco.	Bom	16
		Médio	8
		Fraco	0
Penugem	A aparência deve ser limpa e seca. Quando estiver úmida e suja, ou ambos são cotados como ruins.	Limpa e seca	12
		Limpa e úmida	6
		Suja e úmida	0
Olhos	Coloca-se o pintainho em pé e observam-se seus olhos, o brilho e a extensão que ocupa a pálpebra sobre o olho.	Abertos e brilhantes	10
		Abertos e sem brilho	5
		Fechados	0
Umbigo	Examina-se a área do umbigo e ao redor dele, verificando-se o seu fechamento e sua cor. Quando a cor for diferente da cor da pele, registra-se como de má qualidade.	Fechado e limpo	12
		Não completamente fechado, coloração normal	6
		Não fechado e coloração normal	0
Membrana remanescente	No umbigo, avalia-se o tamanho de uma possível membrana remanescente. O tamanho será classificado como: muito grande, grande ou pequeno.	Sem membrana	12
		Pequena	6
		Grande	0
Abdome	Examina-se o abdome do pintainho visualmente. Quando estiver grande (balofó) é classificado como ruim.	Normal	12
		Médio	6
		Distendido	0
Pernas	O pintainho é colocado em pé para determinar se permanece firme nessa posição. A conformação dos dedos e articulação do joelho são examinadas.	Pernas/dedos e articulações normais	10
		Uma perna/dedos e articulações afetadas	5
		Duas pernas/dedos e articulações afetadas	0
Canelas	Observa-se o brilho e a cor da canela. A normal deve ser avermelhada e brilhante.	Brilhante, avermelhada	16
		Brilhante, pálida	8
		Opaca, pálida	0

Fonte: Adaptado de Tona *et al.* (2003)

Análise estatística

Foi realizado análise descritiva dos dados por meio da determinação da média e erro padrão da média da contagem de mesófilos aeróbios e fungos. Os resultados da contagem foram transformados em Log_{10} e analisados em relação à normalidade (*Lilliefors*) e homogeneidade de variância (*Levene*). Atendendo as premissas, diferenças entre os tratamentos foram comparados por meio do teste T para amostras independentes. Foi feita a estatística descritiva das variáveis qualitativas relacionadas à qualidade dos pintainhos (frequência absoluta e relativa %) e inferencial dos resultados de escore por meio do teste U de *Mann-Whitney*. Para todos os testes foram considerados nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no programa estatístico Bioestat 5.3 (Ayres *et al.*, 2007).

Resultados e Discussão

Os resultados dos ovos de ninhos de matrizes de frangos de corte coletados apontaram não haver diferença ($P > 0,05$) na contagem de mesófilos aeróbios para ambos os matrizeiros, quando comparado o grupo controle com o tratamento, porém em relação a contagem de fungos dos ovos oriundos do matrizeiro “1” verificou-se maior ($P < 0,05$) contagem para o tratamento teste (Tabela 2).

Tabela 2

Média \pm erro padrão (Log_{10}) de contagem de mesófilos aeróbios e fungos de ovos de ninhos desinfetados ou não com óleo essencial de *G. integrifolia*.

Matrizeiro	Contagem	Tratamentos		Valor de P
		Controle	Teste	
1	Mesófilos aeróbios	2,95 \pm 0,12	2,92 \pm 0,10	0,8992
	Bolores e leveduras	3,54 \pm 0,05 ^b	3,78 \pm 0,07 ^a	0,0111
2	Mesófilos aeróbios	3,51 \pm 0,07	3,42 \pm 0,07	0,3810
	Bolores e leveduras	1,46 \pm 0,19	1,74 \pm 0,15	0,2691

* Teste T para duas amostras independentes

A contagem de mesófilos em valores elevados são fortes indicativos de baixas condições higiênicas e possíveis contaminações (Morton, 2001), visto que os microrganismos considerados como mesófilos aeróbios pertencem a um grupo de agentes que possuem capacidade de desenvolvimento na presença de oxigênio em temperaturas que variam de 15°C a 45° C (Silva *et al.*, 2020).

No estudo de Aguilar (2023), realizado com ovos comerciais para determinar a qualidade microbiológica de ovos caipiras e inspecionados, a contagem média de mesófilos aeróbios em ovos de galinha caipira foi de $4,5 \times 10^7$ UFC/mL de água peptonada tamponada 1% ($7,65 \log_{10}$); já em ovos inspecionados foi de $2,9 \times 10^8$ UFC/mL de água peptonada tamponada 1% ($8,46 \log_{10}$). Em outro estudo realizado por Costa (2022) no qual foi avaliado a contaminação microbiológica de ovos de matrizes de frango de corte, os ovos de ninhos apresentaram contagem de bactérias mesófilas aeróbicas de $3,93 \log_{10}$ UFC por mL e os ovos de cama $6,51 \log_{10}$ UFC mL, valores esses próximos ao encontrado no presente trabalho para os ovos de ninho.

Uma das práticas realizadas que visa reduzir a carga microbiana é a sanitização dos ovos incubáveis, realizada antes da incubação, utilizando de métodos como a fumigação, aspersão ou imersão, com agentes químicos (Cony *et al.*, 2008). Dentre esses métodos, a fumigação com formaldeído é a prática mais utilizada, em função do formaldeído ser um excelente agente antimicrobiano, mas que oferece sérios riscos à saúde de quem manipula, por ser um gás tóxico e carcinogênico, além de poder danificar as membranas mucosas, causar irritação ocular e cutânea e problemas respiratórios (Cadirci, 2009). No estudo conduzido por Clímaco (2018), a fumigação de ovos com paraformaldeído, na concentração de 13,33 g/m³ durante 20 minutos, promoveu uma expressiva redução na carga microbiana. A contagem de bactérias mesófilas aeróbias totais, inicialmente de $3,42 \log_{10}$ UFC/mL, foi reduzida para $1,10 \log_{10}$ UFC/mL após o tratamento, evidenciando a eficácia do procedimento na descontaminação da casca dos ovos.

No entanto, é importante destacar que, de acordo com os resultados do estudo de Freitas (2007), a utilização do gás formaldeído durante o processo de eclosão pode causar alterações ultra e microestruturais na traquéia e pulmões de pintainhos de corte, sendo também evidenciado por Cadirci (2009), que relata que embora o formaldeído não possua poder residual prolongado, pode causar a morte do embrião, se a fumigação for realizada de maneira incorreta em altas concentrações. Esses resultados vão de encontro com os resultados obtidos por Moustafa (2004), onde a fumigação em elevada concentração apresentou redução completa da contagem bacteriana da casca dos ovos 24 horas após a fumigação, entretanto, observou-se também uma maior percentagem de refugos na primeira semana de vida dos pintainhos, devido sua ação tóxica. Todavia ressalta-se que no presente trabalho a avaliação da ação do óleo essencial foi feita após 20 minutos da aspersão do produto, podendo justificar a diferença na ação observada por Moustafa (2004) que avaliou 24 horas após a fumigação. Outro ponto de relevância é que a redução completa da contagem bacteriana com o uso do formaldeído em altas concentrações comprova sua ação esterilizante, o que difere do potencial de ação desinfetante encontrada nos óleos essenciais por serem produtos distintos. Além disso, existe diferença entre fumigação e aspersão, visto que o formaldeído é um gás, sendo esses mais ativos e com maior poder de ação sobre a área onde encontra-se.

O uso de óleos essenciais diluídos em solventes tem contribuído para redução dos agentes químicos utilizados na sanitização dos ovos (Oliveira; Santos, 2018). Em especial o óleo essencial de *G. integrifolia* (Sprengel) Harms, que segundo Fraga *et al.* (2006), apresenta concentrações de substâncias com potencial antimicrobiano, demonstrando a importância do estudo das espécies do gênero *Gallesia* (pau-d'álho). Todavia, no presente trabalho não foi possível evidenciar diferença significativa na redução da contagem de mesófilos aeróbios com o uso do óleo essencial do fruto de *G. integrifolia*.

Embora não se tenha verificado uma redução de mesófilos aeróbios e fungos após a aspersão do óleo essencial no presente estudo, vale pontuar que em um estudo de Arunachalam *et al.* (2016), o extrato hidroetanólico da casca interna do caule de *G. integrifolia* apresentou amplo efeito bacteriostático principalmente em bactérias Gram-negativas, apontando assim, propriedade antimicrobiana em outras partes da planta conforme o método de extração utilizado.

Os fungos de maior importância na avicultura são os do gênero *Aspergillus*, principalmente o *Aspergillus flavus* e *A. fumigatus*, por serem encontrados nos materiais de cama e ambiente de aviários assim como também como contaminante dos ovos. Sua importância se dá devido ao quadro de complicação respiratória nas aves quando os esporos são inalados, desenvolvendo a forma respiratória da aspergilose, que pode significar altas perdas econômicas por mortalidade elevada em pintainhos recém nascidos oriundos de ovos contaminados Tessari *et al.* (2024).

Em trabalho desenvolvido por Raimundo *et al.* (2021), os autores verificaram uma elevada atividade antifúngica e importância medicinal do óleo de *G. integrifolia*. Além disso, Raimundo *et al.* (2018), em um estudo acerca da atividade fungicida do fruto de *G. integrifolia in vitro*, verificaram

que sua ação variou entre 0,02 e 0,18 mg/mL em fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*, e quando comparado a outros compostos fungicidas, como cetoconazol e bifanazol, onde as concentrações variaram de 0,20 a 3,50 mg/mL, comprovando que a menor concentração do óleo essencial foi capaz de controlar *A. fumigatus*. Quando comparado com o presente estudo, no qual foi utilizado a desinfecção pelo método de aspersão sobre a casca de ovos incubáveis com o óleo essencial de *G. integrifolia* em uma concentração maior, ou seja, 0,44mg/mL, não foi possível detectar diferenças na redução da contagem de bolores e leveduras, nos ovos obtidos do matrizeiro 2 (Tabela 2). Entretanto, essa diferença nos resultados apresentados pode ser devido ao fato de no presente estudo o mesmo ter sido feito em condições à campo (*ex vitro*), diferindo do estudo de Raimundo *et al.* (2018) os quais o fizeram em um ambiente controlado (*in vitro*) e com cepa ATCC.

Na avaliação dos parâmetros de qualidade dos pintainhos, em ambos os matrizeiros as classificações apontaram que a maioria dos pintainhos nascidos foram de boa qualidade tanto no grupo controle quanto no teste, sendo assim a média dos escores de qualidade não demonstrou diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos, bem como nos parâmetros de peso do ovo e peso do pintainho (Tabela 3).

Tabela 3

Média \pm erro padrão dos parâmetros peso ovo (g), peso pintainho (g) e escore de qualidade de pintainhos oriundos de ovos de ninhos desinfetados ou não com óleo essencial de *G. integrifolia*.

Matrizeiro	Parâmetros	Tratamentos		Valor P
		Controle	Teste	
1	Peso ovo (g)	62,7 \pm 0,52	62,6 \pm 0,40	0,9719*
	Peso pintainho (g)	45,1 \pm 0,43	44,7 \pm 0,31	0,5587*
	Escore de qualidade pintainhos	3,0 \pm 0,04	3,1 \pm 0,06	0,6207**
2	Peso ovo (g)	63,8 \pm 0,31	64,3 \pm 0,46	0,4013*
	Peso pintainho (g)	44,2 \pm 0,32	44,3 \pm 0,40	0,8701*
	Escore de qualidade pintainho	3,2 \pm 0,10	3,3 \pm 0,10	0,6207**

*Teste T para duas amostras independentes

**Teste U de *Mann-Whitney*

Diante desses resultados e considerando que os níveis de contaminação dos ovos incubados estão associados com a qualidade dos pintainhos, no presente trabalho verificou-se que nos ovos eclodidos do grupo tratamento mais pintainhos foram classificados como de ótima qualidade, podendo talvez justificar um efeito positivo do óleo essencial (Figura 1).

SCORES DE QUALIDADE DOS PINTAINHOS

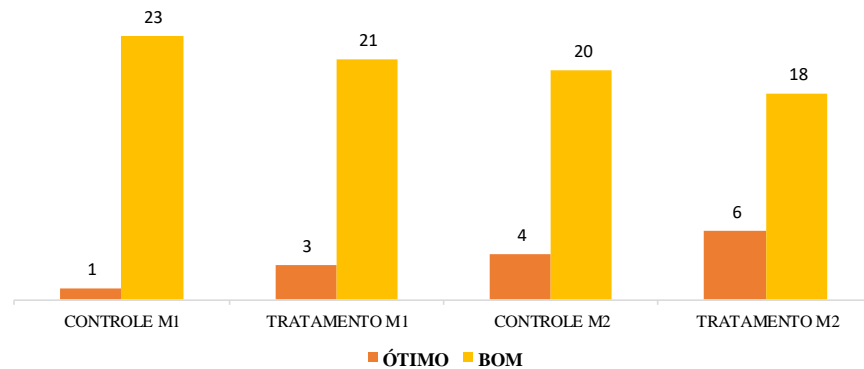


Figura 1. Qualidade dos pintainhos ao nascimento classificados por escores em função dos tratamentos e origem (matrizeiros).

M1 – Matrizeiro 1; M2 – Matrizeiro 2.

A ação citotóxica em células VERO (células epiteliais renais de macaco verde africano) do óleo essencial dos frutos de *G. integrifolia* foram avaliados no trabalho de Silva *et al.* (2023), os quais verificaram um valor de GI_{50} (concentração necessária para inibir em 50% a proliferação celular) de 226 $\mu\text{g/mL}$. Para avaliar se esse valor indica toxicidade, é importante compará-lo com a literatura. De acordo com o estudo de Rogero *et al.* (2003), realizado com biomateriais, valores de IC_{50} (concentração de uma substância que inibe 50% de uma determinada atividade biológica) superiores a 100 $\mu\text{g/mL}$ foram classificados como não tóxicos para células VERO, sendo, portanto, aceitos como seguros para aplicações biológicas. Assim, o valor encontrado para o óleo do fruto está acima desse valor, sugerindo que ele apresenta baixa citotoxicidade. Isso demonstra que o mesmo pode ser utilizado na desinfecção de ovos incubáveis, sem que isso afete a viabilidade dos pintainhos.

Em trabalho de Andrade (2018), na desinfecção de ovos com óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*), os escores de classificação de qualidade dos pintainhos de modo geral foram semelhantes ao encontrado no presente trabalho, no entanto, nenhum atingiu 100 pontos de escore, ficando classificados como médios e bons. Dentre as médias de escores de qualidade dos pintainhos nascidos obtidos no trabalho de Andrade (2018), o tratamento realizado na concentração de 800 μL de óleo essencial de *C. winterianus*, embora tenha apresentado redução significativa dos fungos das cascas dos ovos, apresentou menor pontuação média (75,71), diferindo do presente trabalho, onde a média dos escores de qualidade nos tratamentos foram maiores, assim como não foram classificados pintainhos de média qualidade ficando todos classificados como bom e ótimos (Tabela 4).

Outros parâmetros produtivos, ou seja, de eclosão total, eclosão sobre os férteis e relação peso do pintainho e peso do ovo, também não demonstraram diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos nos dois matrizeiros coletados (Tabela 4).

Tabela 4

Média ± erro padrão dos parâmetros de eclosão total, eclosão sobre os férteis e relação peso pintainho/peso ovo.

Matrizeiro	Parâmetros	Tratamentos		Valor P
		Controle	Teste	
1	Eclosão total %	95,83±1,94	93,75±2,17	0,7728*
	Eclosão sobre os férteis %	98,96±1,04	97,92±1,44	0,8046*
	Relação peso pintainho/peso ovo	71,91±0,29	71,43±0,16	0,1603**
2	Eclosão total %	87,5±3,40	87,5±3,00	0,9015*
	Eclosão sobre os férteis %	90,6±3,30	89,6±3,00	0,7029*
	Relação peso pintainho/peso ovo	69,33±0,33	68,94±0,27	0,3732**

* Teste U de *Mann-Whitney*

** Teste T para duas amostras independentes

Um dos principais objetivos do sistema de produção de frangos de corte é a alta produtividade e consequente rentabilidade, para isso é necessário alto rendimentos de incubação e o nascimento de pintainhos de ótima qualidade (Melo, 2019). No entanto, a contaminação do ovo fértil por micro-organismos após a postura é capaz de afetar negativamente o sucesso desse processo, visto que os micro-organismos podem penetrar o ovo fértil e contaminar não somente um único embrião, mas diversos outros durante o processo de incubação, comprometendo assim a eclodibilidade (Wells *et al.*, 2011).

No estudo desenvolvido por Oliveira (2021) a contagem de bactérias mesófilas aeróbicas totais foi significativamente menor após a pulverização com óleo essencial de cravo-da-índia diluído em álcool de cereais a uma concentração de 0,39%, sobre a casca dos ovos em relação aos ovos não higienizados, diferindo significativamente também na eclosão total e a eclosão sobre os férteis dos grupos tratamentos que apresentaram média de 70,81 e 84,69 respectivamente comparados com as médias de 61,63 e 74,03 dos grupos não higienizados, comprovando o efeito bactericida do óleo essencial de cravo-da-índia.

Embora o óleo essencial do fruto de *G. integrifolia*, não tenha demonstrado redução de bactérias mesófilas aeróbicas e fungos, não foi observado alterações nos percentuais de eclosão total, eclosão sobre os férteis e relação peso pintainho/peso ovo entre os grupos tratamento e controle. Salienta-se ainda que no presente trabalho, foram obtidos ovos férteis de matrizes de frangos de corte postos nos ninhos sem uma avaliação prévia de qual seria a contaminação inicial de cada um dos ovos, sendo por isso, aumentado o número de repetições para que pudesse ser comparado a eficácia do tratamento.

Além disso, considerando que a proposta da pesquisa em utilizar biomoléculas com ação antimicrobiana na desinfecção dos ovos vem de encontro aos objetivos do desenvolvimento sustentável ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), ODS 3 (Saúde e Bem-Estar) e ODS 12 (Consumo e Produção Sustentáveis), propondo a inserção de biocidas menos agressivos ao homem,

aves e meio ambiente. Com essa pesquisa abre-se novas perspectivas para testes de outros óleos essenciais e extratos de diferentes espécies de plantas que possam ser comercialmente viáveis.

Conclusão

A aspersão do óleo essencial do fruto da *G. integrifolia* na concentração de 0,44 mg/mL não interferiu nos parâmetros de produção e qualidade dos pintainhos, todavia não reduziu a contaminação bacteriana e fúngica de ovos incubáveis de ninho. Dessa forma, mais estudos se fazem necessários na busca de outros métodos para melhor avaliar sua eficácia, segurança e a viabilidade econômica, além de estabelecer outros protocolos para obtenção de resultados mais consistentes.

Referências

- Associação Brasileira de Proteína Animal (2024). *Relatório anual ABPA 2024*. ABPA. https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2024/08/ABPA-Relatorio-Anual-2024_capa_frango.pdf.
- Aguilar, N. T. (2023). *Qualidade, Segurança Microbiológica e Comparação da Recuperação de Salmonella spp. da Casca e Gema de Ovos Caipiras e Inspeccionados*. [Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, TO, Brasil].
- Andrade, M. (2018). *Avaliação do óleo essencial de citronella (Cymbopogon winterianus) como agente alternativo na desinfecção de ovos incubáveis*. [Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Brasil].
- Anwara, A., Burkholza, T., Scherera, C., Abbasa, M., Leher, C. M., Diederich, M., & Jacob, C. (2008). Naturally occurring reactive sulfur species, their activity against Caco2 cells, and possible modes of biochemical action. *Journal of Sulfur Chemistry*, 29, 251-268.
- Ayres, M., Ayres Jr, M., Ayres, D. L., & Santos, A. A. S. (2007). *Bioestat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. (pp. 364).
- Cadirci, S. (2009). Disinfection of hatching eggs by formaldehyde fumigation - a review. *Archiv für Geflügelkunde*, 73, 116-123.
- Clímaco W. L. S, Rossi D. A., Nascimento F. B., Santos L. R., Alvarenga R. R., Oliveira D. D. Eggshell microbiology and quality of hatching eggs subjected to different sanitizing procedures. *Pesq Agropec Bras*. 2018;53:1177-83.
- Costa, B. T. A., Lopes, T. S. B., Sousa, L. S., Barbosa, H. J. S., Ferreira, T. G., Franco, C. M. A., Freitas Neto, O. C., Lara, L. J. C., & Araújo, I. C. S. (2022). Floor eggs: Hatchability,

microbiological analysis, and effects of post-hatch use of ceftiofur on performance of broiler chicks. *Research in Veterinary Science*, 1-8.

Ferreira, A. R. A. (2014). *Uso de óleos essenciais como agentes terapêuticos*. [Dissertação de mestrado, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal].

Fraga, H. F., Rosa, P. M., Morais, A. A., Pinto, A. C., & Rezende, C. M. (2006). Análise dos constituintes químicos do óleo essencial das folhas de *Gallesia integrifolia* (Sprengel) Harms (Phytolaccaceae). *XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia – São Paulo.

Freitas, A. G. (2007). *Efeito da Fumigação de Nascedouros com Formaldeído sobre o Trato Respiratório e Desempenho de Frangos de Corte*. [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil].

Lauvers, G., Ferreira, V. P. A., & Araújo, P. (2011). Fatores que afetam a qualidade dos pintos de um dia, desde a incubação até recebimento na granja. *Revista científica eletrônica de medicina Veterinária*, 9(16), 1-19.

Melo, E. F., Clímaco, W. L. S., Triginelli, M. V., Vaz, D. P., de Souza, M. R., Baião, N. C., Pompeu, M. A., & Lara, L. J. C. (2019). An evaluation of alternative methods for sanitizing hatching eggs. *Poultry Science*, 98, 1-8.

Morais, L. A. S. (2009). Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 27, 3299-3302.

Morton, R. D. (2001). Aerobic Plate Count. In: Vanderzant, C., & Splitstoesser, D. F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington: American Public Health Association (APHA) (4ed, pp. 63-67).

Moustafa, G. Z. (2004). Effect of sanitation on the microbial load and hatchability of broiler breeder eggs. *Veterinary Medical Journal*, 52(4), 875-887.

Nogueira, W. C. L., Pena, A. C. S., Souza, C. N., Azevedo, I. L., Fariafilho, D. E., & Almeida, A. C. (2019). Disinfection of fertile eggs of free-range poultry with essential oils. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 20, e0822019.

Oliveira, G. S. (2021). *Sanitização de Ovos Incubáveis com Óleo essencial de Cravo-Da-Índia*. [Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil].

- Pinto, D. K. B., Ferreira, J. V., Ribeiro, E. C., & Firmo, W. D. C. A. (2024). Estudo farmacobotânico e fitoquímico das folhas de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms coletadas em São Luís, Maranhão. *Revista Gestão Social e Ambiental*, 18(10), 1-15.
- Raimundo, K. F., Bortolucci, W. C., Rahal, I. L., Oliveira, H. L. M., Júnior, R. P., Campo, C. F. A. A., Gonçalves, J. E., Linde, G. A., Colauto, N.B., & Gazim, Z. C. (2021). Insecticidal activity of *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) essential oil. *Boletim Latinoamericano y Del Caribe De Plantas Medicinales y Aromáticas*, 20, 38-50.
- Raimundo, K. F., Silva, M. D., Costa, A. M., & Oliveira, L. T. (2018). Antifungal activity of *Gallesia integrifolia* fruit essential oil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(suppl 1), 229-235.
- Rogero S.O, Lugão A.B, Ikeda T.I, Cruz A.S. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. *Mater Res*. 2003;6(3):317-320.
- Tessari, E. N. C., Cardoso, A. L. S. P., Castro, A. G. M., Kanashiro, A. M. I., & Zanatta, G. F. (2024). Prevalência de aspergilose pulmonar em pintos de um dia de idade. *Arquivos do Instituto Biológico*, 71, 75-77.
- Silva, G. C. C., Machado, M. d. A., Sakumoto, K., Inumaro, R. S., Gonçalves, J. E., Mandim, F., Vaz, J., do Valle, J. S., Faria, M. G. I., Ruiz, S. P., et al. (2023). Cellular antioxidant, anti-inflammatory, and antiproliferative activities from the flowers, leaves and fruits of *Gallesia integrifolia* Spreng Harms. *Molecules*, 28(14), 5406.
- Silva, M. V., Raimundo, I. T., Falcochio, M. C., & Souza, B. M. S. (2020). Dinâmica da carga microbiana de uma unidade de beneficiamento de carne e produtos cárneos. *Ars Veterinaria*, 36, 72-77.
- Schmidt, N. S., & Silva, C. L. da. (2018). Pesquisa e desenvolvimento na cadeia produtiva de frangos de corte no Brasil. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, 56(3), 467–482.
- Tona, K., Bamelis, F., Ketelaere, B., Bruggeman, V., Moraes, V. M. B., Buyse J., Onagbesan, O., & Decuypere, E. (2003). Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poultry science*, 82(5), 736-741.
- Wells, J.B., Coufal, C. D., Parker, H. M., Kiess, A. S., Purswell, J. L., Young, K. M., McDaniel, C.D. (2011). Hatchability of broiler breeder eggs following eggshell sanitization by repeated treatment with a combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide. *International Journal of Poultry Science*, 10(6), 421–425.

3. CONCLUSÃO

A desinfecção da casca de ovos promovida pelo método de aspersão do óleo essencial do fruto da *G. integrifolia* na concentração de 0,44 mg/mL não reduziu a contagem de mesófilos aeróbios e fungos. Por outro lado, também não afetou a qualidade dos pintainhos nascidos. A desinfecção de ovos incubáveis com o uso de produtos naturais, como os óleos essenciais tem demonstrado ser uma alternativa mais sustentável em comparação com desinfetantes químicos utilizados, sendo assim, outros estudos são indispensáveis na busca de produtos naturais alternativos eficientes na redução de microrganismos da casca de ovos. Sendo importante salientar que diante dos resultados de estudos já promovidos com a espécie *Gallesia*, novas pesquisas desenvolvidas poderiam indicar resultados mais consistentes com o uso de outras partes da planta ou outros métodos de aplicação.

4 ANEXOS

ANEXO 1 - Normas da Revista Semina: Ciências Agrárias

Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.

Os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente **traduzidos para o inglês**.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores (ou equivalente. Se for o caso, solicitar autorização a este Comitê Editorial, informando o nome da empresa, CNPJ e justificativa):

[American Journal Experts](#)

[Editage](#)

<https://www.researchsquare.com/researchers/editing>

[Elsevier](#)

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

<http://www.stta.com.br/>

<https://www.traduzoo.com/>

Traduciência

www.traduciencia.com.br

O autor principal deverá anexar no sistema o **documento comprobatório** dessa correção na página de submissão em “**Docs. Sup.**”

OBSERVAÇÕES:

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias, é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi executado obedecendo às normas técnicas de biossegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

3) O autor deverá informar se utilizou IA generativa para escrever este manuscrito. Generative AI não é um autor. Essas ferramentas devem ser usadas apenas para melhorar a linguagem e a legibilidade, com cautela. Se você usou IA generativa ou tecnologia assistida por IA, inclua a [declaração](#) de uso de IA como documento suplementar. Esta declaração será publicada no PDF.

NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação;
- b) Não tenha sido realizado o cadastro completo de todos os autores nos metadados de submissão; Exemplo: Nome completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Titulação/função

- c) Não tenha sido incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas;
- d) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar “Docs. Sup.” no ato da submissão;
- e) Que não tenham sido aprovados pelo Comitê de Ética Animal ou Humana (se for o caso).
- f) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: Aprovação do Comitê de Ética Animal ou Humana (se for o caso), gráficos, figuras, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL. (Formato JPEG; TIFF; EXCEL)
- g) Não constem no artigo original: título, 3 à 5 pontos (Highlights), resumo e palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.
- h) Deve ser incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR a indicação de três possíveis revisores doutores para o manuscrito com NOME, INSTITUIÇÃO, e E-MAIL.
- i) Manuscritos que contenham mais de dez autores.
- j) Os dados tenham sido publicados parcial ou integralmente em boletins institucionais, revistas técnicas, comunicados técnicos, páginas de internet ou notas científicas. Poderão ser aceitos manuscritos que tenham sido divulgados em eventos científicos na modalidade de resumo ou resumo expandido (até 04 folhas).
- k) Os dados e informações foram obtidos através de inquérito por questionários, formulários ou enquetes de qualquer natureza.

RESTRICÇÃO POR ÁREA:

PARA A ÁREA DE AGRONOMIA NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- a) Os experimentos com cultura in vitro sejam limitados ao melhoramento dos protocolos já padronizados ou que não forneçam novas informações na área;
- b) Os experimentos de campo não incluam dados de pelo menos dois anos ou de várias localidades dentro do mesmo ano;

- c) Os experimentos se refiram apenas a testes sobre a eficiência de produtos comerciais contra agentes bióticos, abióticos ou estresses fisiológicos;
- d) Envolvam apenas bioensaios (screening) de eficácia de métodos de controle de insetos, ácaros ou doenças de plantas, exceto se contiverem contribuição importante sobre mecanismos de ação numa perspectiva de fronteira do conhecimento;
- e) O objetivo seja limitado a registrar a ocorrência de espécies de pragas ou patógenos ou associações entre hospedeiros em novas localidades dentro de regiões geográficas onde eles já sejam conhecidos. Registros de espécies ou associações conhecidas só serão considerados em novas zonas ecológicas. Os registros de distribuição devem se basear em ecossistemas, e não em fronteiras políticas.

PARA A ÁREA DE ZOOTECNIA NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- As referências bibliográficas sejam muito antigas.

Somente serão aceitas referências antigas em Material e Métodos. Não utilizar resumos simples ou expandidos e trabalhos em anais de eventos como referências. Teses, dissertações e monografias somente serão aceitas dos últimos três anos, se não tiverem sido publicados como artigos científicos em periódico.

- Não tenham realizados análises estatísticas adequadas.

- Não incluam dados do período completo de produção em experimentos em avicultura (frangos de corte e poedeiras).

- Experimento de campo ou laboratorial apresentem resultados de baixo impacto científico.

- Apresentem levantamentos locais (cidade, região, abatedouro específico, granja, etc.) de dados de manejo, alimentação, saúde, entre outros, de baixo impacto científico.

Categorias dos Trabalhos

a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;

b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;

c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

FIGURAS: Em APA, deve-se utilizar apenas tabelas e figuras. Sendo consideradas como figuras: gráficos, fotografias, mapas, organogramas e retratos. A identificação das figuras deve aparecer na **parte inferior**, precedida da palavra designativa, seguida de seu número de ordem de ocorrência no texto

TABELA: O título de tabela precisa ser breve, claro e explicativo. Ele deve ser colocado **acima da tabela**, no canto superior esquerdo, e logo abaixo da palavra Tabela (com a inicial maiúscula), acompanhada do número que a designa.

OBS. Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras **não forem do autor**.

PREPARAÇÃO DOS MANUSCRITOS

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; **3 à 5 pontos principais (Highlights)**; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; “Resultados e Discussão” ou “Resultados” e “Discussão”; Conclusões; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro

dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos... Áreas de estudo...1. Área rural...2. Área urbana**).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. TÍTULO DO TRABALHO: acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. ADICIONAR 3 à 5 PONTOS PRINCIPAIS (Highlights): Consiste de 3 à 5 pontos principais do artigo que permite ao leitor uma visão dos principais resultados do manuscrito. Cada "Highlight" deve conter no máximo 85 caracteres incluindo espaçamentos.

3. RESUMO E PALAVRAS-CHAVE: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

4. INTRODUÇÃO

Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO ou "RESULTADOS e DISCUSSÃO"

Os resultados e a discussão poderão ser apresentados juntos (Capítulo único "Resultados e Discussão") ou separados (Capítulo de "Resultados" e Capítulo de "Discussão"), sendo opcional para os autores.

Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.

7. CONCLUSÕES

Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

8. AGRADECIMENTOS

As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Deverão ser inseridas no final do artigo, um em cada página, após as referências. Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: Deverão ser inseridas no final do artigo, um em cada página, após as referências. As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹ ou gL⁻¹.
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

9. CITAÇÕES

Informações não contempladas nestas diretrizes, consultar o [Manual APA 7ª ed.](#)

Ou [Apostila da Biblioteca Central UEL](#)

Quando nas citações, os autores estiverem fora dos parênteses, utilizar sempre “e” (português); “and” (inglês) e “y” (espanhol); para separar o penúltimo do último autor citado. O “&” é inserido sempre entre o penúltimo e último autor quando citados entre parênteses e nas referências.

Citação:

Dois Autores

Almeida e Parisi (2020, p. 379) ou (Almeida & Parisi, 2020, pp. 372-373)

Três ou mais autores

Lopes et al. (2021) ou (Lopes et al., 2021).

Exemplo: modelo de citação com um, seis ou mais autores

Figura 1

Estilo de citação no texto

Tipo de Citação	1ª citação fora do parêntese	Citações subsequentes	1ª citação dentro do parênteses	Citações subsequentes
1-2 autores	Mínosso e Toso (2019	Mínosso e Toso (2019)	(Mínosso & Toso, 2019)	(Mínosso & Toso, 2019)
3 ou mais autores	Werner et al. (2017)	Werner et al. (2017)	(Werner et al., 2017)	(Werner et al., 2017)
Autor entidade / individual	Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia (IBICT) (2018)	IBICT (2018)	(Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia [IBICT], 2018)	(IBICT, 2018)
Organização	Simply	Simply	(Simply	(Simply

sem abreviatura	Cats (2019)	Cats (2019)	Cats, 2019)	Cats, 2019)
----------------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

Citação direta com supressão de parte do texto: Use reticências com cada ponto separado por espaço para indicar que o texto foi suprimido. Quando a supressão for entre duas frases, utilize quatro pontos separados por espaço.

Exemplo:

“Ao centrar-se sobre esses aspectos, da forma como o fazem, os textos privilegiam uma determinada visão de profissional, . . . calcada na análise ocupacional, e que carece de individualidade, singularidade e vida.” (Ferretti, 1997, p. 58).

“O novo conhecimento começa sempre com o indivíduo. . . . Tornar o conhecimento pessoal disponível para outros é a atividade central da empresa criadora de conhecimento.” (Nonaka, pp. 41-42)

Para incluir um acréscimo ou explicação na citação, use **colchetes**.

Exemplo:

“They are studying, from an evolutionary perspective, to what extent [children’s] play is a luxury that can be dispensed with when there are too many other competing claims on the growing brain . . .” (Hening, 2008, p. 40).

Diversos documentos do mesmo autor, publicados num mesmo ano

Exemplo: (Porter, 1999a, 1999b, 1999c)

Citação de um mesmo autor com várias datas de publicação

Para citação do mesmo autor com várias datas de publicação, segue-se a ordem cronológica crescente.

Exemplo: Segundo Porter (1986, 1991, 1999, 2000)

Citação de diversos autores com o mesmo sobrenome

Devem ser incluídas as iniciais do primeiro autor em todas as citações do texto, mesmo que o ano de publicação seja diferente.

Exemplo: R. O. Silva (2010) e P. A. Silva (2016) afirmam que.....

10. REFERÊNCIAS:

Informações não contempladas nestas diretrizes, consultar o [Manual APA 7ª ed.](#)

Ou [Apostila da Biblioteca Central UEL](#)

Deverão ser listadas em ordem alfabética no final do artigo. Ter a segunda linha da referência recuada na quarta letra e alinhadas à esquerda.

OBS: TODAS AS REFERÊNCIAS DEVERÃO CONSTAR O NÚMERO DO DOI QUANDO HOVER.

Nas referências indique até **20 autores** separando o penúltimo autor com **&** antes do nome do autor final. Quando houver **21 ou mais autores**, inclua os 19 primeiros e insira reticências, em seguida inclua o último autor.

Exemplo 20 autores:

Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N.,
Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P.,
Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N.,
Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., & Sobrenome, P. P.

Exemplo 21 ou mais autores

Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N.,
Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P.,
Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N.,
Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., Sobrenome, P. P., Sobrenome, N., ... Sobrenome, P.

Exemplos de Referências:

Artigos:

Berndt, T. J. (2002). Friendship quality and social development. *Current Directions in Psychological Science*, 11,7-10.

Adair, J. G., & Vohra, N. (2003). The explosion of knowledge, references, and citations: Psychology's unique response to a crisis *American Psychologist*, 58(1),15–23. doi: 10.1037/0003-066X.58.1.15

Artigos Eletrônicos:

Santos, C. P., & Fernandes, D. H. von der (2007). A recuperação de serviços e seu efeito na confiança e lealdade do cliente. *RAC- Eletrônica*, 1(3), 35-51.

<http://anpad.org.br/periodicos/base>

Livros

Kashdan, T., & Biswas-Diener, R. (2014). *The upside of your dark side*. Hudson Street Press.

Capítulo de Livros

Nonaka, I. (2008). A empresa criadora de conhecimento. In H. Takeuchi, & I. Nonaka (Orgs.), *Gestão do conhecimento* (Cap. 2, pp. 39-53). Bookman

Capítulo de livro (eletrônico)

Shuhua, L. (2007). The Night of Midautumn Festival. In J. S. M. Lau & H. Goldblatt (Eds.), *The Columbia Anthology of Modern Chinese Literatur* (pp. 95-102). Columbia University Press. <https://www.worldcat.org/title/columbia-anthology-of-modern-chinese-literature/oclc/>

Anais/Proceedings

Leite, B. M. B. (2012, Setembro 3-6). Mezinhas Antigas e Modernas: a invenção da Triaga Brasília pelos Jesuítas do Colégio da Bahia no Período Colonial. In Sociedade Brasileira de História da Ciência, *Anais eletrônicos [Anais]*. 13º Seminário Nacional de História da Ciência e da Tecnologia, São Paulo, Brasil.

Tese e dissertação

Leon, M. E. (1998). *Uma análise de redes de cooperação das pequenas e médias empresas do setor das telecomunicações* [Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil].

Ficht, N. (2020). *A informação e sua representação conceitual no domínio da arquivologia e da biblioteconomia no Brasil* [Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Londrina]. Biblioteca Digital. <http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000233096>

Documentos da Internet

Organização Pan-Americana da Saúde. (2020, Dezembro 9). *OMS revela principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo entre 2000 e 2019*.

<https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2020-oms-revela-principais-causas-morte-e-incapacidade-em-todo-mundo-entre-2000-e>

Ricardo, A. (2021, Dezembro 14). *Cansaço mental? Saiba o que fazer para o seu cérebro relaxar*. Metrôpoles. <https://www.metropoles.com/saude/cansaco-mental-saiba-o-que-fazer-para-o-seu-cerebro-relaxar>

Leis, decretos, portarias e documentos governamentais

Lei n. 11.638, de 28 de setembro de 2007. Altera e revoga dispositivos da Lei n. 6.404, de 15 de dezembro de 1976, e da Lei n. 6.385, de 7 de dezembro de 1976, e estende às sociedades de grande porte disposições relativas à elaboração e divulgação de demonstrações financeiras. http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2007-2010/2007/lei/111638.htm

Decreto Lei nº 238/98 de 1 de Agosto. *Diário da República nº 176/98 – I Série A*. Ministério do Ambiente. Lisboa.

Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. (1998). Brasília. http://www.planalto.gov.br/CCIVIL_03/Constituicao/Constitui%7Ao.htm

Portaria nº 809/90 de 10 de Setembro. *Diário da República nº 209/90 – I Série*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, da Saúde e do Ambiente e Recursos Naturais.

Ministério da Saúde (BR). (2004). *Sistema de monitoramento de indicadores Programa Nacional de DST e Aids*. <http://www.aids.gov.br/9>

ANEXO 2 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA).

**UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR**

Reconhecida pela Portaria - MEC Nº 1580, DE 09/11/93 - D.O.U. 10/11/93

Mantenedora: Universidade Paranaense - UNIPAR LTDA*Coordenadoria de Pós-Graduação - COPG***COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEPEEA)*****CERTIFICADO***

Certificamos que o projeto intitulado "AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE GALLESIA INTEGRIFOLIA (PHYTOLACCACEAE) FRENTE A BACTÉRIAS ISOLADAS DA CASCA DE OVOS INCUBÁVEIS DE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE ORIUNDOS DA CAMA E PARÂMETROS DE PRODUÇÃO DE PINTAINHOS DE UM DIA AO NASCIMENTO", protocolo 40144/2023, sob a responsabilidade de LUCIANA KAZUE OTUTUMI, - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº. 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Paranaense - UNIPAR em reunião realizada em 09/03/2023.

We hereby certify that the project "AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE GALLESIA INTEGRIFOLIA (PHYTOLACCACEAE) FRENTE A BACTÉRIAS ISOLADAS DA CASCA DE OVOS INCUBÁVEIS DE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE ORIUNDOS DA CAMA E PARÂMETROS DE PRODUÇÃO DE PINTAINHOS DE UM DIA AO NASCIMENTO", protocol n.40144/2023, under the responsibility of LUCIANA KAZUE OTUTUMI – involving production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (with the exception of Man), for scientific or teaching purposes – complies with Law n. 11,794, published on October 8, 2008, by Decree n. 6,899 of July 15, 2009, and with norms published by the Brazilian Council for the Control of Animal Experiments (CONCEA), and approved by the COMMITTEE FOR ETHICS IN THE USE OF ANIMALS (CEUA) of UNIPAR - Universidade Paranaense at the meeting held on 03/09/2023.

UMUARAMA - PR, 11/10/2024.

Salviano Tramontin Belettini
Presidente CEPEEA/UNIPAR

Registro Nº: 40144