

AVICULTURA

INDUSTRIAL.C

ISSN 1516-3105

Nº 06|2021 | ANO 112 | Edição 1310 | R\$ 26,00



CIALNE

Chega aos 55 anos como referência no Norte-Nordeste

Tradicional no mercado avícola, a empresa com sede no Ceará investe na modernização de sua produção e estrutura mirando o futuro



NEGÓCIOS & OPORTUNIDADES

O executivo Denilson Dorigoni fala sobre o investimento da Granja Faria na criação da rede de *fast food* Eggy



REGIÕES

Avicultura cresce no Norte-Nordeste impulsionada por novos investimentos e produção de grãos do Centro-Oeste

DESENVOLVIMENTO PRECOCE DAS MUCOSAS INTESTINAIS E DO STATUS SANITÁRIO DE AVES POR ESTÍMULOS *IN OVO*

Uma das técnicas que está sendo discutida como uma oportunidade é a nutrição in ovo, em que materiais biológicos são injetados no interior do ovo embrionado, visando melhorar o desenvolvimento da mucosa intestinal das aves

Por | Jose Rodrigo Claudio Pandolfi^{1*} e Sandra Camile Almeida Mota²

Avicultura está em constante desenvolvimento para melhorar ainda mais sua performance produtiva e sanitária. Existe uma tendência global para a retirada do uso de antimicrobianos como melhoradores de desempenho na produção animal. Ao mesmo tempo, busca-se alternativas viáveis e seguras de biofármacos, fitoterápicos, suplementos, probióticos, prebióticos, biomoléculas, produtos químicos e técnicas de manejo que possam manter ou potencializar o status produtivo mesmo sem os antimicrobianos melhoradores de desempenho (ALAGAWANY *et al.*, 2021). Além disso, com o custo alto de produção, quaisquer medidas que possam propiciar ganhos sutis no desempenho das aves serão traduzidas em melhor produtividade e, portanto, melhor retorno financeiro e consequente oferta de proteína animal de alta qualidade nutricional ao consumidor a preços mais acessíveis.

O desenvolvimento precoce das mucosas intestinais e de estruturas associadas tem se demonstrado uma alternativa para permitir que os pintos recém-eclodidos apresentem status sanitário mais robusto e maior capacidade de absorção de nutrientes pelas paredes intestinais, podendo levar a um período mais curto de produção para que as aves atinjam a conformação desejada para o abate.

Isto posto, na busca para aumentar a produtividade da avicultura, uma das técnicas que está sendo discutida como uma oportunidade é a nutrição *in ovo*, em que materiais biológicos são injetados no interior do ovo embrionado, visando melhorar o desenvolvimento da mucosa intestinal das aves. A tecnologia *in ovo*, focada no período perinatal

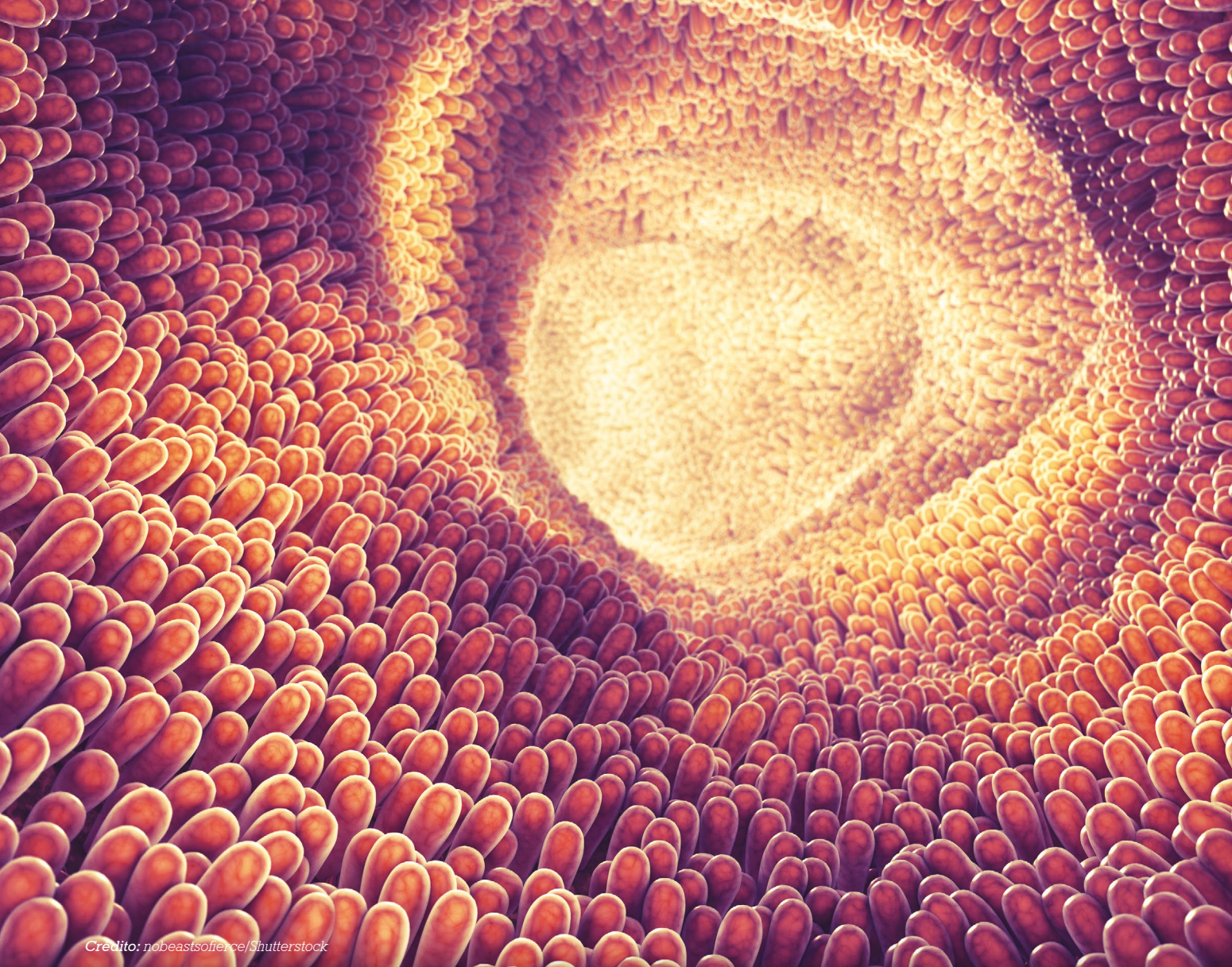
que é o momento mais crítico do desenvolvimento da ave (Siwek *et al.*, 2018), é baseada na injeção, *in ovo*, de substâncias com diversas atuações sobre o embrião em crescimento (Bednarczyk *et al.*, 2011).

Uma das desvantagens que pode ser apontada em relação a técnica de injeção *in ovo* é o grande número de pintinhos nascidos por lote para atender a demanda em larga escala da indústria de aves, onde este procedimento pode levar uma quantidade de tempo significativa. Além de um acréscimo no custo de produção, onerando a cadeia produtiva de aves que já possui uma estreita margem de lucro. Estes entraves têm sido suplantados com o desenvolvimento de técnicas e equipamentos para a inoculação automatizada, bem como a aquisição de maior robustez do status imune das aves e melhor desempenho zootécnico.

Na avicultura, o período de incubação das aves é de vital importância, pois prepara o pintinho para a vida após a sua eclosão. Nesta fase da vida do pintinho a tecnologia *in ovo* tem como objetivo diminuir os efeitos negativos da restrição alimentar durante a incubação.

Após a eclosão, os pintinhos recém-nascidos são selecionados, processados, vacinados e posteriormente transportados às granjas, criando durante esta etapa de vida das aves uma lacuna no acesso à alimentação e água (Siwek *et al.*, 2018). Essa lacuna afeta o desempenho das aves, diminuindo o desenvolvimento adequado do microbioma, do TGI e da saúde pela menor imunidade. Como consequência disto, tem-se maior suscetibilidade das aves a infestações, surtos e doenças infecciosas, principalmente em sistemas produtivos que adotaram a retirada de antimicrobianos como





Credito: nobeastsofierce/Shutterstock

melhoradores de desempenho, impactando negativamente a produtividade. Então, medidas que possam eliminar ou minimizar esses efeitos negativos são necessárias para que se atinja todo o potencial zootécnico das aves.

O desenvolvimento das mucosas intestinais está intimamente relacionado ao desenvolvimento das aves. Assim, modular este desenvolvimento afim de que ocorra precocemente é uma estratégia para potencializar o desempenho zootécnico e o status sanitário dos animais. Neste sentido, variados estímulos *in ovo* têm sido empregados para promover a maturação adiantada das mucosas intestinais, colonizá-las, estimular o desenvolvimento do sistema imunológico, fornecer nutrientes e, dessa forma, produzir pintinhos mais robustos e de melhor performance produtiva, sem a indução de efeitos negativos nestes animais (Duan *et al.*, 2021).

Inicialmente, a tecnologia de injeção *in ovo* foi desenvolvida na década de 1980, nos Estados Unidos, para vacinar pintos contra a Doença de Marek e, posteriormente, contra a Doença

de Gumboro e a Doença de Newcastle. Isso se dá devido à capacidade dos embriões em estágio avançado de produzir respostas imunes a antígenos virais e bacterianos. A injeção *in ovo* usada para a vacina contra a Doença de Marek em embriões de galinhas tem maiores índices de proteção quando vacinados em estágio embrionário (do 16º ao 20º dia de incubação; a vacinação no 18º dia revelou a maior proteção) em comparação com aqueles vacinados na eclosão, embora não tenha apresentado efeito sobre a eclodibilidade (Sharma e Burmester, 1982).

Por causa do sucesso da vacinação *in ovo*, este tipo de tecnologia teve uma aplicação ampliada, como foi o caso da nutrição *in ovo* ou também conhecida como alimentação precoce. Além da vacinação, a tecnologia *in ovo* tem sido aplicada para o fornecimento de prebióticos, probióticos, simbióticos, vitaminas, carboidratos e peptídeos (Kadam *et al.*, 2013; Duan *et al.*, 2021). Através dessa alimentação precoce, permite-se que o animal tenha acesso antecipado



à alimentação, a qual estimula o melhor desenvolvimento do trato digestório, peso vivo e estado nutricional já nos primeiros dias de vida da ave. A disponibilização rápida ao alimento nesta fase é importante para os pintinhos recém-eclodidos para que estes possam expressar todo seu potencial genético (UNI *et al.*, 2005).

O desenvolvimento embrionário das aves é restrito aos nutrientes presentes no ovo. Tendo em vista que um frango vive em média 42 dias de idade e o tempo de incubação é de 21 dias, isso significa que essa fase representa cerca de 30% da vida de um frango (Gonçalves *et al.*, 2013). Durante o período de incubação dos ovos, o Trato Gastrointestinal (TGI) das aves passa por diversas alterações em sua estrutura, sendo o fluido amniótico a primeira forma de ingestão de nutrientes para o desenvolvimento dos pintinhos (Bohorquez, 2010).

A técnica de nutrição *in ovo* consiste em fornecer nutrientes específicos para os pintinhos ainda na fase de desenvolvimento embrionário. Para isso, perfura-se a casca do ovo embrionado e inocula-se o nutriente por meio de uma seringa e agulha no líquido amniótico (Leitão *et al.*, 2014). No estágio tardio do desenvolvimento embrionário, há cinco regiões as quais a injeção *in ovo* pode ser administrada: na câmara de ar, na membrana alantóide, no fluido amniótico, na gema e no corpo do embrião (Wakenell, 2002). Entretanto, apesar do aumento nas pesquisas científicas a esse respeito, ainda existe a necessidade de elucidar algumas questões sobre a otimização do processo de gerenciamento dos nutrientes, como por exemplo a idade da ave, o volume a ser aplicado, o local da injeção, entre outros fatores. Não se sabe se o estresse por este processo no ovo pode causar alguma modificação no embrião pela ruptura do ambiente interno ou do equilíbrio osmótico. Assim como, há poucas avaliações sobre a administração ideal ou as substâncias misturadas para injeção ou quais as concentrações apropriadas para a distribuição. Posto que a variedade de substâncias e suas combinações vêm aumentando gradativamente, este campo de pesquisa promete permanecer altamente produtivo nos próximos anos.

Segundo Ohta *et al.* (2001a), dentre os locais "alvo" da inoculação *in ovo*, os melhores resultados foram verificados no líquido amniótico para ganho de peso do embrião. Isto pode ser justificado pelo fato de o embrião, no seu desenvolvimento no interior do ovo, utilizar o líquido amniótico como principal fonte de suprimento de nutrientes. Enquanto, nos demais locais de inoculação, como na gema, estes nutrientes não são ainda consumidos pelo embrião, o qual demonstra ganhos

de produtividade após os 12 dias de desenvolvimento, pela absorção mais tardia em relação à inoculação na cavidade amniótica (Groff, 2018). Vale observar que o local da injeção difere entre o dia 12º e o dia 18º de incubação do ovo embrionado devido ao tamanho e às mudanças estruturais do ovo. No 12º de incubação o local da injeção *in ovo* é a câmara de ar, que é segura para o embrião e de fácil automatização do processo (Siwek *et al.*, 2018). No 18º dia de incubação há maior risco de causar danos no embrião se a injeção for feita erroneamente, sendo nesta fase o local da injeção o líquido amniótico ou o embrião, dependendo da sua posição no ovo (Kadam *et al.*, 2013).

É importante ressaltar que, durante o período embrionário, a técnica de inoculação pode ser realizada a partir do 15º dia de vida no ovo, quando o embrião já possui a capacidade de assimilar o líquido amniótico, devendo inocular nesta fase as substâncias na cavidade alantóide (Klasing, 1998). De acordo com Bohorquez (2010), antes da bicagem interna da casca do ovo, o líquido amniótico é ingerido do 13º dia de incubação até o 18º dia, o que prepara o TGI para a nutrição pós-eclosão. Estudos realizados por Ohta *et al.* (2001a) e Johri *et al.* (2004) corroboram que a inoculação de aminoácidos no período embrionário da ave no ovo tem viabilidade pelo aumento no peso vivo das aves através da suplementação destes aminoácidos para o embrião, permitindo melhor desempenho produtivo. Todavia, dados apresentados por Bednarczyk *et al.* (2021) demonstram que essa janela de inoculação pode ser maior. Além do peso vivo das aves, um parâmetro muito utilizado para mensurar a qualidade da incubação é a taxa de eclosão. Esta taxa representa a quantidade de pintinhos viáveis nascidos em relação aos ovos incubados, podendo também ser utilizada como um parâmetro de avaliação do efeito da inoculação *in ovo*. Ao se promover a injeção *in ovo* de qualquer tipo de substância, deve-se buscar, no mínimo, a manutenção da taxa de eclosão.

A variedade de substâncias que podem ser inoculadas *in ovo* é grande e tem aumentado juntamente com o aumento das pesquisas na área. A seguir apresentam-se algumas das substâncias mais citadas na literatura científica.

VITAMINAS

No desenvolvimento inicial do sistema imunológico vários nutrientes são importantes. A vitamina A, por exemplo, é necessária para maximizar a imunocompetência, para o crescimento ideal e a eficiência na alimentação das aves (Sklan, 1994; Friedman & Sklan, 1997). Outros nutrientes que



podem afetar o desenvolvimento imunológico inicial são: ácido linoléico, ferro, selênio e algumas das vitaminas do complexo B (Klassing, 1998a).

Muito do desenvolvimento dos tecidos do sistema imunológico das aves ocorre no final da incubação e no início do período pós-nascimento. Assim, o estado nutricional materno e a deposição de nutrientes, bem como a nutrição precoce, desempenham um papel importante na modulação do sistema imunológico nutricional. Já é de conhecimento que as vitaminas A, D e E têm funções regulatórias no sistema imunológico (Cook, 1991). A complexidade da resposta imune requer vários modos de comunicação de células imunológicas e moléculas imunológicas. Verificou-se que as aves são mais suscetíveis aos patógenos invasores durante o período inicial de incubação, pois seu sistema imunológico não atinge a funcionalidade completa por essa idade.

AMINOÁCIDOS

Existem poucos estudos demonstrando o melhor momento e local para a injeção de aminoácidos (AA) no ovo. O teor de AA no ovo, principalmente na gema, é suficiente para o bom desenvolvimento no embrião durante o período de incubação. Segundo os experimentos de Ohta *et al.* (1999), no qual foi injetado AA no saco vitelino no dia zero e no 7º dia; ambas as injeções de aminoácidos resultaram em aumento do peso corporal sem efeito na eclodibilidade. E a adição de AA estimulou a utilização e síntese de aminoácidos com uma diminuição simultânea na degradação de aminoácidos (bioquímica exata degradação não especificada), quando os AA injetados eram idênticos aos naturalmente ocorrendo no ovo. Neste mesmo trabalho de Ohta *et al.* (1999) foi demonstrado que a administração de AA na gema do ovo, no 7º dia melhorou o acúmulo de proteínas no embrião e houve aumento no ganho de peso corporal de pintinhos recém-eclodidos, que pode ter sido devido ao aumento de AA na gema do ovo ou pelo aumento da assimilação de AA pelo embrião.

Vale ressaltar que, quando o AA foi injetado na cavidade de ar do ovo, os pintinhos não eclodiram ou houve significativa redução na taxa de eclosão (Ohta & Kiddt, 2001b), tendo, portanto, influência do local de injeção dos AA. Porém, há poucos estudos científicos e conhecimento sobre a administração de AA em ovos de frango, principalmente com relação a dose, tipo de AA e local de injeção *in ovo*.

PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS

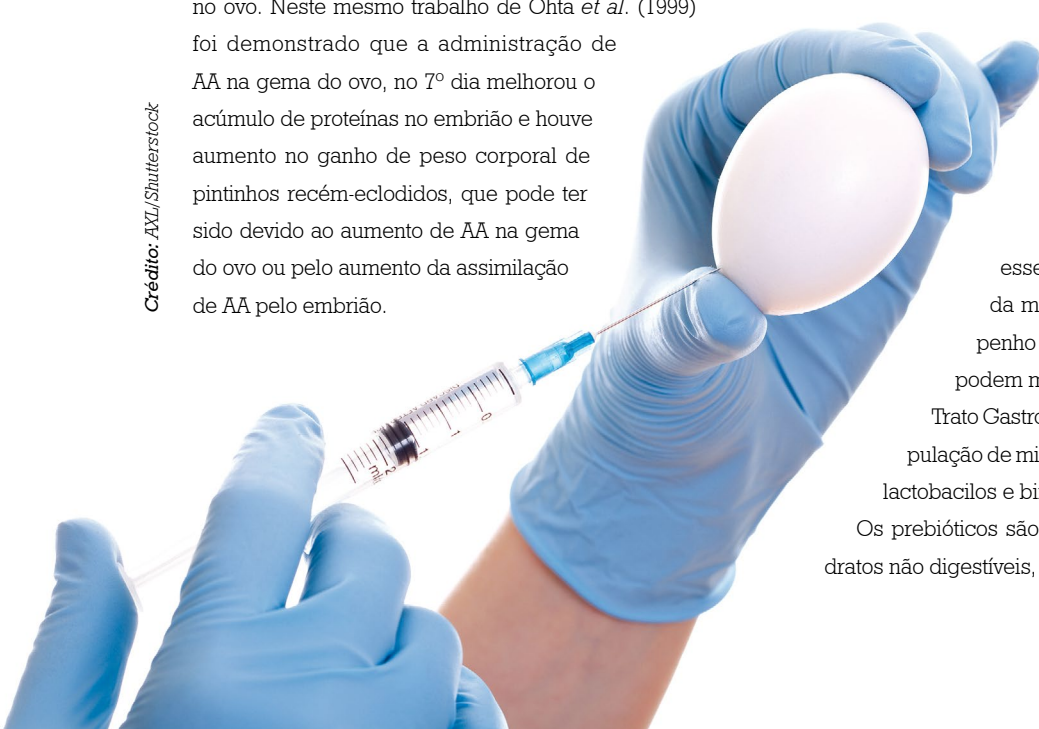
Outro substrato que pode ser utilizado com a tecnologia *in ovo* são os probióticos, comumente descritos como "microrganismos vivos que quando administrado em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro" (FAO / OMS, 2001). Os probióticos são usados para ajudar a manter um equilíbrio microbiano saudável dentro do intestino, para promover a integridade intestinal e prevenir doenças entéricas. Os mecanismos de ação dos probióticos são principalmente: exclusão competitiva, antagonismo bacteriano e estimulação do sistema imunológico.

Administrar probióticos *in ovo* promove a colonização precoce de bactérias benéficas para estimular o desenvolvimento intestinal e do sistema imunológico (Cox e Dalloul, 2015; Duncan *et al.*, 2021).

A aplicação precoce de probióticos, pela tecnologia *in ovo*, representa um meio de aproveitar este momento crucial e promover a colonização precoce de bactérias benéficas para estimular o desenvolvimento intestinal e do sistema imunológico. Infelizmente, pouco se sabe sobre os mecanismos da ação dos probióticos e como eles alteram o sistema imunológico. Mais pesquisas são necessárias para definir

melhor a dinâmica da função dos probióticos em termos de sua capacidade de imunomodulação. Além disso, compreender a resposta do embrião a probióticos e mudanças no sistema imunológico local é essencial para permitir a manipulação da microbiota para melhorar o desempenho e a saúde intestinal. Os probióticos podem mudar a dinâmica das bactérias no Trato Gastrointestinal (TGI), aumentando a população de microrganismos benéficos, incluindo lactobacilos e bifidobactérias (Ricke *et al.*, 1999).

Os prebióticos são ingredientes alimentares, carboidratos não digestíveis, utilizados nas dietas das aves que



influenciam de forma benéfica através do estímulo seletivo no crescimento ou na atividade das bactérias no microbioma intestinal das aves. Vários prebióticos têm sido utilizados na alimentação das aves, como os mananoligossacarídeos, inulinas e seu hidrolisado (frutooligossacarídeos), e xilooligossacarídeos, que são alguns dos mais comuns utilizados nas dietas das aves (Pourabedin & Zhao, 2015). O prebiótico deve ser resistente à exposição do ácido gástrico, hidrolisável pelas enzimas e com absorção gastrointestinal, ser fermentado pela microbiota intestinal, estimular seletivamente o crescimento e atividade microbiana no cólon das aves de forma benéfica ao hospedeiro (Roberfroid, 2007). Adicionalmente, Dai *et al.* (2020) demonstraram que a inoculação *in ovo* de L-arginine foi responsável por alterações dinâmicas no desenvolvimento precoce dos intestinos, da microbiota e do metaboloma de aves de postura de crescimento lento.

Já os simbióticos são definidos como a mistura de probióticos e prebióticos que, quando administrados, melhoram a sobrevivência e a persistência de suplementos alimentares de microbianos vivos no TGI, estimulando de forma seletiva o crescimento ou o metabolismo de uma ou mais bactérias, melhorando a performance das aves (Huyghebaert *et al.*, 2011). O efeito sinérgico da administração combinada de probióticos e prebióticos precisa, principalmente, de mais estudos. No entanto, de forma semelhante ao uso destas substâncias em separado, a administração *in ovo* de simbióticos pode ter resultados promissores sobre a saúde e desempenho das aves, conforme publicado por Dunislawska *et al.*, (2021), que demonstraram que a aplicação *in ovo* de inulina associada a probióticos (*Lactobacillus lactis*) induziram respostas moleculares em tecidos do intestino e do sistema imune.

Há muitos estudos na literatura que comprovam os benefícios do uso de probióticos, prebióticos e simbióticos sobre o ganho de performance nas aves. Entretanto, são escassos os estudos em relação à administração destas substâncias *in ovo*. Na literatura são descritos dois importantes momentos para a administração *in ovo*, sendo o primeiro no 12º dia de incubação do ovo para probióticos, prebióticos e simbióticos, e o segundo em torno do 17º dia de incubação onde o embrião da ave está completamente desenvolvido, usando a gema neste último caso como fonte de nutrientes (Siwek *et al.*, 2018). Os maiores efeitos são demonstrados quando da aplicação destas substâncias no 12º dia de incubação do ovo. Estudos como o de Siwek *et al.* (2018) mostram que o uso destas substâncias, quando aplicadas na câmara de ar, no 12º dia em relação ao 17º dia, se obtém melhores efeitos na

microbiota, nas características de crescimento, eficiência alimentar, morfologia intestinal, microestrutura, qualidade da carne, desenvolvimento do sistema imunológico, características fisiológicas e modulação do transcriptoma de aves de corte, efeito também observado por Dunislawska *et al.* (2020) e Dai *et al.* (2020), sendo que este último grupo também demonstrou a modulação do metaboloma. Mais recentemente, Bednarczyk *et al.* (2021) demonstraram que estímulos durante a vida embrionária, sejam externos ou *in ovo*, podem influenciar o desenvolvimento pré e pós-eclosão, através de modificações epigenéticas.

Os probióticos são assimilados pelo TGI quando o pintinho rompe a membrana interna nos estágios iniciais de eclosão. Enquanto a aplicação de prebióticos, principalmente aplicados no 12º dia de incubação, estimula a microbiota endógena antes da eclosão (Siwek *et al.*, 2018). No 12º dia, a membrana corio-alantóide é altamente vascularizada e permite a transferência do prebiótico da câmara de ar para o sistema circulatório e em seguida para o intestino em desenvolvimento (Siwek *et al.*, 2018). Portanto, ambas as substâncias, ou, seu uso combinado (simbióticos), podem atuar como colonizadores pioneiros que aumentam o desenvolvimento da microbiota complexa, modificando o ambiente intestinal (Pedroso *et al.*, 2016).

Já trabalhos como os de Tako *et al.* (2014) e Villaluenga *et al.* (2004) demonstraram que a administração *in ovo* de probióticos, tanto no 12º dia quanto no 17º dia de incubação, aumentou o número de bifidobactérias em pintinhos recém-nascidos. Enquanto, Siwek *et al.* (2018), mostra que o momento mais eficaz de administração é no 12º dia de incubação, pois do 12º ao 18º dia o prebiótico estimula a microbiota nativa, enquanto o probiótico é ingerido a partir do 18º dia, com a bicagem.

Uma das explicações para a maior eficiência da administração destas substâncias no 12º dia de incubação é que, a partir do 17º dia, o embrião já está completamente desenvolvido, diminuindo o efeito da aplicação destas substâncias. Porém, mesmo de forma tardia a administração de suplementos *in ovo* visa diminuir os efeitos negativos da restrição alimentar durante a fase de incubação, protegendo o pintinho recém-nascido (Uni & Ferket, 2005).

DESTAQUES

► A crescente tendência para a retirada de antimicrobianos como melhoradores de desempenho tem estimulado a busca de alternativas para que ela ocorra sem prejuízo para a produtividade da avicultura. Dessa forma, a expectativa é que seja adotado um conjunto de medidas associadas,



como manejo produtivo e sanitário, utilização de prebióticos, probióticos e simbióticos, suplementação da dieta, melhor qualidade microbiológica da ração e da água, cuidados com o bem-estar das aves, técnicas de melhoramento genético, produção de aves geneticamente modificadas com várias finalidades e, obviamente a adoção de técnicas de injeção *in ovo* de vários tipos de substâncias.

- O desenvolvimento precoce das mucosas intestinais pode ser obtido através de estímulos feitos por inoculação de substâncias *in ovo*. Através disso, as mucosas podem atingir sua maturidade dias antes, o que permite a absorção de nutrientes e favorece com que a aves atinjam o peso de abate com antecedência.
- Ao estimular-se o desenvolvimento das mucosas, propicia-se a colonização precoce das mesmas e, dessa forma, esses microrganismos colonizadores poderão impedir, por exclusão competitiva, a colonização do TGI dessas aves por patógenos.
- Os estímulos à maturação precoce das mucosas também estimulam o sistema imunológico dos pintinhos, induzindo a produção de interleucinas, imunoglobulinas e outras substâncias que favorecem a manutenção de bom status sanitário dos animais.
- Nutrientes injetados *in ovo*, além de favorecer o desenvolvimento adiantado das mucosas intestinais e estruturas associadas, também garantem melhor suplementação nutricional aos pintos no período pós-eclosão, quando eles enfrentam um período variável de jejum, desde seu nascimento, passando por sua seleção e transporte até as granjas, minimizando os efeitos prejudiciais dessa ausência alimentar.
- Assim, o período de incubação vem ganhando status tão importante quanto as fases de produção de frangos e de aves de postura:
 - O melhor momento para a realização da injeção *in ovo* é variável e depende das substâncias a serem injetadas, os objetivos desejados e o manejo do incubatório.
 - O sítio de injeção de substâncias *in ovo* é variável e estará relacionado ao período de incubação, às substâncias a serem inoculadas e ao manejo do incubatório.
- As substâncias aplicadas *in ovo* podem ser minerais, vitaminas, aminoácidos, carboidratos, fitoterápicos, biomoléculas, probióticos, prebióticos, simbióticos, vacinas, lipídeos, fármacos, biofármacos. A variedade de substâncias tem crescido par e passo com o desenvolvimento de pesquisas nesta área. ¹¹

¹Pesquisador Embrapa Suínos e Aves

²Analista Embrapa Suínos e Aves

*Autor para correspondência jose.pandolfi@embrapa.br



As Referências Bibliográficas podem ser obtidas no site de Avicultura Industrial por meio do link: www.aviculturaindustrial.com.br/inovo1310

ANÚNCIO