










Leucograma de codornices de engorde inoculadas *in ovo* con ácido linoléico conjugado y ácido laurico

Andressa Silva-Santos^{1*} ; Sandra R. Freitas-Pinheiro¹ ; Gabriel Machado-Dallago¹ ;
Karynne L. Chaves-de-Paula¹ ; Thayssa de Oliveira Littiere¹ ; Alexandro Aluísio-Rocha¹ ;
Diana M. Correa-Castiblanco¹ 

¹Universidad Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Diamantina, Brasil.
*Correspondencia: andressa.s.ufvjm@gmail.com

Recibido: Diciembre 2020; Aceptado: Octubre 2021; Publicado: Diciembre 2021.

RESUMEN

Objetivo. Evaluar el leucograma de codornices de engorde inoculadas *in ovo* del ácido linoleico conjugado (CLA) y ácido laurico (AL) mientras están expuestas a un desafío sanitario. **Material y métodos.** El agua de bebida fue ofrecida siete días antes de la llegada de las codornices y solo fue reabastecida, durante toda la fase del experimento. Los tratamientos fueron distribuidos en 480 huevos fértiles, en el 7º día de incubación: Control negativo: sin perforación, control positivo: inyectado con diluyente (aceite de maíz; AM; CLA 120: 120 mg CLA/AM; CLA240: 240 mg CLA /AM; AL 60: 60 mg AL /AM y AL90: 90 mg AL /AM. Fue utilizado delineamiento completamente al azar con cuatro repeticiones. Los leucocitos totales y el conteo diferencial de leucocitos fueron evaluados a los 21 y 36 días de edad. **Resultados.** Las inoculaciones, no presentaron efecto significativo ($p > 0.05$) en los parámetros evaluados. Se observó una media de 10927.1 ± 2933.6 células/ μ l, $61.6 \pm 7.31\%$, $32.0 \pm 7.13\%$ e 0.57 ± 0.21 para conteo total de leucocitos, linfocitos, heterófilos y la relación heterófilos/linfocitos, respectivamente, a los 21 días. A los 36 días, observamos una media general de 13291.7 ± 3559.0 células/ μ l, $65.0 \pm 9.29\%$, $29.3 \pm 9.93\%$ y 0.50 ± 0.24 , para esas mismas variables, respectivamente. **Conclusiones.** Los niveles de inoculación *in ovo* de CLA e AL no afectaron el leucograma de codornices de engorde criadas en desafío sanitario.

Palabras clave: Glóbulos blancos; incubación de huevos; nutrición; sistema inmunológico (*Fuente: MeSH, NLM*).

ABSTRACT

Objective. Analyze the leukogram of meat-type quail inoculated *in ovo* with conjugated linoleic acid (CLA) and lauric acid (LA) while exposed to a sanitary challenge. **Material and methods.** The drinking water was placed seven days before the arrival of the quails and it was only refilled throughout the experiment. The treatments were applied on 480 fertile eggs in the 7th day of incubation: Negative control: not perforated; positive control: injected with the diluent (corn oil; CO); CLA120: 120 mg

Como citar (Vancouver).

Silva-Santos A, Freitas-Pinheiro SR, Machado-Dallago G, Chaves-de-Paula KL, Aluísio-Rocha A, Correa-Castiblanco DM. Leucograma de codornices de engorde inoculadas *in ovo* con ácido linoléico conjugado y ácido laurico. Rev MVZ Córdoba. 2022; 27(1):e2238. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2238>



©El (los) autor (es) 2021. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

CLA /CO; CLA240: 240 mg CLA /CO; LA60: 60 mg LA /CO and LA90: 90 mg LA /CO. A completely randomized design with four replications was used. Total leukocytes and the differential leukocyte count were evaluated at 21 and 36 days of age. **Results.** No statistically effects ($p>0.05$) of any inoculations were observed in the parameters evaluated. We observed an average of 10927.1 ± 2933.6 cell/ μ l, $61.6 \pm 7.31\%$, $32.0 \pm 7.13\%$ and 0.57 ± 0.21 for leukocyte count, lymphocyte, heterophile and heterophile/lymphocyte ratio, respectively, at 21 days. At 36 days, we observed an overall average of 13291.7 ± 3559.0 cell/ μ l, $65.0 \pm 9.29\%$, $29.3 \pm 9.93\%$ and 0.50 ± 0.24 , for those same variables, respectively. **Conclusions.** The *in ovo* inoculation levels of CLA and LA did not affect the leucogram of meat-type quails raised in sanitary challenge.

Keywords: Hatching eggs; immune system; nutrition; white blood cells (*Source: MeSH, NLM*).

INTRODUCCIÓN

La adecuada nutrición, de las aves es importante, incluso antes del nacimiento, debido a la intensa selección genética de las líneas actuales, siendo posibles que los embriones ya estén con disponibilidad reducida de nutrientes (1). De acuerdo con Gonçalves et al (2) la baja reserva de nutrientes en el tercio final de la incubación de los huevos y durante la eclosión, asociada a la baja eficiencia productiva en los primeros días de vida, en consecuencia, de la limitación de las funciones digestivas, luego de la eclosión, pueden perjudicar el nacimiento y la sobrevivencia de las aves.

La técnica de la nutrición *in ovo*, es una alternativa que visa mejorar las características nutricionales y reducir las tasas de mortalidad de las codornices, para garantizar que las aves sean más resistentes durante su vida productiva. Entre los nutrientes utilizados en la nutrición *in ovo*, podemos destacar los aminoácidos, carbohidratos, prebióticos y ácidos grasos como el ácido linoleico conjugado (CLA) y el ácido láurico (AL). Segundo Mehr et al (3) el CLA es de importancia en la modulación de la inflamación y de la respuesta inmune del pollo de engorde y puede actuar sobre el conteo total de los glóbulos blancos. Además de eso, el AL presente propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas contra microorganismos patogénicos, lo que mejora la respuesta del sistema inmunológico en diferentes fases de la producción, como embrionario, pos-eclosión y de crecimiento (4).

De acuerdo con Almeida Filho (5) el estrés inmunológico es una de las principales limitaciones en la producción intensiva de aves. Así, las aves necesitan un sistema inmunológico eficiente para protegerlos contra agentes infecciosos que pueden causar enfermedades. Una nutrición adecuada es esencial para garantizar la salud

de las aves, ya que la energía y nutrientes son necesarios para la formación de células y otras sustancias relacionadas en el sistema inmunológico (6). En este sentido, Aguilar (7) y Almeida Filho (5) argumentaron que el análisis del leucograma es de fácil implementación y bajo costo, pudiendo ser utilizada para evaluar la inmunidad de las codornices ante un desafío sanitario, pues indica la capacidad de respuesta de las células de defensa del organismo.

Es necesario evaluar las células relacionadas en el sistema inmunológico de las codornices porque la mayoría de los trabajos publicados se refieren a pollos de engorde y las pocas publicaciones existentes con codornices son conflictantes (discrepantes).

Con base en eso, colocamos la hipótesis de que la inoculación *in ovo* con CLA y ácidos grasos LA promovería un efecto positivo sobre el sistema inmunológico de codornices de engorde criadas en condiciones sanitarias precarias. El objetivo fue evaluar los efectos de la inoculación *in ovo* de CLA y AL en el leucograma de codornices de engorde en las fases inicial y de crecimiento sometidas a desafío sanitario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio. El experimento fue realizado durante el período de mayo a septiembre de 2018, en las instalaciones del Departamento de Zootecnia de la Universidad Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, Minas Gerais, Brasil, con coordenadas geográficas $18^\circ 10'$ de latitud sur, $43^\circ 30'$ de longitud oeste y altitud de 1387 m.

Cuatrocientos ochenta huevos de codornices fértiles fueron incubados. Los huevos fueron obtenidos de un lote de 29 de semanas de la

línea europea de "la granja codornices Fujikura", localizada en Suzano, São Paulo, Brasil. La incubadora utilizada fue de la marca COPEMARQ, modelo Labo 13, con temperatura de 37°C y 70% de humedad relativa.

Los tratamientos evaluados fueron: CN: control negativo – huevos no inyectados ni perforados; CP: control positivo – huevos inyectados con diluyente 0.050 mL (oleo de maíz; OM); CLA120: huevos inoculados con 120 mg CLA/0.50 mL OM; CLA240: huevos inoculados con 240 mg CLA/0.50 mL OM; LA60: huevos inoculados con 60 mg LA / 0.50 mL OM; y LA90: huevos inoculados con 90 mg LA / 0.50 mL OM.

La inoculación *in ovo*, fue realizada en el séptimo día de incubación. Consistió en retirar todos los huevos de la incubadora, incluyendo el grupo CN, en un tiempo medio de 30 minutos por bandeja, que fue el tiempo necesario para inyectar todos los huevos en cada bandeja. Esto aseguraba que todos los tratamientos fueron sometidos a la misma cantidad de tiempo fuera de la incubadora. La sala fue totalmente cerrada durante la inoculación y fueron utilizadas lámparas para calentar la sala y reducir el estrés térmico sufrido por el embrión fuera de la incubadora.

La superficie de la inoculación fue desinfectada con una solución de etanol al 70%. En seguida, fueron utilizadas jeringas desechables de 1 mL de capacidad para aplicar 0.05 mL de las soluciones (tratamientos) en la región del albumen a través del borde más redondo del huevo, aproximadamente 3 mm debajo de la cascara del huevo (test preliminares).

Para las inoculaciones de CLA, fue utilizado el producto Lipo-6 CLA, marca comercial Nutrex Research, con una concentración de 1000 mg, y para la suplementación de LA, fue utilizado aceite de coco extra virgen de origen comercial, con el embalaje de 200 mL, perteneciente a la marca Copra Coco.

Todos los huevos fueron transferidos para los nacimientos en el 15° día de incubación, donde permanecieron hasta la eclosión por 2 o 3 días más. Luego del nacimiento de las aves (17° y 18° día de incubación), 240 codornices no sexadas fueron distribuidas en delineamiento completamente al azar, basado en el protocolo de la inoculación con cuatro repeticiones

conteniendo 10 codornices por repetición. Las codornices fueron alojadas en baterías metálicas (60 de largo x 60 de ancho x 35 de altura, cm), Con un comedero tipo canal y bebedero tipo copa de presión. Las jaulas eran previamente forradas con papel periódico, para evitar lesiones de las aves. Lámparas incandescentes de 100 y 60 watts fueron utilizadas para el calentamiento, de modo que las codornices permanecieron en confort durante todo el experimento.

Con el fin de causar desafío sanitario, fue ofrecida agua de bebida siete días antes del traslado de las codornices, y solamente fueron reabastecidas durante todo el período experimental, sin lavar la fuente de agua. Además de eso, no fueron retiradas las heces de las bandejas o forros del piso y de las bandejas para este fin, Esto fue realizado para todos los tratamientos evaluados en este estudio para simular las condiciones sanitarias prácticas en granas que no siguen un protocolo de limpieza adecuado.

Las fases experimentales fueron divididas en inicial (1 a 21 días de edad) y de crecimiento (22 a 36 días). La temperatura e la humedad relativa del aire fueron monitoreadas diariamente por termómetros ubicados en la jaula. La humedad media y las temperaturas mínima e máxima en la fase inicial fueron de 66.1%, 27.8°C e 30.8°C, respectivamente. En la fase de crecimiento, la humedad media, temperatura mínima y temperatura máxima fueron 72.8%, 22.5°C, y 25.2°C, respectivamente.

La comida ofrecida fue formulada a base de maíz y harina de soya, bajo las recomendaciones de Silva y Costa (8). Las raciones fueron isoenergéticas e isoproteicas. Fueron elaboradas para la fase inicial y de crecimiento (Tabla 1). El fornecimiento de la comida y del agua fueron *ad libitum* durante todo el período experimental.

Métodos de laboratorio. El leucograma fue evaluado a través del análisis de las células sanguíneas de las aves a los 21 y 36 días de edad. Las muestras de sangre fueron colectadas a través de la vena yugular de dos aves (unidad experimental), por repetición, y ocho aves por tratamiento, totalizando 48 aves por etapa (inicial y de crecimiento). Las muestras de sangre fueron colocadas en francos con EDTA-anticoagulante diluido 200 veces en diluyente Natt-Herrick (20 µl de sangre: 1.980 µl del diluyente).

Tabla 1. Ingredientes de las dietas dadas a las codornices de engorde en la fase inicial (1 a 21 días) y crecimiento (22 a 36 días edad).

Ingredientes	Inicial	Crecimiento
Maíz (7.92%)	49.6157	54.8315
Harina de Soja (45%)	42.8111	38.4348
Aceite de Soja	3.0763	4.0230
Calcáreo Calcítico	1.2768	1.0579
Fosfato Bicálcico	1.0318	0.7937
Sal Común	0.3748	0.3232
Minerales ¹	0.0500	0.0500
Vitaminas ²	0.0500	0.0500
L-Lisina Hcl (78%)	0.2340	0.0000
L-Valina (98%)	0.0162	0.0000
L-Isoleucina (98,5%)	0.3212	0.1637
DL-Metionina (98%)	0.4228	0.2131
L-Treonina (99%)	0.2740	0.0490
Antioxidante ³	0.0100	0.0100
Total	100.00	100.00
Composición Calculada		
Energía Metabolizable (Kcal/Kg)	2.900	3.000
Calcio (%)	0.85	0.70
Fósforo Disponible (%)	0.32	0.27
Sodio (%)	0.17	0.15
Proteína Bruta (%)	25.00	22.00
Arginina Digestible (%)	1.92	1.52
Isoleucina Digestible (%)	1.14	0.9
Lisina Digestible (%)	1.37	1.08
Metionina + Cistina Digestible (%)	1.04	0.80
Treonina Digestible (%)	1.04	0.78
Triptofano Digestible (%)	0.27	0.24
Valina Digestible (%)	1.01	0.92

¹Composición/ kg del producto: Cobre 2500,00 mg; Colina 27,00 mg; Ferro 12,5 mg; Iodo 250,00 mg; Manganés 7,5 mg; Metionina 130,00 g; Selénio 20,00 mg; Sódio 120,00 g; Zinco 4500,00 mg. ²Composición/kg do produto: Ácido Fólico 175,00 mg; Ácido Nicotínico 28000,00 mg; Ácido Pantotênico 2500,00 mg; Bacitracina de Zinco 5100,00 mg; BHA 500,00 mg; BHT 500,00 mg; Biotina 12,50 mg; Vitamina A 500.000,00 UI; Vitamina B1 150,00 mg; Vitamina B12 2500,00 mg; Vitamina B2 800,00 mg; Vitamina B6 250,00 mg; Vitamina D3 170.000,00 UI; Vitamina E 2100,00 UI; Vitamina K3 400,00 mg; Salinomicina 12500,00 mg/kg. ³Butil hidroxitolueno.

Luego de 12 horas de la colecta de la muestra de sangre, el número total de leucocitos fue contabilizado usando microscopía óptica con ampliación de 400 x y usando la cámara Neubauer modificada. El conteo diferencial de leucocitos fue hecho en esfregazos sanguíneo colorados usando el método de May-Grünwald-Giemsa y analizados en el microscopio óptico

con una ampliación de 1000X. En seguida, el conteo diferencial de leucocitos fue convertida en porcentaje. Una media por unidad experimental fue calculada para las variables conteo total de leucocitos (LEUC; cell/ μ l), linfocitos (LINF; %), heterófilos (HETER; %), e la proporción de heterófilos para linfocitos (HETER/LINF) antes del análisis estadístico.

Análisis estadísticos. Los análisis estadísticos fueron realizados por cada edad separadamente y siempre adoptando un nivel de significancia de 5%. Un modelo de regresión de Poisson fue inicialmente evaluado para analizar o LEUC. Sin embargo, cuando la presuposición de igualdad entre media y variancia testada utilizando la función dispersion test inherente a esta metodología no atendió a ninguna de las edades. Se utilizó un modelo de regresión binomial negativa en ese análisis.

La ANOVA fue utilizada para analizar las variables restantes. Las hipótesis de normalidad, heterocedasticidad e independencia fueron evaluadas usando los test de Shapiro, Bartlett, y Durbin-Watson, respectivamente. Las suposiciones no fueron cumplidas tanto para LINF como para HETER/LINF a los 36 días de edad. En esos casos, fue utilizado el test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

Comité de ética y bioseguridad. Número 026/2017 del Comité de Ética de Uso de Animales de la UFVJM.

RESULTADOS

No fue observado un efecto estadísticamente significativo ($p > 0.05$) de la inoculación *in ovo* de CLA o AL en el LEUC, LINF, HETER, y HETER/LINF en la sangre de codornices de engorde a los 21 días de edad (Tabla 2). Las medias generales \pm desvío padrón de 10927.1 ± 2933.6 células/ μ l, $61.6\% \pm 7.31\%$, $32.0\% \pm 7.13\%$ e 0.57 ± 0.21 para LEUC, LINF, HETER e HETER/LINF, respectivamente, fueron observadas en esta edad.

De la misma forma, se verifica que las condiciones *in ovo* con CLA y AL no influenciaron ($p > 0.05$) el conteo de LEUC, LINF, HETER y la relación HETER/LINF de sangre de codornices de engorde a los 36^o días de edad (Tabla 3). En esta edad, observamos las medidas globales de 13291.7 ± 3559.0 células / μ l, $65.0\% \pm 9.29\%$, $29.3\% \pm 9.93\%$ y 0.50 ± 0.24 para LEUC, LINF, HETER y HETER / LINF, respectivamente.

Tabla 2. Media del conteo de leucocitos totales (LEUC), linfocitos (LINF), heterofilos (HETER) y la relación heterofilo para linfocito (HETER/LINF) de la sangre de codornices de engorde con 21 días de edad sobre el efecto de la inoculación *in ovo* con ácido linoleico conjugado (CLA) y ácido laurico (AL).

Item	Tratamientos ¹						Media	DP ²	p-valor
	CN	CP	CLA 120	CLA 240	AL60	AL90			
LEUC (cell/μl)	8437	11250	10125	13437	9812	12500	10927.1	2933.6	0.16
LINF (%)	62.8	64.0	65.5	54.2	59.2	64.0	61.6	7.31	0.26
HETER (%)	31.0	30.5	27.5	38.8	34.8	29.8	32.0	7.13	0.27
HETER/LINF	0.53	0.49	0.45	0.79	0.64	0.50	0.57	0.21	0.18

¹CN: control negativo; CP: control positivo; CLA 120: 120 mg de CLA/0.50 mL de OM; CLA 240: 240 mg de CLA/0.50 mL de OM; AL 60: 60 mg de AL/0.50 mL de OM e AL 90: 90 mg de AL/0.50 mL de OM.

²DP = Desvio padrão

Tabla 3. Media de leucocitos totales (LEUC), linfocitos (LINF), heterofilos (HETER) y relación heterofilo para linfocito (HETER/LINF) de la sangre de codornices de engorde con 36^o días de edad sobre el efecto de la inoculación *in ovo* con ácido linoleico conjugado (CLA) y ácido laurico (AL).

Item ²	Tratamientos ¹						Media	DP ²	p-valor
	CN	CP	CLA 120	CLA 240	AL60	AL90			
LEUC (cel/μl)	13500	11375	15750	12937	15875	10312	13291,7	3559.03	0.13
LINF (%)	70.2	63.8	59.2	61.8	63.0	72.0	65,0	9.29	0.33
HETER (%)	22.8	29.5	37.5	32.8	31.2	22.0	29,3	9.93	0.27
HETER/LINF	0.34	0.50	0.71	0.56	0.52	0.33	0,50	0.24	0.25

¹CN: control negativo; CP: control positivo; CLA 120: 120 mg de CLA/0.50 mL de OM; CLA 240: 240 mg de CLA/0.50 mL de OM; AL 60: 60 mg de AL/0.50 mL de OM e AL 90: 90 mg de AL/0.50 mL de OM.

²DP = Desvio padrão

DISCUSIÓN

En el presente estudio, el conteo total y diferencial de leucocito fueron analizados para evaluar el posible efecto de la inoculación *in ovo* con los ácidos grasos CLA y AL sobre el sistema inmunológico de las codornices de engorde. Enfatizamos las células sanguíneas (leucocitos) de las aves sobre un desafío sanitario (ambiente con menos condiciones sanitarias). A pesar de los efectos benéficos relatados por algunos autores como Zeiger et al (9) y Shanbhag (4), sobre la acción de los ácidos grasos sobre el organismo animal, no observamos esos efectos para el presente estudio. Nuestros resultados apuntaron que los niveles de las inoculaciones con CLA y AL no tuvieron efecto en el sistema inmunológico de las aves con base en el LEUC, LINF, HETER e HETER/LINF medidos en la sangre de codornices de engorde a los 21 y 36 días de edad.

De acuerdo con Dal'alba (10) el efecto de la sustancia inyectada en el huevo depende de la fase en que el embrión se encuentra, de

la especie evaluada, de las características de la sustancia de la inoculada, del volumen inyectado e del lugar de aplicación. Además de otros factores como volumen, concentración y tipos de solventes usados para inoculación de la solución (11). Sin embargo, no hay recomendaciones disponibles para codornices de engorde, lo que convierte este un campo investigación abrangible.

Es posible que la ausencia de efecto de la inoculación *in ovo* haya ocurrido porque el desafío sanitario adoptado no fue suficiente para desencadenar una respuesta inmune. En ese caso, ninguna alteración en el número de leucocitos y, consecuentemente, ningún efecto de los tratamientos sería observado, independientemente de su eficacia.

Ante la escasez de valores laboratoriales para LEUC de codornices, algunos autores como Rosa et al (12) y Stanquevis et al (13) han buscado determinar valores de referencia. Sin embargo, aún existen muchas divergencias e inconsistencia entre los valores de literatura. Esto puede ser atribuido a factores tales como

diferentes especies, dietas y niveles de estrese en los cuales las codornices son expuestas. Así, los grupos de control podrían ser usados como niveles de referencia para evaluar el efecto de las inoculaciones de CLA y AL en este estudio, lo que indica ningún efecto de la inoculación en LEUC de codornices de engorde.

Con base en el trabajo realizado por Aguilar (7), los valores establecidos por linfocitos de codornices japonesa están entre 40% y 74.37%. En comparación con nuestros resultados, que variaron de 54.2% a 72%, el porcentaje de linfocitos tanto a los 21 como a los 36 días está dentro del rango relatado anteriormente. Nuestros valores de heterofilos también se aproximaron del relatado (31.75%) para *Coturnix coturnix japonica* (14). Los heterofilos pueden indicar la presencia de infecciones y estrés si el valor está fuera del rango recomendado para la especie (15).

A HETER/LINF es un importante parámetro para evaluar el nivel de bienestar de los animales (16) teniendo en vista ser un parámetro más sensible al nivel de estrese imposto a los animales. De acuerdo con Carvalho et al (17) a HETER/LINF es menos variable que LEUC, bien como de LINF e HETER cuando evaluados separadamente. La relación HETER/LINF recomendada para codornices japonesas está entre 0.52 e 0.70 (7). Al considerar los resultados del presente trabajo, que varío de 0.33 a 0.79, es posible ver que la relación en la mayoría de los tratamientos estaba dentro del rango recomendado. Esto indica que la metodología de desafío sanitario utilizada aquí no fue suficiente para enfatizar el sistema inmunológico de las aves durante o período experimental.

Además de los resultados de los leucogramas presentados, el desempeño animal, así como el peso del timo, bazo y la bolsa de fabricius, que son órganos asociados al sistema inmunológico, fueron relatados en otros lugares (18). Sin embargo, ningún efecto de la da inoculación *in ovo* del CLA y LA fue observado también (18). Por otro lado, Zeitz et al (19) enfatizan que el ácido graso láurico y mirístico son capaces de modular la microbiota y la morfología intestinal de las aves, mejorando tanto la absorción y utilización de nutrientes como el rendimiento de pollos de engorde. Además de eso, Martins (20), relató los efectos benéficos del CLA en la estimulación de la inmunidad pasiva y adaptativa de pollos de engorde cuando ofrecido en la ración de las matrices o en la ración pos-eclosión.

En conclusión, la inoculación *in ovo* de diferentes niveles de CLA y AL no afectó el leucograma de codornices de engorde a los 21 y 36 días de edad criadas en condiciones de desafío sanitario.

Conflicto de intereses

Los autores de este estudio declararon no haber conflicto de intereses.

Agradecimientos

A la Coordinación de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código Financeiro 001 e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq-Brasil. A Universidad Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri por el apoyo.

REFERENCIAS

1. Dong XY, Jiang YJ, Wang MQ, Wang YM, Zou XT. Effects of *in ovo* feeding of carbohydrates on hatchability, body weight, and energy status in domestic pigeons (*Columba livia*). *Poult Sci*. 2013; 92(8):2118–2123. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03091>
2. Gonçalves FM, Santos VL, Contreira CL, Farina G, Kreuz BS, Gentilini FP et al. Nutrição *in ovo*: estratégia para nutrição de precisão em sistemas de produção avícola. *Arch Zootec*. 2013; 62(R):45-55. <http://dx.doi.org/10.21071/az.v6.2i237.1956>
3. Mehr MA, Hassanabadi A, Mirghelenj SA, Kermanshasi H. Effects of *in ovo* injection of conjugated linoleic acid on immune status and blood biochemical factors of broiler chickens. *Span J Agric Res*. 2014; 12(2):455-461. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2014122-4901>
4. Shanbhag VKL. Oil pulling for maintaining oral hygiene – A review. *J Tradit Complement Med*. 2017; 7(1):106–109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.05.004>

5. Almeida Filho JA, Gomes FA, Freitas HJ, Malavazi PFNS, Sandra IO, Bezerra MB, et al. Vitamina C e E na alimentação de frangos de corte industrial criados em ambiente com desafio permanente na Amazônia Ocidental. *Arq Cient Vet Zool UNIPAR*. 2019; 22(2):43-51. <https://www.revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/6771>
6. Cardoso ALSP, Tessari ENC. Interação entre imunidade e nutrição das aves: revisão de literatura. *R Cient Electr Med Vet*. 2015; 24(0):1-20. http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/spIIluwtcZYWUvo_2015-3-24-14-38-5.pdf
7. Aguiar LL. Zinco orgânico e cobre sobre parâmetros histomorfométricos e contagem diferencial de leucócitos de codornas japonesas [Disertação M.Sc.]. Alegre: Universidad Federal de Espírito Santo; 2016. <https://repositorio.ufes.br/handle/10/7807>
8. Silva JHV, Jordão Filho J, Costa FGP, Lacerda PB, Vargas DGV, Lima MR. Exigências nutricionais de codornas. *Rev Bras Saúde Prod Anim*. 2012; 13(3):775-790. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402012000300016>
9. Zeiger K, Popp J, Becker A, Hankel J, Visscher C, Klein G. et al. Lauric acid as feed additive—An approach to reducing *Campylobacter* spp. in broiler meat. *PLoS One*. 2017; 12 (4):1-10. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0175693>
10. Dal'Alba GM, Melek C, Schneider M, Deolindo GL, Boiago MM, Faria GA, et al. Nutrição *in ovo* usando mel: efeitos sobre eclodibilidade, desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte. *Res Soc Dev*. 2020; 9(8):1-17. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5178>
11. McGruder BM, Zhai W, Keralapurath MM, Bennett LW, Gerard PD, Peebles ED. Effects of *in ovo* injection of electrolyte solutions on the pre-and posthatch physiological characteristics of broilers. *Poult Sci*. 2011; 90(5):1058–1066. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00893>
12. Rosa GA, Sorbello LA, Dittrich RL, Moraes MTT, Oliveira EG. Perfil hematológico de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) sob estresse térmico. *Ciênc Rural*. 2011; 41(9):1605-1610. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011005000110>
13. Stanquevis CE, Marcato SM, Furlan AC, Perine TP, Batista E, Grieser DO et al. Níveis de suplementação de vitamina K para codornas de corte em crescimento de 15 a 35 dias de idade. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2017; 69(4):1006-1012. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9445>
14. Porto ML, Fontenele-Neto JD, Pinto FF. Efeito da manipulação térmica durante a incubação sobre as variáveis hematológicas, bioquímica sérica e morfometria da bolsa cloacal de codornas japonesas submetidas ao estresse crônico por calor. *Ar Bras Med Vet Zootec*. 2020; 72(2):505-516. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11132>
15. Capitelli R, Crosta L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2013; 16(1):71-120. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2012.10.002>
16. Bonamigo A, Silva CBS, Molento CFM. Grau de bem-estar relativo de frangos em diferentes densidades de lotação. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2011; 63(6):1421-1428. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352011000600020>
17. Carvalho GB, Martins PC, Rezende PM, Santos JS, Oliveira E, Trentin TC et al. Hematology and serum biochemistry of broilers at the initial and growth stages submitted to different levels of digestible sulfur amino acids. *Ciênc Rural*. 2020; 50(5):15. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180881>
18. Paula KLC, Pinheiro SRF, Valentim JK, Castiblanco DMC, Santos AS, Dallago GM et al. Sources of conjugated linoleic acid and lauric acid inoculated into the eggs of quails and its effects on immunity. *Semin*. 2021; 42(3):1759-1771. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p1759>
19. Zeitz JO, Fennhoff J, Kluge H, Stangl GI, Eder K. Effects of dietary fats rich in lauric and myristic acid on performance, intestinal morphology, gut microbes, and meat quality in broilers. *Poult Sci*. 2015; 94(10):2404-2413. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev191>
20. Martins PC. Suplementação de ácido linoléico conjugado na dieta de matrizes de frango de corte e da sua progênie. [Tese de Doutorado]. Universidade Federal de Goiás, Goiânia: Brasil; 2017. <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/7882>