



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina Veterinaria

Unidad de Posgrado

**Influencia del uso de aditivos fitogénicos sobre la salud
intestinal y productividad de pollos de engorde**

TRABAJO ACADÉMICO

Para optar el Título de Segunda Especialidad Profesional en
Clínica y Patología Aviar

AUTOR

Daniel Antonio MOLINA MEZA

ASESOR

María Eliana ICOCHEA D'ARRIGO

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Molina D. Influencia del uso de aditivos fitogénicos sobre la salud intestinal y productividad de pollos de engorde. [Trabajo académico de segunda especialidad]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2022.

Metadatos Complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Daniel Antonio Molina Meza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	40722445
URL de ORCID	-
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	María Eliana Icochea D'Arrigo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09161133
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-7102-0584

Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Sandra Gracia Bezada Quintana
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07630662
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Jimny Yoel Núñez Delgado
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	44411070

Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	María Eliana Icochea D'Arrigo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09161133
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Alfredo Condemarín Bramon
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10297884

Datos de investigación	
Línea de investigación	No aplica
Grupo de investigación	No aplica
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Latitud: -12.081718 Longitud: -76.989896
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2020-2021
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01 Biotecnología agrícola, Biotecnología Alimentaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.04.01



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO ACADÉMICO MODALIDAD
VIRTUAL PARA OPTAR EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD
PROFESIONAL EN CLÍNICA Y PATOLOGÍA AVIAR**

En la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, siendo las 12:00 horas del día viernes 18 de febrero del 2022, el Jurado Ad-Hoc designado para llevar a cabo la evaluación del trabajo académico, presidido por la Mg. Sandra Gracia Bezada Quintana y conformado por los siguientes miembros docentes: Mg. Jimny Yoel Nuñez Delgado, MV. Esp. Alfredo Condemarin Bramon y Mg. María Eliana Icochea D'Arrigo (**Asesora**), se dio inicio a la sustentación oral y pública del Trabajo Académico intitulado:

“Influencia del uso de aditivos fitogénicos sobre la salud intestinal y productividad de pollos de engorde”, presentado por el Médico Veterinario:

DANIEL ANTONIO MOLINA MEZA

Luego de sustentar el Trabajo Académico para obtener el Título de Segunda Especialidad y absolver satisfactoriamente las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado y practicada la votación obtuvo la calificación de: **MUY BUENO, 18 (Dieciocho)**

A continuación, el Presidente del Jurado recomendó a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, proponga el otorgamiento del Título de Segunda Especialidad Profesional en Clínica y Patología Aviar, al M.V. Daniel Antonio Molina Meza.

Siendo las **13:19 horas** del día viernes 18 de febrero de 2022, se dio por concluido el acto académico, suscribiéndose la presente Acta.



Firmado digitalmente por BEZADA
QUINTANA Sandra Gracia FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 18.02.2022 15:44:34 -05:00

.....
Mg. Sandra Gracia Bezada Quintana (P.As. D.E.)

Presidente



Firmado digitalmente por NUÑEZ
DELGADO Jimny Yoel FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 18.02.2022 22:12:03 -05:00

.....
Mg. Jimny Yoel Nuñez Delgado (P.Ax.DE)

Miembro

.....
MV. Esp. Alfredo Condemarin Bramon

Miembro externo



Firmado digitalmente por ICOCHEA
D'ARRIGO Maria Eliana FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 18.02.2022 22:23:52 -05:00

.....
Mg. María Eliana Icochea D'Arrigo (PP.D.E.)

Miembro (Asesor)



Firmado digitalmente por GAVIDIA
CHUCAN Cesar Miguel FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 03.03.2022 16:28:18 -05:00

.....
Dr. Cesar Miguel Gavidia Chucán (P.P.D.E.)

Director de la Unidad de Posgrado

**INFLUENCIA DEL USO DE ADITIVOS FITOGÉNICOS SOBRE LA SALUD INTESTINAL
Y PRODUCTIVIDAD DE POLLOS DE ENGORDE**

Autor: Daniel Molina Meza^{1,2}

¹ *Área de Investigación, Desarrollo e Innovación, ilender Perú S.A., Lima, Perú*

² *E-mail: molinamezadaniel@gmail.com*

A mi madre y abuela, Gladys y Celinda, por el amor que me brindan y los valores inculcados, por su confianza y apoyo constante en la realización de mis proyectos y metas.

A Jessy, por todo su amor, comprensión y apoyo incondicional.

A mis sobrinos, Gabriel y Diego, por darme esos momentos de alegría e inspiración.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su apoyo incondicional y motivación para sacar adelante el presente trabajo.

Gracias infinitas.

A mi asesora y guía, Eliana Icochea, por su confianza, apoyo y paciencia en la realización del presente trabajo y de quien guardo la mayor estima y cariño.

RESUMEN

El presente trabajo revisa el conocimiento actual de los aditivos fitogénicos, los factores que influyen en su producción y seguridad, sus efectos en el mejoramiento de la producción y salud intestinal de pollos de engorde, así como, el marco regulatorio de su uso. Los fitogénicos comprenden un amplio abanico de compuestos bioactivos naturales derivados de plantas, donde los extractos y aceites esenciales constituyen un grupo importante. Son varios los estudios que han demostrado los efectos positivos que ejercen los fitogénicos, entre los que destacan, el efecto antimicrobiano, antioxidante, antiinflamatorio, de modulación de la microbiota intestinal, la digestibilidad, la morfología y función intestinal, repercutiendo en la mejora del rendimiento productivo. Sin embargo, los mecanismos de acción a los cuales se atribuyen sus funciones aún no están del todo esclarecidos, aunque se espera que el desarrollo de tecnologías recientes como las "ómicas" ayuden a dilucidar este panorama. En gran parte, esta falta de consistencia en los resultados en los estudios de laboratorio y de campo, se debe a la variada composición, dosis, condiciones ambientales y de manejo de los productos desarrollados. El efecto de mayor relevancia atribuido al uso de los compuestos fitogénicos, es sobre la modulación de la microbiota intestinal y su actividad antimicrobiana, lo cual se traduce en la obtención de un mejor rendimiento productivo, tal como ha sido documentado en múltiples estudios realizados en pollos de engorde. Es evidente que los compuestos fitogénicos representan actualmente la mejor alternativa al uso de los antibióticos del tipo promotores de crecimiento en aves, sea administrados solos o en combinación de dos o más compuestos, ya que parece ser un enfoque que puede mejorar aún más la eficacia y seguridad de su administración. Finalmente, en la línea de la inocuidad alimentaria, el uso de los aditivos fitogénicos con otras alternativas naturales, aunado a un buen manejo y prácticas de producción, constituirán en un futuro cercano, las claves para maximizar el rendimiento y mantener la productividad, mientras se avanza con el objetivo de reducir el uso de antibióticos en la industria avícola.

Palabras clave: fitogénicos, aditivo, producción, salud intestinal, pollos de engorde

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	7
1. CONCEPTOS SOBRE ADITIVOS FITOGÉNICOS	10
2. COMPOSICIÓN DE LOS ADITIVOS FITOGÉNICOS Y FACTORES QUE INFLUYEN EN SU PRODUCCIÓN Y SEGURIDAD	15
3. EFECTOS DE LOS ADITIVOS FITOGÉNICOS SOBRE EL MEJORAMIENTO DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD INTESTINAL	25
3.1 Actividad sensorial y estímulo del consumo.....	26
3.2 Actividad antimicrobiana y modulación de microbiota intestinal.....	28
3.3 Actividad antioxidante y antiinflamatoria.....	37
3.4 Digestibilidad.....	41
3.5 Morfología y función intestinal.....	43
3.6 Actividad anticoccidial.....	45
3.7 Rendimiento productivo.....	50
4. MARCO REGULATORIO PARA EL USO DE ADITIVOS FITOGÉNICOS EN PRODUCCIÓN ANIMAL	56
5. CONCLUSIONES	60
LITERATURA CITADA	63

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Familias y especies de plantas más utilizadas en la elaboración de aditivos fitogénicos	13
Cuadro 2. Clasificación de compuestos según su grupo químico.....	16
Cuadro 3. Principales constituyentes y partes utilizadas de hierbas y especias frecuentemente usadas como aditivos fitogénicos	17
Cuadro 4. Concentración mínima inhibitoria de aceites esenciales y compuestos activos de plantas contra diferentes especies de bacterias.....	29
Cuadro 5. Aditivos fitogénicos con actividad anticoccidial.....	46
Cuadro 6. Efecto de la suplementación en la dieta de aditivos fitogénicos sobre el rendimiento productivo de pollos de engorde.....	51
Cuadro 7. Resumen de literatura basada en el efecto del aceite esencial de orégano solo o en Combinación con otros aditivos fitogénicos o compuestos poliherbales sobre el ICA.....	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales mecanismos bajo los cuales los extractos de plantas ejercen su efecto positivo en la productividad animal.....	26
Figura 2. Modo de acción combinado del carvacrol, cinamaldehído y capsaicina en la mejora del crecimiento y rendimiento productivo de las aves.....	55

INTRODUCCIÓN

Los aditivos de tipo antibiótico, más conocidos como antibióticos promotores de crecimiento (APC), desde hace varias décadas han sido ampliamente utilizados en determinados niveles en las dietas de aves, cerdos, especies acuícolas y rumiantes, como una herramienta para favorecer la ganancia de peso e incrementar el rendimiento productivo de los animales. Sin embargo, debido a la creciente preocupación por las evidencias de aparición de microorganismos patógenos resistentes a estos antibióticos, lo cual representa una amenaza para la salud pública, su uso actualmente se ha visto bastante limitado. Sumado a ello, la presencia de residuos de antibióticos en productos animales destinados al consumo humano y la fuerte demanda de los consumidores por una cadena alimentaria libre de antibióticos, llevó a la Unión Europea a prohibir su uso en el año 2006 (Unión Europea, 2003), como parte de sus políticas para reducir los riesgos potenciales sobre la salud del consumidor final. Esta prohibición, consecuentemente, llevó al sector avícola a mejorar y optimizar las prácticas de manejo y bioseguridad de los planteles, así como, reforzar el control ambiental de las instalaciones y a realizar cambios en la composición de la dieta de las aves (Da Costa *et al.*, 2011).

En el Perú, según Resolución Directoral (N° 0091-2019-MINAGRI-SENASA-DIAIA) del Ministerio de Agricultura y Riego se dispuso la prohibición de la importación, comercialización, fabricación o elaboración de productos veterinarios que contengan colistina (Polimixina E) o cualquiera de sus sales. La promulgación de esta normativa obedece a la evidencia científica reunida por la Dirección de Insumos Agropecuarios e Inocuidad Agroalimentaria del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) que demuestra la existencia de microorganismos resistentes a la colistina, ameritando su preservación como herramienta terapéutica para la salud humana al estar, además, considerada dentro de la lista de agentes antimicrobianos de importancia crítica de máxima prioridad por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Diario Oficial El Peruano, 2019).

La restricción al uso de APC ha venido siendo adoptada en otras partes del mundo como Estados Unidos y varios países del Asia, llevando a los criadores y laboratorios proveedores a buscar nuevas

alternativas de reemplazo a su uso con la finalidad de reducir los problemas de tipo económico por el bajo rendimiento de los animales y los riesgos sanitarios que acarrea el retiro de los antibióticos, con el objetivo de disponer de productos alternativos naturales e inocuos para el consumidor final. Los ácidos orgánicos, enzimas, probióticos, prebióticos, péptidos antimicrobianos y compuestos fitogénicos han sido ampliamente reconocidos como alternativas de reemplazo al uso de APC en el alimento de animales de producción (Yang *et al.*, 2015a). Entre ellos, los aditivos fitogénicos han despertado notable interés en la industria avícola en la última década y se han venido incorporando paulatinamente a los programas de alimentación de aves comerciales, con el fin de mejorar su desempeño productivo y promover la salud a través del control de microorganismos patógenos a nivel entérico (Grashorn, 2010; Wallace *et al.*, 2010). En una reciente encuesta realizada a diferentes empresas del sector avícola a nivel global, se evidenció que un 81% de los participantes notificaron tener algún grado de producción sin antibióticos en sus establecimientos, mientras que, de éstas, el 50% usan aditivos fitogénicos en sus programas de reemplazo de antibióticos (Industria Avícola, 2019).

Los productos fitogénicos, en general, están constituidos por compuestos bioactivos naturales derivados de plantas que ejercen efectos positivos sobre la productividad y salud de los animales. Este efecto se debe en gran parte a la acción de algunas de sus moléculas bioactivas las cuales han sido asociadas a propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antivirales, antioxidantes, entre otras (Burt, 2004; Brenes y Roura, 2010). Dichos compuestos son obtenidos de las diferentes partes de la planta (semillas, frutos, raíces, tallos y hojas) de las diversas hierbas y especias aromáticas (como el ajo, orégano, tomillo, romero y canela), así como, de productos derivados los cuales se administran bajo la forma de extractos, oleorresinas y aceites esenciales (Windisch *et al.*, 2008; Puvaca *et al.*, 2013). Actualmente existe un creciente interés en el estudio de los aceites esenciales para la nutrición animal, ya que, tienen una actividad biológica mayor en comparación con la materia prima de la que son extraídos y solo requieren ser administrados en menores concentraciones.

Los mecanismos por los cuales los aditivos fitogénicos ejercen su acción en el crecimiento de los animales, están relacionados con la modulación de la microbiota intestinal, incremento de la

digestibilidad y absorción de nutrientes, además de mantener la integridad del tracto gastrointestinal y presentar una actividad antioxidante (Amad *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2013; Pourhossein *et al.*, 2015). Además de ello, debe considerarse que el efecto de un fitogénico depende en gran medida de la composición de los ingredientes activos contenidos en el mismo, lo cual explicaría en gran medida que existan resultados variables e inconsistentes en los diferentes estudios realizados hasta ahora. Aunque los efectos beneficiosos de muchas de las alternativas desarrolladas para aves comerciales han sido bien demostrados, aún no existe suficiente información en lo que se refiere a su modo de acción, las ventajas y desventajas de su uso en el campo. En este contexto, la presente revisión busca poner al alcance de los profesionales del sector avícola y estudiantes, un documento actualizado sobre las experiencias y conocimientos recientes con el uso de aditivos fitogénicos en las dietas avícolas y su efecto en el mejoramiento de la producción y salud intestinal en pollos de engorde.

1. CONCEPTOS SOBRE ADITIVOS FITOGÉNICOS

Los fitogénicos, conocidos también como fitobióticos o productos botánicos, son comúnmente definidos como compuestos de origen vegetal que son administrados en la dieta en determinados niveles con el objetivo de mejorar el rendimiento productivo animal. En una dimensión más amplia de sus efectos, los fitogénicos se han asociado a la mejora de la calidad de la dieta, las condiciones de higiene y mejora en la calidad de los alimentos derivados de los animales (Marcinčák *et al.*, 2011; Dhama *et al.*, 2015; Gadde *et al.*, 2017).

Aunque estas definiciones están impulsadas por el propósito del uso, otros términos se usan comúnmente para clasificar la gran variedad de compuestos fitogénicos, principalmente con respecto a su origen y procesamiento, como hierbas, especias (plantas con un olor o sabor intenso comúnmente empleado en la comida humana), aceites esenciales (compuestos lipofílicos volátiles derivados de la extracción en frío o por destilación de vapor o alcohol), u oleorresinas (extractos derivados de disolventes no acuosos) (Kumar *et al.*, 2014; Lillehoj *et al.*, 2018). Los fitogénicos incluyen una amplia gama de materiales vegetales, la mayoría de los cuales tienen una larga historia en nutrición humana, donde se han utilizado como saborizantes, conservantes de alimentos y para el tratamiento de diversas afecciones en la medicina tradicional, bajo formas sólidas, secas, molidas, extractos o aceites esenciales (Guo *et al.*, 2003).

Todas las plantas producen compuestos químicos de forma natural como parte de sus actividades metabólicas normales. De ellas, un grupo de compuestos denominados primarios sirven como nutrientes principales para realizar funciones básicas y se encuentran en todas las plantas, como carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Mathé, 2015). Por otro lado, compuestos no esenciales denominados metabolitos secundarios (aceites esenciales y compuestos fenólicos), se encuentran en un rango más pequeño de plantas, algunos de los cuales se encuentran en un género o especie en particular y por tener mecanismos de acción específicos como, por ejemplo, servir como

mecanismos de defensa o en el proceso reproductivo (Hashemi y Davoodi, 2011; Kim *et al.*, 2016). En la elaboración de productos a base de plantas se utilizan principalmente los metabolitos secundarios.

La actividad biológica de una planta está estrechamente relacionada con los químicos o metabolitos secundarios que contiene y representan un grupo diverso de productos naturales, algunos de los cuales pueden ser nutricionalmente importantes, pero en su mayoría no tienen valor nutricional o pueden presentar efectos antinutricionales. Estos productos se pueden clasificar en grupos químicos principales como aceites esenciales, alcaloides, ácidos, esteroides, taninos, saponinas, etc.; cada uno de los cuales pueden tener un método de extracción específico (Hashemi y Davoodi, 2011; Yitbarek, 2015).

Se ha descrito que la mayoría de compuestos fitogénicos representan un grupo de alternativas naturales reconocidos generalmente como seguros, libres de residuos y pueden representar una alternativa eficaz en la promoción del crecimiento en animales en comparación con los antibióticos sintéticos o los productos químicos inorgánicos. Sin embargo, la composición compleja de los compuestos fitogénicos hace difícil realizar evaluaciones sistemáticas e integrales de su eficacia y seguridad (Hashemi *et al.*, 2008). Ante ello, existen cuestionamientos en la comunidad científica sobre aspectos relacionados a su calidad, estandarización, seguridad clínica y eficacia. Además, los desafíos en el uso de compuestos fitogénicos como aditivos para dietas animales pueden incluir efectos secundarios potenciales (olor/sabor desagradable, toxicidad, residuos en tejidos), problemas de asuntos regulatorios y posibles interacciones con otros ingredientes alimenticios (Grashorn, 2010; Yang *et al.*, 2015a).

Según Hashemi y Davoodi (2011) los fitogénicos se clasifican según la parte utilizada (planta entera, raíz, tallo, corteza, hoja, flor, fruto y semilla), tipo de planta (pastos, hierbas, arbustos, trepadores y árboles), hábitat (tropical, subtropical y templado), valor terapéutico (antibacteriano, antifúngico, antiinflamatorio, antiulceroso, antioxidante, antiviral, anticancerígeno, inmunoestimulador, etc.) y vías de administración (tintura, decocción, maceración, jarabe, inhalación, etc.), además de la clasificación botánica habitual. En general, con respecto a la derivación biológica, formulación, descripción química

y pureza; los fitogénicos comprenden una gama muy amplia de sustancias y se pueden clasificar cuatro subclases en alimentación animal: 1) hierbas (producto de floración, no leñoso y plantas no persistentes), 2) productos botánicos (partes enteras o procesadas de una planta, por ejemplo, raíz, hojas, corteza), 3) aceites esenciales (extractos hidrodestilados de compuestos volátiles vegetales) y 4) oleorresinas (extractos basados en solventes no acuosos) (Windisch *et al.*, 2008).

En los últimos años, los aditivos fitogénicos han sido empleados como promotores de crecimiento naturales en la industria avícola y porcina. Una amplia variedad de hierbas y especias han sido evaluadas en la industria avícola como el tomillo, orégano, romero, ajo, té verde, jengibre, comino, canela, etc.; por su potencial aplicación como alternativa de reemplazo a los APC (Gadde *et al.*, 2017). Muchos de ellos han sido aceptados y reconocidos como sustancias seguras para su uso en la alimentación de animales y humanos en Estados Unidos por la FDA (siglas de la Food and Drug Administration o Administración de Alimentos y Medicamentos), especialmente bajo la forma de aceites esenciales (Lee *et al.*, 2004a; Jang *et al.*, 2007). Por otro lado, en Europa su uso en dietas animales ha sido autorizada por la Directiva del Consejo 70/524 / CEE Cap. III de la Comunidad Europea, agrupándolos en la categoría de materias primas como “aditivos organolépticos” que se refiere a sustancias aromáticas y saborizantes (Suzuki *et al.*, 2008).

En la revisión llevada a cabo por Kohlert *et al.* (2000) sobre la absorción, metabolismo y excreción de aceites esenciales en humanos y animales, encontraron que la mayoría de estudios sugirieron que las sustancias bioactivas se absorben rápidamente después de la administración oral, pulmonar o cutánea y la mayoría se metabolizan y eliminan a través de los riñones en forma de conjugados de fase II-principalmente glucoronidos o se exhalan como dióxido de carbono. Esto permite asumir que su acumulación en el cuerpo es poco probable por la rápida eliminación y corta vida media, aunque, en el caso de pollos de engorde, el uso continuo de dietas conteniendo aceites esenciales no cuentan con períodos de retiro, lo que lleva a tener que realizar más estudios que descarten la posibilidad de su depósito en varios tejidos (Lee *et al.*, 2004a). La absorción, actividad metabólica, así como, el

potencial de acumulación en tejidos comestibles, difieren mucho entre los compuestos de origen vegetal y deben evaluarse individualmente para cada aditivo fitogénico (Windisch *et al.*, 2008).

A continuación, se presenta el cuadro 1, la cual contiene las familias y especies de plantas más utilizadas en la elaboración de aditivos fitogénicos.

Cuadro 1. Familias y especies de plantas más utilizadas en la elaboración de aditivos fitogénicos

(adaptado de Franz *et al.*, 2020)

Familia	Especies representativas
Lamiaceae	<i>Thymus sp.</i> (tomillo), <i>Origanum sp.</i> (orégano), <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero), <i>Mentha sp.</i> , <i>Salvia sp.</i>
Apiaceae	<i>Carum carvi</i> (comino), <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo), <i>Levisticum officinale</i> (apio), <i>Pimpinella sp.</i> (anís)
Asteraceae	<i>Artemisia sp.</i> (ajenjo), <i>Cynara sp.</i> (alcachofa), <i>Taraxacum officinale</i> (diente de león), <i>Silybum marianum</i> (cardo mariano), <i>Echinacea sp.</i> , <i>Inula helenium</i> , <i>Stevia rebaudiana</i> , <i>Tagetes sp.</i>
Rosaceae	<i>Malus sylvestris</i> (manzano), <i>Prunus sp.</i> (ciruela), <i>Rosa sp.</i> , <i>Rubus fruticosus</i> (zarzamora), <i>Crataegus sp.</i> , <i>Filipendula ulmaria</i>
Alliaceae	<i>Allium sp.</i> (ajo)
Brassicaceae	<i>Armoracia sp.</i> (rábano), <i>Brassica sp.</i> (mostaza)
Cannabaceae	<i>Cannabis sp.</i> , <i>Humulus lupulus</i> (marihuana, lúpulo)
Fabaceae	<i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>Trigonella sp.</i>
Gentianaceae	<i>Gentiana sp.</i>
Lauraceae	<i>Cinnamomum sp.</i> (canela), <i>Laurus nobilis</i> (laurel)
Myrtaceae	<i>Syzygium sp.</i> (clavo de olor), <i>Melaleuca alternifolia</i> (té), <i>Pimenta sp.</i>
Papaveraceae	<i>Eschscholtzia californica</i> , <i>Macleaya cordata</i> , <i>Papaver sp.</i> (amapolas)
Rutaceae	<i>Citrus sp.</i> (cítricos)
Solanaceae	<i>Capsicum sp.</i> (ajíes, rocoto)
Zingiberaceae	<i>Zingiber officinale</i> (jengibre), <i>Curcuma sp.</i> , <i>Elettaria cardamomum</i>

El empleo de alternativas al uso APC para la industria de proteína animal, entre las que se encuentran los fitogénicos, obedece principalmente a la necesidad de obtener productos como carne, leche y huevos provenientes de animales criados sin antibióticos, así como, la de reducir emisiones hacia el medio ambiente y mejorar la sostenibilidad de los recursos, tratando de optimizar los costos de producción a través de una mejora de la conversión alimenticia (Stanacev *et al.*, 2011; Puvaca *et al.*, 2013). Es en este contexto global que el uso de este tipo de productos represente una herramienta real y positiva para la producción avícola, aunque es necesario hacer mayores investigaciones en este campo.

2. COMPOSICIÓN DE LOS ADITIVOS FITOGÉNICOS Y FACTORES QUE INFLUYEN EN SU PRODUCCIÓN Y SEGURIDAD

Todas las plantas producen compuestos químicos como parte de sus actividades metabólicas normales. Como se mencionó en el primer capítulo, estos compuestos se dividen en metabolitos primarios, como azúcares y grasas, producidos por todas las plantas para sus funciones básicas; y metabolitos secundarios, compuestos no esenciales que se encuentran en un rango más reducido de plantas, dentro de un género o especie en particular.

Los metabolitos secundarios se pueden clasificar en grupos principales de compuestos químicos, como polifenoles, carotenoides, alcaloides, ácidos, polisacáridos, terpenos, etc. (cuadro 2). Esto se debe en gran medida a que los metabolitos secundarios de las plantas son un grupo enormemente variable en términos de su número, heterogeneidad estructural y distribución, teniendo además la oportunidad de interactuar entre sí (Campos-Vega y Dave, 2013). Por otro lado, cada uno de estos grupos de productos químicos puede tener un método de extracción efectivo preferido según su aplicación o uso. Otro punto a tener en cuenta es que muchos metabolitos secundarios presentan una variedad de efectos bioquímicos y fisiológicos en humanos y animales; pero, para ejercer esta actividad, pueden requerir diferentes concentraciones plasmáticas o tisulares para obtener efectos óptimos (Hashemi y Davoodi, 2011).

Los extractos, tinturas y aceites esenciales de plantas están actualmente incluidos en el Registro de Aditivos para Alimentos Balanceados de la Unión Europea siguiendo el Reglamento (CE) 1831/2003. Sin embargo, el número inicial de más de 500 registros notificados como "productos naturales – botánicamente definidos", se vio reducido significativamente a 156 ingresos en la versión actual 7/2018, siendo el resto de plantas retiradas debido a razones económicas, funcionales, de seguridad o regulatorias (Mayer *et al.*, 2014; Franz *et al.*, 2020). El cuadro 3 presenta las familias y especies de plantas más empleadas y comercializadas para la producción de aditivos fitogénicos.

Cuadro 2. Clasificación de compuestos según su grupo químico (adaptado de Campos-Vega y Dave, 2013)

Grupo químico	Compuesto químico
Polifenoles	Flavanonas, flavonas, flavonoles, dihidroflavonoles, isoflavonas, antocianidinas, proantocianidinas, fenoles, ácidos benzoicos, taninos, cumarinas, xantonas
Polisacaridos	Celulosa, hemicelulosa, arabinosilanos, arabinogalactanos, polifruktosa, polidextrosa, metilcelulosa, inulina, oligofruktanos, oligosacáridos, mucílago, pectinas
Alcaloides	Berberina, cocaína, codeína, cafeína, morfina, nicotina, papaverina, oxicodina
Lectinas	Concanavalina A, ricina, aglutinina del germen de trigo, aglutinina de la soya, aglutinina del maní
Terpenos	Geraniol, calotropina, estrigol, famesana
Carotenoides	β -caroteno, criptoxantina, luteína, zeaxantina
Poliacetilenos	Falcarinol, falcarindiol, panaxidiol, oenantetol
Capsaicinoides	Capsaicina, dihidrocapsaicina, homocapsaicina, nonivamida

Los factores que influyen en la composición y producción de aditivos fitogénicos están relacionados a la *biología de la planta, ecología, a su cultivo y procesamiento*, así como, los *métodos de aislamiento o extracción* de sus compuestos. Estos factores, a su vez, son los que determinan la calidad y seguridad de las sustancias bioactivas que conformarán el futuro aditivo.

En relación a la *biología de la planta*, se ha identificado que los principios activos se sintetizan y se acumulan, con cierta frecuencia, en células, tejidos y órganos específicos de la planta. Esto hace que el contenido y composición de los compuestos varíe de acuerdo al tipo de órgano o parte analizada en la planta (raíz, tallo, hojas, flores, frutos, etc.). Las diferencias encontradas entre los compuestos activos de los diferentes órganos de la planta pueden explicarse en parte por la existencia de diferentes estructuras secretoras que se distribuyen dentro del cuerpo de la planta (Applegate *et al.*, 2010). Por

ejemplo, los aceites esenciales en las especies de la familia Lamiaceae se acumulan en la epidermis, mientras que, los alcaloides tropanos de *Atropa*, *Datura*, *Hyosciamus* (Solanaceae) se sintetizan en las raíces para luego ser transportados a las partes aéreas de las plantas (Mathé, 2015). Otro ejemplo, es el estudio de Pino *et al.* (2001) quienes compararon la composición química de los aceites esenciales de los brotes y las hojas del clavo de olor encontrando diferencias significativas en el contenido de sus componentes principales.

Cuadro 3. Principales constituyentes y partes utilizadas de hierbas y especias frecuentemente usadas como aditivos fitogénicos (adaptado de Mathé, 2007; Windisch *et al.*, 2008)

Nombre común	Nombre científico	Principales constituyentes	Parte utilizada*
Ajíes, pimienta	<i>Capsicum spp.</i>	Capsaicina, piperina	fruto
Ajo	<i>Allium sativum L.</i>	Dialildisulfido, aliina, aliciina	bulbo
Anís	<i>Pimpinella anisum</i>	Anitol	semillas
Canela	<i>Cinnamomum cassia</i>	Cinamaldehido	corteza
Clavo	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol	brote
Jengibre	<i>Zingiber officinale</i>	Gingerol	rizoma
Menta	<i>Mentha piperita</i>	Mentol, carvacrol	hojas
Orégano	<i>Oreganum vulgare</i>	Carvacrol, timol	hojas
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alcanfor, cineol, borneol	hojas
Tomillo	<i>Thymus vulgare</i>	Timol, carvacrol	hojas

* Partes utilizadas en forma completa, molida o para obtener extractos.

Desde hace tiempo se ha establecido que el sitio fisiológico básico para la síntesis de metabolitos secundarios se puede encontrar en las células vegetales y que la síntesis / acumulación de varios de estos metabolitos es específica de un órgano, es decir, se localizan en las células / tejidos específicos de órganos vegetales en uno o varios períodos de la vida de la planta. En la práctica, la utilización de la mayoría de órganos y tejidos vegetales que contienen los metabolitos secundarios deseados (calidad y cantidad óptima) se basa en estos aspectos para determinar las fechas de cosecha y recolección de las especies relevantes. Sin embargo, durante el crecimiento de la planta puede existir una variabilidad en su producción, debido a que los procesos metabólicos cambian a lo largo del ciclo de vida de una planta,

lo que puede influir en la síntesis y la acumulación de principios activos en sus órganos (tiempo y variabilidad específica) (Campos-Vega y Dave, 2013).

Las plantas pertenecen a numerosas familias las cuales, con frecuencia, producen ingredientes activos con características similares debido a que poseen similitudes en las vías de su biosíntesis. Es así, por ejemplo, que la familia de plantas Lamiaceae comprende una gran cantidad de especies que contienen aceites esenciales (lavanda, tomillo, romero, salvia, etc.), mientras que, otras familias de plantas como las Solanaceae, se caracterizan por incluir varias especies productoras de alcaloides (belladona, manzana espinoza, tabaco, etc.) (Campos-Vega y Dave, 2013).

La producción de compuestos químicos extraídos de las plantas es significativamente influenciada por *factores ecológicos y condiciones climáticas*. El entorno físico, incluida la luz, el agua, la temperatura y las propiedades del suelo, afectan el desarrollo de las plantas, así como, la naturaleza de los metabolitos secundarios que ésta contiene. Este principio explicaría el mayor contenido de p-cimeno en lugar de carvacrol en los aceites esenciales obtenidos en el orégano cosechado a principios de la primavera o finales del otoño (Kokkini *et al.*, 1997). Como resultado, la calidad del producto difiere en la fecha de cosecha y los impactos ecológicos en el sitio de producción (Franz y Novak, 2016).

Figueiredo *et al.* (2008) mencionan que un aumento en la luz y la temperatura influye en el incremento de la producción de aceites esenciales en las plantas. Por otro lado, el suministro de agua también es un factor esencial, aunque, existen reportes que el estrés hídrico puede aumentar la producción de aceites esenciales en varias especies (p.ej. *Artemisia dracuncululus*, *Mentha piperita*). El tipo y composición de suelo también son considerados como factores determinantes. Además del suministro de nutrientes, otros factores del suelo como el pH son también importantes para el desarrollo y producción de bioactivos en las plantas (Figueiredo *et al.*, 1997).

Otro estudio que evidenció la relevancia de las condiciones climáticas sobre la producción de bioactivos fitogénicos, es el realizado por Vokou *et al.* (1993) quienes investigaron la composición de

Origanum vulgare ssp. Hirtum para carvacrol, timol, γ -terpinene y p-cymene en 23 localidades diferentes en Grecia. En este estudio se demostró que cuanto más cálido era el clima, mayor era su concentración total en el aceite esencial producido. Además, se encontró que la altitud pareció ser un factor ambiental importante para la producción de este tipo de compuestos, registrándose altos valores de contenido de aceites esenciales a bajas altitudes.

El *origen y procesamiento de la planta* es decisivo en la determinación de la calidad del material a ser extraído. Inicialmente la extracción de compuestos de las plantas era para uso principalmente local y la materia prima provenía de poblaciones silvestres, sin embargo, la demanda industrial por extractos a base de plantas no pudo cumplir con estos métodos tradicionales, viéndose vulneradas las poblaciones nativas, debido principalmente a prácticas de recolección frecuentes carentes de un plan de sostenibilidad de los recursos (Leaman y Salvador, 2005). Como una solución a este problema, la industria del cultivo intensivo actual, se equipó con toda la tecnología disponible capaz de asegurar altos rendimientos de compuestos bioactivos de gran calidad y, en algunos casos, permitieron desarrollarse y aprovecharse fuera de su área natural como la salvia (*Salvia officinalis*) (Mathé, 2009).

A pesar de la gran diversidad de especies de plantas y sustancias involucradas, algunos aspectos generales en el proceso de producción de aditivos fitogénicos son más o menos similares. Entre éstos, los principales pasos involucrados son: prácticas de recolección y procesamiento, secado, envasado y almacenamiento. Sobre el primer paso, el conocimiento de los hábitats vegetales puede facilitar la identificación de especies que son difíciles de distinguir, como por ejemplo *Tussilago farfara* y *Petasites hybridus* (Mathé, 2015). También puede proporcionar información útil sobre la carga ambiental de las plantas, es decir, áreas que deben evitarse debido a la contaminación por metales pesados, residuos de pesticidas y herbicidas, etc.; así como, áreas bajo protección ambiental, donde la recolección está sujeta a permisos especiales. Debido a la gran cantidad de factores que influyen, la determinación exacta del tiempo de cosecha es un tema complejo que requiere de más estudios según la especie de planta involucrada, especialmente para aquellas de naturaleza silvestre (Mathé, 2009).

Debido a los cambios estacionales en los procesos metabólicos de las plantas y, por lo tanto, en el nivel de sustancias activas, se ha convertido en una práctica común que los órganos subterráneos (raíces, rizomas) se recojan en el período de latencia durante el invierno, mientras que las cortezas se recogen en la primavera. Por razones similares, los brotes se recogen después de la floración, mientras que, para las hojas esto se hace en el período en el que se encuentran completamente abiertas. El momento óptimo para la recolección de flores suele ser en la floración completa, cuando la planta completa su desarrollo; mientras que, en el caso de las hierbas al inicio de este proceso (Mathé, 2015).

Parece existir un consenso de que la elaboración de plantas medicinales en el medio silvestre seguirá siendo la principal fuente de materias primas para la industria. En este sentido, la selección de los métodos / técnicas de recolección apropiados para limitar los daños y perjuicios han ganado especial importancia (Leaman y Salvador, 2005). Debe tenerse en cuenta, por otro lado, que las plantas medicinales han evolucionado conjuntamente con los ecosistemas que forman sus hábitats naturales, por lo tanto, su transferencia a campos cultivados no es tan simple como podría parecer. Este movimiento puede producir modificaciones sustanciales en el crecimiento de las plantas, el desarrollo y el contenido de los principios activos, lo que influye en la aceptación física para su cultivo y el valor químico de los productos de la planta. Esto demandaría el conocimiento y manejo de los factores ecofisiológicos que coincidan con los requisitos ambientales necesarios para que una especie silvestre crezca y se reproduzca en condiciones controladas (Warwick y Stewart, 2005).

Como los bioactivos se encuentran contenidos en partes o tejidos especiales de una planta, tienen que ser obtenidos a través de *métodos de aislamiento o extracción* desde la ubicación donde estos se acumulan antes de su utilización. Dependiendo de la naturaleza de la parte (órgano) donde éstos se producen, pueden ser obtenidos a través de diferentes métodos de aislamiento físicos y químicos, los cuales hacen que la tasa de eficiencia y rendimiento influyan en la cantidad y calidad del material fitogénico obtenido.

Las especias y hierbas para aditivos fitogénicos se pueden usar en forma sólida, seca, triturada o molida; o como extractos crudos, concentrados o secos. Además, se pueden clasificar en (Mathé, 2009; Franz *et al.*, 2020):

- Aceites esenciales: sustancias lipofílicas volátiles obtenidas solo por medios físicos como prensado (usado en frutos cítricos, donde el fruto es exprimido mecánicamente en frío), destilación al vapor (para especies de la familia Labiatae y Apiaceae), hidro-destilación de flores (rosas, jazmines, naranjo amargo), hidro-difusión, entre otros.
- Extractos / tinturas: pueden ser acuosas o lipofílicas, y se obtienen generalmente por maceración o extracción por fluidos supercríticos. Este último es un método a través del cual un fluido supercrítico (con propiedad de difundirse como un gas y disolver sustancias como un líquido) como el hexano o el dióxido de carbono supercrítico, se utiliza como solvente por su capacidad de extraer ciertos compuestos químicos bajo la combinación de determinada temperatura y presión. Se emplea principalmente con muestras de flores, las cuales no pueden ser prensadas ya que contienen cantidades muy pequeñas de aceites volátiles o, cuando sus componentes se desnaturalizan fácilmente en el transcurso de la destilación al vapor a alta temperatura.
- Oleorresinas: extractos derivados de solventes polares o apolares o por fluidos supercríticos. Usado frecuentemente en especies de *Capsicum*.

El *control de calidad* siempre ha sido un tema de debate en la producción y utilización de plantas para la alimentación humana y animal. Los materiales vegetales se utilizan como remedios caseros, productos farmacéuticos de venta libre y materias primas para la industria farmacéutica y, por lo tanto, representan un porcentaje significativo del mercado mundial de medicamentos (OMS, 2000). Los requisitos de control de calidad y los métodos de garantía de control de calidad están determinados por varias farmacopeas internacionales, nacionales y regionales, donde las ciencias botánicas tienen un papel básico establecido (Mathé, 2015).

Las últimas décadas han visto una mejora de la trazabilidad y seguridad de los productos naturales. Esto en gran medida se debe a la creciente fiabilidad en la tecnificación de las prácticas de

producción y recolección de especies vegetales. Por otro lado, la introducción de técnicas de control y el uso de estándares modernos han tenido éxito en la preparación y procesamiento de muestras, como la microextracción en fase sólida, la extracción de fluido supercrítico, la extracción a presión, la extracción asistida por microondas y la microextracción por solvente, entre otras (Huie, 2002). Los avances en la genómica de las plantas y la caracterización del perfil de metabolitos vienen ofreciendo posibilidades en la exploración de la complejidad de la capacidad bioquímica de las plantas (Oksman-Caldentey e Inze, 2004; Dunn y Ellis, 2005), pero principalmente, para la autenticación de material biológico para evitar la identificación errónea, mezclas y adulteraciones, aunque para muchas especies de plantas todavía no existen métodos apropiados (Hebert *et al.*, 2003; Novak *et al.*, 2007).

En cuanto al análisis químico del material vegetal para la elaboración de productos fitogénicos, se ha encontrado una gran variación intraespecífica en la evaluación de diferentes lotes de una misma especie de planta, lo cual influye considerablemente en su calidad y eficacia. Esto cobra mayor relevancia cuando la especie en cuestión puede contener sustancias que pueden afectar la salud como, por ejemplo, alquenilbencenos o alcaloides de pirrolizidina, detectados en varios materiales herbales contaminados con malezas como *Senecio sp.* (Franz *et al.*, 2020). En tal sentido, no solo la especie, sino que el quimiotipo, la parte de la planta y la etapa de desarrollo son decisivos para la calidad de un producto a base de hierbas, pudiendo ocurrir una variación de lote a lote que debe tenerse en cuenta (Barra, 2009).

Los aditivos fitogénicos se caracterizan en general por los compuestos principales que contienen. Sin embargo, en algunos casos el principio activo no se identifica plenamente como en el caso de la valeriana (*Valeriana officinalis*), mientras que, en otros casos los compuestos actúan como precursores, como es el caso de la salicina obtenida de la corteza del sauce, la cual se metaboliza primero en derivados de ácido salicílico (Perry *et al.*, 1996; Patočka y Jakl, 2010). Con mucha frecuencia también se utilizan sustancias marcadoras para la identificación del producto, aunque éstas no tengan relación directa con la actividad, pero son características de la especie de planta. En las preparaciones de plantas, por lo general, más de un compuesto es funcional y la interacción de varias sustancias es evidente, ya

que, pueden ocurrir efectos aditivos o adversos, lo que hace más compleja la situación. Por lo tanto, los extractos estandarizados basados en un nivel de varios componentes activos se consideran como el "principio activo" (Wallace *et al.*, 2010).

La estabilidad y la calidad constante de los productos herbales solo pueden garantizarse si los materiales iniciales están adecuadamente definidos. Entre los factores más importantes que pueden influir en la estabilidad de los componentes de las plantas aromáticas se encuentran el grado de conminución (corte, trituración y molienda), las condiciones de almacenamiento y el tipo de sustancias activas (Tiwari *et al.*, 2013). Por lo tanto, los productos a base de plantas deben almacenarse a temperatura ambiente y la humedad de los productos no debe exceder el 14% de humedad para evitar el crecimiento microbiano. Otro factor a considerar especialmente para las hierbas y flores es que sus aceites esenciales, como compuestos volátiles, se reducirán durante el almacenamiento; mientras que, para el caso de productos a base de frutas, semillas y raíces esto no resulta tan relevante (Yang *et al.*, 2013).

Los aditivos fitogénicos empleados en alimentación animal pueden ser preparaciones individuales (por ejemplo, el orégano, tomillo o ajo) o combinaciones de éstas (extractos de plantas, mezclas de hierbas, mezclas de especias, mezclas de aceites). Si bien la lista actual de productos fitogénicos disponibles en animales de producción es muy amplia, puede mencionarse en el mercado actual para avicultura los productos Digestarom (carvacrol, anetol y limoneno), Sangrovit (sanguinarina), Crina (timol y otros activos), Xtract (carvacrol, aldehído de canela), Biostrong (timol y anetol), debido al respaldo científico-técnico que presentan sobre sus efectos y seguridad (Amad *et al.*, 2011; Karimi *et al.*, 2014; Paraskeuas y Mountzouris, 2019; Pirgozliev *et al.*, 2019).

Los niveles de administración de los aditivos fitogénicos para dietas de aves comerciales pueden variar en un amplio rango. Esto dependerá de si se usan extractos simples de plantas o de sus aceites esenciales respectivos, siendo las diferencias de inclusión en el alimento de hasta diez veces (Mountzouris *et al.*, 2009). En el caso de productos secos y extractos de plantas el rango puede ir entre

0.1 y 40 g/kg de alimento y, por otro lado, los aceites esenciales y los ingredientes individuales de plantas se administran a un nivel significativamente inferior (0.02-1.0 g/kg) (Windisch *et al.*, 2009). Dado que la composición real de cada activo de la planta o aceite esencial puede variar sustancialmente entre los diferentes estudios, deben considerarse solo como referenciales los niveles de inclusión anteriores. La suplementación con extractos o aceites esenciales de plantas en el agua potable es aún menor debido a la mayor cantidad de ingesta de agua que la ingesta de alimento (aproximadamente 1.8:1) (Grashorn, 2010).

La actividad metabólica, absorción y potencial de acumularse en los tejidos comestibles varían mucho entre los compuestos de origen vegetal, por lo que, deben ser evaluadas individualmente para cada aditivo fitogénico (Windisch *et al.*, 2008). Al respecto, se ha mencionado que la piperina, compuesto presente en varias especies de pimientos, puede ser metabolizada en el hígado, tal como lo demostró un estudio en ratas en el cual se observó que, después de su absorción por los enterocitos, es rápidamente biotransformada en el hígado por la desmetilación del grupo metilendióxido. La metabolización ocurre en el sistema microsomal del citocromo P-450 de los hepatocitos y es rápidamente excretada, sin dejar residuos detectables en los tejidos después de 24 horas de su ingestión (Bhat y Chandrasekhara, 1986).

3. EFECTOS DE LOS ADITIVOS FITOGÉNICOS SOBRE EL MEJORAMIENTO DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD INTESTINAL

Una amplia variedad de hierbas y especias se han usado como promotores del crecimiento de tipo natural en las industrias de rumiantes, cerdos y aves comerciales, sin embargo, el conocimiento sobre los modos de acción, así como, los aspectos de su aplicación son aún bastante limitados. Estos pueden depender en mayor o menor grado de la composición y combinación de los ingredientes activos en el producto que se utiliza y algunos efectos sólo pueden ser posibles cuando una combinación definida de ingredientes es conocida.

Los efectos beneficiosos de los fitogénicos se han atribuido a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Además, pueden influir en la modificación de la microbiota y reducir los metabolitos tóxicos microbianos en el intestino, lo que resulta en una reducción en el desafío en el ambiente intestinal y favorecer la acción del sistema inmune, mejorando así el rendimiento productivo del ave (Hashemi y Davoodi, 2011; Upadhaya y Kim, 2017). La figura 1 esquematiza los principales mecanismos bajo los cuales los extractos de plantas ejercen su efecto positivo en la productividad animal.

En base a la literatura actual, se ha identificado diferentes efectos bajo los cuales los fitogénicos ejercen la mejora en la producción y salud intestinal de las aves. Para la presente revisión se han agrupado en las siguientes categorías: actividad sensorial y estímulo del consumo, mejora del rendimiento productivo, actividad antimicrobiana y modulación de la microbiota intestinal, actividad antioxidante y antiinflamatoria, mejora en la digestibilidad de nutrientes, efecto sobre la morfología y función intestinal, así como, una revisión a la actividad anticoccidial; las cuales se desarrollan a continuación.

3.1 ACTIVIDAD SENSORIAL Y ESTÍMULO DEL CONSUMO

La inclusión de aditivos alimenticios a base de plantas puede influir positiva o negativamente en las características organolépticas de la dieta. Esto cobra mayor significancia en especies sensibles al aroma y el sabor del alimento como por ejemplo el cerdo, especie donde puede considerarse como un factor importante que determina el rendimiento general. Sin embargo, en el caso de aves los estudios apoyan una menor sensibilidad por factores inherentes a la especie (características anatómo-fisiológicas) haciéndolos más tolerantes a la exposición de niveles adecuados de aceites esenciales de plantas en la dieta que los mamíferos (Roura *et al.*, 2008).

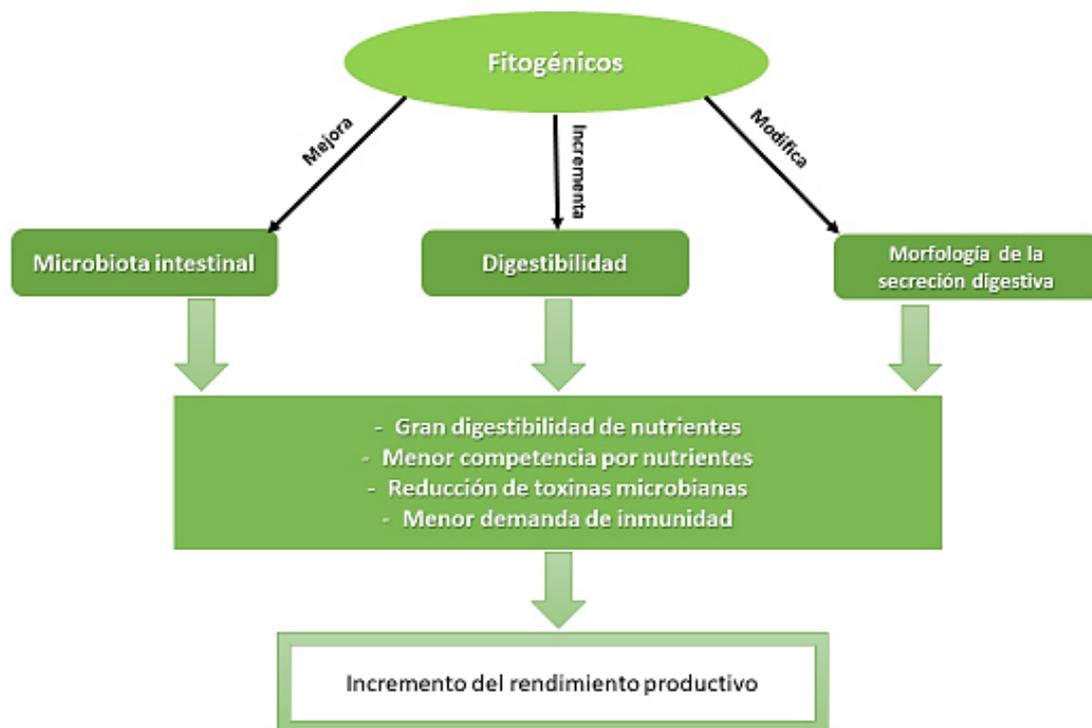


Figura 1. Principales mecanismos bajo los cuales los extractos de plantas ejercen su efecto positivo en la productividad animal (adaptado de Hashemi y Davoodi, 2011)

Respecto a la influencia del uso de aditivos fitogénicos sobre el consumo de alimento, existen numerosos estudios discordantes en sus resultados. La mayoría no han mostrado una mejora en esta variable productiva, ya sea, en la forma de hierbas molidas o como aceites esenciales incluidos en las

dietas de aves comerciales (Tiihonen *et al.*, 2010; Zhai *et al.*, 2018). Otros estudios llevados a cabo por Halle *et al.* (2004) y Amad *et al.* (2011) reportaron que la ingesta diaria de alimento de pollos de engorde se redujo numéricamente al incrementar los niveles en la dieta de una mezcla de aceites esenciales de tomillo, anís y orégano, en comparación con el grupo control. Del mismo modo, Cabuk *et al.* (2006) y Symeon *et al.* (2010) observaron una ingesta significativamente reducida del alimento de pollos por efecto de la inclusión de aceites esenciales de una o varias plantas combinadas como orégano, laurel, salvia, hinojo, arrayán y cáscara de cítricos. Una posible explicación para la disminución en el consumo de alimento es que los aceites esenciales poseen un olor irritante y un sabor picante, lo que hace que la palatabilidad de la dieta sea desagradable. Las aves en particular pueden responder a bajos niveles de especias en el alimento aumentando las secreciones relacionadas al proceso digestivo sin rechazar significativamente el alimento, a diferencia de los mamíferos que responden con un mayor grado de rechazo al consumo (Brenes y Roura, 2010).

Contrariamente a lo anterior, algunos estudios a nivel experimental en pollos de engorde han encontrado un incremento en el consumo por la adición de fitogénicos en el alimento, con la consideración que éstos en condiciones de desafío biológico con diferentes patógenos aviares. Al respecto, se han reportado casos de incremento significativo del consumo en pollos desafiados por coccidias que recibieron aceite esencial de orégano (Giannenas *et al.*, 2003), orégano molido (Giannenas *et al.*, 2004), hojas de té molido (Florou-Paneri *et al.*, 2004) y mezclas de extractos de hierbas que contienen componentes activos de *Echinacea angustifolia*, *Cinchona succirubra*, *Ribes nigrum* y *Agrimonia eupatoria* (Christaki *et al.*, 2004). Además, un aditivo fitogénico a base de carvacrol mejoró la ingesta de alimento en pollos desafiados con *Campylobacter* (Arsi *et al.*, 2014; Kelly *et al.*, 2017). En contraste con estos resultados, Kurekci *et al.* (2014) encontraron que dietas comerciales que incluyeron extractos de *Eremophila glabra*, *Acacia decurrens* y mirto de limón (cineol, a-terpineol y terpinene-4-ol) no afectaron el consumo de alimento en los pollos con *Campylobacter*.

3.2 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y MODULACIÓN DE MICROBIOTA INTESTINAL

Las plantas sintetizan comúnmente sustancias para su defensa contra agentes externos que pueden afectar su integridad. Además, pueden producir metabolitos secundarios como parte de su crecimiento y desarrollo normales o, como respuesta al estrés, que pueden ejercer un efecto antimicrobiano. Según diversos estudios, este efecto juega un rol relevante en relación a su influencia sobre la estabilización del ecosistema intestinal, ya sea en el intestino delgado o en el ciego, al favorecer una mejor utilización del alimento y disminuir la exposición a agentes patógenos que generan trastornos asociados con la digestión y el metabolismo que finalmente deprimen el crecimiento de las aves (Skoufos *et al.*, 2016; Tzora *et al.*, 2017).

Se conoce la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, los cuales fueron ampliamente investigados en varios ensayos *in vitro*. Al respecto, la concentración mínima inhibitoria (CMI) se puede describir como la concentración más baja de un agente antimicrobiano o químico que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de la incubación. La CMI se considera la medida de laboratorio más básica de la actividad de un agente antimicrobiano contra un microorganismo. Empleando este método, Preuss *et al.* (2005) compararon diferentes aceites esenciales, incluidos el orégano, salvia y canela con respecto a su efecto sobre *Staphylococcus aureus*, encontrando que el orégano y su componente carvacrol, tuvo el más potente efecto bactericida. Hallazgos similares fueron observados por Ouwehand *et al.* (2010) cuando se probaron 13 fuentes de aceites esenciales, incluidos el orégano, romero y tomillo, contra 11 diferentes patógenos de origen alimentario. Si bien *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* fueron sensibles a la mayoría de los aceites esenciales evaluados a bajas concentraciones, serovares de *Streptococcus epidermis* y *Salmonella* sólo fueron sensibles a altas concentraciones. Más estudios relacionados a la actividad antibacteriana *in vitro* de los aceites esenciales y los compuestos activos de plantas se presentan en el cuadro 4.

Cuadro 4. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de aceites esenciales (AE) y compuestos activos de plantas contra diferentes especies de bacterias (adaptado de Hippenstiel *et al.*, 2011 y Yang *et al.*, 2015a)

AE o compuesto activo	Bacteria patogénica	Gram	CMI (unidad)	CMI (valor)	Referencia
Orégano	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	125	De Souza <i>et al.</i> , 2009
	<i>Vibrio sp.</i>	-	µg/ml	156	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µg/ml	625	
Eugenol	<i>Salmonella</i>	-	µg/ml	156	Seongwei <i>et al.</i> , 2009
	<i>Pseudomonas sp.</i>	-	µg/ml	325	
	<i>Edwardsiella tarda</i>	-	µg/ml	56-125	
	<i>Aeromonas hydrophilla</i>	-	µg/ml	625	
	<i>Vibrio sp.</i>	-	µg/ml	15	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µg/ml	31	
	<i>Salmonella</i>	-	µg/ml	62	
Clavo de olor	<i>Pseudomonas sp.</i>	-	µg/ml	62	Seongwei <i>et al.</i> , 2009
	<i>Edwardsiella tarda</i>	-	µg/ml	31-62	
	<i>Aeromonas hydrophilla</i>	-	µg/ml	15	
	<i>Lactococcus piscicum</i>	+	mg/l	320	
	<i>Streptococcus phocae</i>	+	mg/l	640	
	<i>Vibrio anguillarum</i>	-	mg/l	80	
	<i>V. parahaemolyticus</i>	-	mg/l	320	
	<i>Pseudomonas sp.</i>	-	mg/l	640	
	<i>Lactococcus lactis</i>	+	mg/l	1280	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	>1	
Anís	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	>1	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	>1	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	0.5	
Canela	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.4	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	0.3	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	0.4-2.5	
Clavo de olor	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	µl/ml	> 20	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.4-2.5	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	0.3	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	>1	
Mejorana	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.5	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	0.2	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	0.5-1.2	
Orégano	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	µl/ml	1.2	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.5-1.2	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	4.5-10	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	µl/ml	>20	
Romero	<i>Bacillus cereus</i>	-	µl/ml	0.2	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.4-10	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	0.2	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	0.45-1.25	
Tomillo	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	µl/ml	0.45-20	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.2-2.5	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	0.16-0.45	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	0.23-5	
Carvacrol	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	µl/ml	0.23-0.25	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Bacillus cereus</i>	-	µl/ml	0.19-0.9	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.18-0.45	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	0.38-5	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	0.23-0.45	
Timol	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	µl/ml	0.06	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Bacillus cereus</i>	-	µl/ml	0.45	

	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.14–0.23	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	0.45	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	1	
Eugenol	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	µl/ml	0.5	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	>1	
	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	0.45–0.9	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	µl/ml	0.23	
α-Terpineol	<i>Bacillus cereus</i>	-	µl/ml	0.9	Hippenstiel <i>et al.</i> , 2011
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	0.9	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	>0.9	
	<i>Salmonella enteritidis</i>	-	µl/ml	50	
Orégano	<i>Escherichia coli</i>	-	µl/ml	51	Hulankova y Borilova, 2012
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	µl/ml	48	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	µl/ml	52	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	mg/ml	2.5	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	mg/ml	2.5	
Albahaca	<i>Bacillus cereus</i>	-	mg/ml	1.25	Da Silveira <i>et al.</i> , 2012
	<i>Escherichia coli</i>	-	mg/ml	1.25	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	mg/ml	2.5	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	mg/ml	5	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	mg/ml	2.5	
Canela	<i>Bacillus cereus</i>	-	mg/ml	2.5	Da Silveira <i>et al.</i> , 2012
	<i>Escherichia coli</i>	-	mg/ml	5	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	mg/ml	5	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	mg/ml	5	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	mg/ml	2.5	
Orégano	<i>Bacillus cereus</i>	-	mg/ml	2.5	Da Silveira <i>et al.</i> , 2012
	<i>Escherichia coli</i>	-	mg/ml	5	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	mg/ml	5	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	mg/ml	10	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	mg/ml	2.5	
Romero	<i>Bacillus cereus</i>	-	mg/ml	5	Da Silveira <i>et al.</i> , 2012
	<i>Escherichia coli</i>	-	mg/ml	2.5	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	mg/ml	10	
Proantocianida (extracto de semilla de uva)	<i>V. parahaemolyticus</i>	-	mg/l	10	Mahmoud, 2014

Las propiedades antimicrobianas de diferentes compuestos derivados de plantas contra patógenos alimentarios, incluido *Campylobacter jejuni*, se han demostrado *in vitro* (Friedman *et al.*, 2004; Johny *et al.*, 2010). Sin embargo, entre los pocos estudios que informaron los resultados de ensayos *in vivo*, los compuestos derivados de plantas en su mayoría no lograron tener un impacto notable en la reducción de la colonización por *Campylobacter* en pollos de engorde (Arsi *et al.*, 2014; Kurekci *et al.*, 2014; Guyard-Nicodeme *et al.*, 2016). Estos investigadores sugieren que esta aparente ineficacia se debe a que estos compuestos podrían absorberse o degradarse antes de que lleguen al ciego o, que el ciego podría proteger a *Campylobacter* de su actividad antimicrobiana.

Los aceites esenciales de plantas utilizados en las dietas de aves comerciales, ya sea, de forma individual o combinados o únicamente como compuestos puros, han mostrado un fuerte efecto inhibitor sobre *Clostridium perfringens* y *E. coli* en el intestino posterior, y han mejorado las lesiones intestinales y la pérdida de peso respecto a las aves de los grupos control desafiados (Jamroz *et al.*, 2006; Jerzsele *et al.*, 2012). En una revisión llevada a cabo por Bassole y Juliani (2012) sobre la eficacia antimicrobiana de combinaciones de extractos de plantas; se reportó que el carvacrol, timol y eugenol ejercen una potente actividad antimicrobiana, tienen una estructura similar y ejercen en combinación, una actividad bacteriostática y bactericida sinérgica adicional, incluso en bajas concentraciones. Un mecanismo sugerido por varios autores bajo el cual los fitogénicos ejercen actividad antibacteriana es el relacionado a su hidrofobicidad, que permite la partición de los compuestos en las capas lipídicas de la pared celular bacteriana y las mitocondrias, alterando su estructura y haciéndolas más permeables, con el consecuente ingreso de otras sustancias o incluso la muerte celular (Solorzano-Santos y Miranda-Navales, 2012; O'Bryan *et al.*, 2015).

Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales de las plantas aromáticas y sus componentes se han revisado ampliamente (Lee *et al.*, 2004a; Brenes y Roura, 2010; Yang *et al.*, 2015a). Por lo general, los aceites esenciales contienen un alto nivel de componentes fenólicos (incluidos carvacrol, timol y eugenol) que poseen las propiedades antibacterianas más fuertes contra los patógenos transmitidos por los alimentos. Xu *et al.* (2008) reportaron la capacidad del carvacrol y timol fenólico para desintegrar la membrana externa de las bacterias gramnegativas, liberando lipopolisacáridos, despolarizando la membrana citoplasmática y aumentando la permeabilidad de la membrana citoplasmática al ATP. Helander *et al.* (1998) investigaron el mecanismo antimicrobiano de los dos fenoles isoméricos, carvacrol y timol, y el fenilpropanoide, cinamaldehído, contra *E. coli* y *S. typhimurium*. Se observó que tanto el carvacrol como el timol rompieron las membranas bacterianas externas de manera similar, mientras que, el cinamaldehído no afectó la membrana, pero mostró una potente actividad inhibidora antibacteriana. Se sugirió que estos efectos se atribuyen al carácter lipofílico de los principios activos de los compuestos fitogénicos, que se impregnan a las membranas celulares y las mitocondrias de los microorganismos e inhiben, entre otros, el flujo de electrones ligados a la

membrana y con ello el metabolismo energético. Esto conduce a un colapso de la bomba de protones y al drenaje de la reserva de ATP.

En concordancia con lo anterior, Brenes y Roura (2010) luego de hacer una revisión de los modos de acción y efectos de aceites esenciales de plantas, plantearon que los aceites con todos sus compuestos completos tienen una mayor actividad antibacteriana que sus componentes principales solos, sugiriendo que los componentes menores en los aceites esenciales también son críticos para la actividad y pueden tener un efecto sinérgico. Sin embargo, diferentes estudios han evidenciado que el efecto bacteriostático o bactericida de los extractos y aceites esenciales de plantas es menor que el de los antibióticos (Giannenas *et al.*, 2003, 2004; Florou-Paneri *et al.*, 2004; Christaki *et al.*, 2004). En ese caso, se considera que los niveles efectivos de esos compuestos son considerablemente más altos que los niveles rentables en la producción animal.

Existe una tendencia creciente con respecto a los estudios *in vivo* sobre la influencia de los aditivos fitogénicos en la microbiota intestinal; sin embargo, los resultados son difíciles de interpretar y correlacionar debido a la diversa metodología empleada en las investigaciones. Aunque los métodos para determinar la actividad varían de un estudio a otro, el impacto en las comunidades microbianas se puede probar en todas las partes del tracto intestinal (Steiner y Syed, 2015). Algunos estudios en pollos de engorde han demostrado una clara reducción de bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* en el medio intestinal empleando diferentes extractos de plantas (Mitsch *et al.*, 2004; McReynolds *et al.*, 2009). Más recientemente, Park y Kim (2018) reportaron un efecto sinérgico por la inclusión en la dieta de la combinación de proteasas y aceites esenciales, aumentando significativamente los recuentos de *Lactobacillus* y reduciendo los recuentos de *E. coli*, en el íleon de pollos de engorde. Por otro lado, Giannenas *et al.* (2018a, 2018b) demostraron que los aditivos fitogénicos para dietas de aves con alto contenido fenólico pueden presentar sinergia entre sus componentes combinados favoreciendo la promoción del crecimiento y modulando la microbiota intestinal de pollos. Estos últimos resultados corroborarían las hipótesis planteadas previamente por Burt

(2004) y Si *et al.* (2006) sobre la influencia de los componentes fenólicos de las plantas y su acción sobre las células microbianas.

Los fitogénicos también pueden ejercer un efecto positivo sobre la microbiota intestinal al facilitar la proliferación de bacterias que generalmente se consideran beneficiosas, como poblaciones de *Lactobacillus* (Jamroz *et al.*, 2005; Mountzouris *et al.*, 2011). Al respecto, Oviedo-Rondón *et al.* (2006) y Hume *et al.* (2006) demostraron que una mezcla comercial de aceites esenciales puede modular las comunidades microbianas en el intestino de pollos de engorde vacunados contra coccidias, evitando cambios drásticos después de una infección mixta por especies de este parásito. Por otra parte, se informó que la mezcla de aceites esenciales de orégano y tomillo (0.05% en la dieta), con carvacrol y timol como compuestos activos, fue efectiva en la reducción del porcentaje de intestinos colonizados en pollos desafiados experimentalmente con una cepa de *Salmonella* (Koscova *et al.*, 2006). Mountzouris *et al.* (2011) observaron que los niveles de inclusión de un aditivo fitogénico de 125 y 250 mg/kg de dieta dieron como resultado una modulación supuestamente beneficiosa de la microbiota cecal. Hubo un aumento lineal de concentración cecal de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y cocos grampositivos con niveles crecientes del fitogénico en pollos de engorde de 42 días. Además, los coliformes cecales a los 14 días de edad fueron significativamente más bajos en los niveles de inclusión de 125 y 250 mg/kg de dieta en comparación con el grupo que recibió avilamicina. De acuerdo a estos hallazgos, se justificaría que, ante la reducción de bacterias no deseadas como *Clostridium*, coliformes, estafilococos y otros, exista más espacio disponible para el crecimiento de los *Lactobacillus*. Una vez que se establecen en el intestino, pueden excluir selectivamente a los patógenos de la colonización debido a la rápida proliferación, colonización y posiblemente acidificación del medio intestinal (McReynolds *et al.*, 2009).

Estudios más recientes como el llevado a cabo por Cho *et al.* (2014), también observaron una reducción en la proliferación de *C. perfringens* y *E. coli* detectados en el intestino delgado y grueso de pollos desafiados con *C. perfringens*, cuando se añadió a la dieta un fitogénico que contenía 250 mg/kg de aceite esencial de tomillo y anís estrellado. De igual manera, Wati *et al.* (2015) encontraron que administrando un aditivo fitogénico (hinojo, toronjil, menta, anís, roble, clavo y tomillo) en la dieta de

pollos a razón de 150 mg/kg y luego de un desafío con *Salmonella enteritidis* y *E. coli*, se obtuvo menores recuentos de *Salmonella*, *E. coli* y *Clostridium*. A su vez, se observó un mayor recuento de *Lactobacillus* en el grupo de aves que recibió el fitogénico.

Se ha explorado la eficacia de los extractos de plantas sobre el control de la enteritis necrótica por *C. perfringens* en pollos de engorde. El efecto de dos mezclas diferentes de aceites esenciales sobre la proliferación de *C. perfringens* en los intestinos y excretas de pollos de engorde fue evaluado por Mitsch *et al.* (2004). Los resultados indicaron que la combinación de timol, eugenol, curcumina y piperina o carvacrol y timol (50% cada uno), eugenol, curcumina y piperina; puede reducir la colonización y proliferación de *C. perfringens* en el intestino de los pollos de engorde. Los autores infirieron que los efectos del producto se deben en parte a una inhibición directa de las bacterias. En una serie de experimentos de infección, McReynolds *et al.* (2009) desafiaron un grupo de aves por vía oral con *C. perfringens* y las alimentaron con un producto fitogénico en la dieta (mezcla de aceites esenciales de orégano, anís y cítricos), las cuales mostraron menor gravedad de las lesiones necróticas en el intestino delgado por niveles más bajos de *C. perfringens* y menor mortalidad; en comparación con aves desafiadas, no suplementadas. Engberg *et al.* (2012) llevaron a cabo dos experimentos en los que se investigó la influencia del aumento de las concentraciones en la dieta de hojas secas y el extracto n-hexano de hojas frescas de *Artemisia annua* sobre el rendimiento de pollos de engorde. Los resultados indicaron que los extractos derivados de *A. annua* podrían modular el curso de la enteritis necrótica y compensar hasta cierto punto las pérdidas de peso asociadas a la enfermedad.

Una de las plantas con mayor número de estudios sobre su efecto antimicrobiano es el orégano. En particular, se observó que el aceite esencial de orégano tiene las actividades de inhibición más fuertes contra *E. Coli*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus* (Burt, 2004; Mathlouthi *et al.*, 2012). La alta actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano también se ha informado en estudios en pollos de engorde. Roofchae *et al.* (2011) evaluaron los efectos de la inclusión en la dieta del aceite esencial del orégano sobre la microbiota del ciego y la actividad antioxidante en el suero de pollos. Se observó que las poblaciones de *Lactobacillus* no se vieron afectadas; mientras que, las poblaciones de

coliformes a nivel de los ciegos disminuyeron considerablemente en un grupo de pollos que recibieron 300 o 600 mg/kg de aceite esencial de orégano en comparación con un grupo alimentado con dietas no suplementadas. La actividad antioxidante en el suero fue mayor en el grupo de pollos suplementados con aceite esencial de orégano. Se concluyó que el aceite esencial de orégano mostró fuerte actividad antibacteriana contra *E. coli* cecal. Por otro lado, Jang *et al.* (2007) informaron que la adición en la dieta de aceite esencial de orégano a 50 mg/kg redujo los recuentos de *Escherichia coli* en el contenido del íleon y ciego en comparación con el contenido de pollos del grupo control; mientras que los recuentos de *Lactobacillus* no se vieron afectados. Además, el aceite esencial tuvo un efecto similar sobre la inhibición de *E. coli* en comparación con la dieta que contenía antibióticos.

En contraste a los efectos positivos descritos anteriormente, otros estudios han reportado que el uso de varios otros aditivos fitogénicos no mostró efecto o tuvieron un impacto negativo frente a la actividad antibacteriana y la modulación de la microbiota intestinal. Cross *et al.* (2007) indicaron que no se observó efecto sobre el recuento de UFC de *E. coli*, *Lactobacillus* y *C. perfringens* al analizar el contenido cecal y fecal de pollos al agregar 10 mg/kg de aceites esenciales de plantas, entre las que se incluyeron el tomillo, orégano y romero. Por su parte, Abudabos y Alyemni (2013), empleando una combinación de compuestos que incluyeron timol, eugenol y piperina al 0.01% en la dieta de pollos, reportaron que no se logró reducir el recuento bacteriano a nivel del íleon y como resultado, el rendimiento no mejoró significativamente. Recientemente, Molina *et al.* (2018) encontraron que la administración de extractos acuosos de *Passiflora edulis* y *Psidium guajava*, a una dosis de 60 mg/ml en el agua de bebida, afectaron la respuesta productiva de pollos de engorde criados hasta los 28 días de edad en un modelo que contempló el desafío con *Eimerias* y *C. perfringens*, reduciendo significativamente el peso vivo promedio y ganancia de peso respecto a los grupos controles. Así mismo, se observó que los extractos de ambas plantas afectaron significativamente el recuento de bacterias ácido lácticas, presentando valores inferiores a los encontrados en los grupos controles. Una explicación a estos hallazgos puede atribuirse a factores externos como las condiciones óptimas de alojamiento e higiene o al uso de dietas altamente digestibles (Hippenstiel *et al.*, 2011). Teniendo en cuenta que las dosis de los fitogénicos en las dietas para animales suelen ser más bajas que las concentraciones

antimicrobianas efectivas determinadas *in vitro*, es más probable que los fitogénicos tengan un efecto modulador en la microbiota intestinal que un efecto bactericida directo (Franz et al., 2010).

Un aparente efecto sinérgico entre compuestos fitogénicos y ácidos orgánicos ha sido evidenciado en diferentes estudios. Al respecto, en un estudio *in vitro*, Zhou et al. (2007) informaron que un aceite esencial (carvacrol o timol) en combinación con ácidos orgánicos (ácido acético o ácido cítrico) resultó en una significativa reducción de poblaciones de bacterias gramnegativas y *Salmonella typhimurium*, comparado con la aplicación de los aceites esenciales individuales o los ácidos orgánicos. Por otro lado, se observó que el uso combinado de ácido láctico con timol o carvacrol no produjo un efecto sinérgico contra *S. typhimurium*. De otra parte, un efecto similar fue observado contra múltiples cepas de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* y *Streptococcus aureus* cuando se trataron con una combinación de aceite esencial de orégano y ácido caprílico (Hulankova y Borilova, 2012). Si bien los efectos sinérgicos de algunos aceites esenciales y los ácidos orgánicos no están esclarecidos, se sabe que los fenoles en los aceites esenciales se dirigen a la membrana celular bacteriana, adhiriéndose y cambiando su estructura y función, lo que provoca hinchazón y, por lo tanto, aumenta la permeabilidad de la membrana (Shetty y Wahlqvist, 2004). Este efecto podría explicar la sinergia observada con los ácidos orgánicos, ya que, al aumentar la permeabilidad de la membrana, se incrementa la susceptibilidad de las bacterias al ambiente ácido. Además, ante un pH bajo, aumenta la hidrofobicidad de un aceite esencial, lo que le permite disolverse más fácilmente en los lípidos de la membrana celular de las bacterias diana (Karatzas et al., 2001).

El uso combinado de aditivos fitogénicos y ácidos orgánicos ha sido evaluado *in vivo* en pollos de engorde como una estrategia para el reemplazo de antibióticos. Hashemi et al. (2012) evaluaron un aditivo fitogénico conteniendo *Euphorbia hirta* en la dieta de pollos combinándolo con un producto acidificante (ácido fórmico, fosfórico, láctico, tartárico, cítrico y málico). Los resultados sugirieron que la suplementación dietética con esta combinación tuvo impacto positivo en la mejora de la conversión alimenticia de las aves, además se evidenció una actividad antioxidante, al inhibir la oxidación de lípidos medidos en el suero de las aves tratadas con la combinación de ambos productos. Otro estudio llevado

a cabo por Gheisar *et al.* (2015), encontró que las mezclas microencapsuladas de aceites esenciales y ácidos orgánicos (timol, vainillina, ácido cítrico y ácido sórbico) mejoró el rendimiento productivo e incrementó los recuentos de *Lactobacillus* en heces. Previamente, Langhout (2000) sugirió que una combinación de ácidos orgánicos y aceites esenciales sería beneficiosa, ya que, los ácidos orgánicos parecen ser particularmente activos en el alimento, el buche y la molleja, mientras que los aceites esenciales parecen funcionar más en los segmentos posteriores del tracto intestinal de las aves.

3.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIINFLAMATORIA

El estudio de la actividad antioxidante de los aditivos fitogénicos en dietas de pollos de engorde es otra propiedad biológica muy explorada en los últimos años. Entre los mecanismos bajo los cuales se ha sugerido que los fitogénicos pueden ejercer una actividad antioxidante está su capacidad de donar hidrógenos o electrones y la de deslocalizar el electrón no apareado dentro del anillo fenólico aromático de su estructura, protegiendo las moléculas biológicas contra la oxidación (Fernandez-Panchon *et al.*, 2008; Giannenas *et al.*, 2013).

Se ha reportado que el potencial antioxidante en una amplia gama de hierbas y sus extractos está relacionado con la concentración de sustancias fenólicas (flavonoides, taninos hidrolizables, pro-antocianinas, ácidos fenólicos, terpenos fenólicos) y algunas vitaminas (E, C y A) (Christaki *et al.*, 2012; Suganya *et al.*, 2016). Esta relación cobra especial relevancia con aquellas especies pertenecientes a la familia *Labiatae* y *Asteraceae* como orégano, tomillo, albahaca, menta, romero, salvia y lavanda, que son ricos en compuestos terpenoides fenólicos como, por ejemplo, carvacrol, timol, ácido rosmarínico, mentol y eugenol (Botsoglou *et al.*, 2002; Young *et al.*, 2003; Giannenas *et al.*, 2018b). Otras hierbas ricas en compuestos fenólicos son el té verde, manzanilla, diente de león y caléndula.

Un estudio llevado a cabo por Cherian *et al.* (2013) encontró que un extracto de *Artemisia annua* administrado al 2 y 4% en la dieta de pollos de engorde mostró una actividad antioxidante significativa al reducir las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en la carne de pechuga o muslo,

medido como contenido de malondialdehído proveniente de la oxidación de lípidos durante la reacción en medio ácido. Estos investigadores sugirieron que la reducción en el valor de TBARS podría deberse a propiedades antioxidantes individuales o combinadas de compuestos polifenólicos o vitamina E contenidos en la planta. Por otro lado, Placha *et al.* (2014) demostraron que administrando 0,5 g de un aceite esencial de *Thymus vulgaris* por kilogramo de dieta en pollos de engorde se logró reducir la oxidación de los ácidos grasos al disminuirse la concentración de malondialdehído en la mucosa duodenal y el riñón, además de mejorar la integridad intestinal.

Los compuestos antioxidantes de los fitogénicos son ingeridos con el alimento y absorbidos en el tracto gastrointestinal, protegiendo los lípidos de la carne del proceso oxidativo y productos finales de la oxidación como la formación de aldehídos en muestras de carne de pechuga y muslo, prolongando de esta forma su tiempo de almacenamiento. Esta protección es significativa por dos razones principales: promover la salud y el rendimiento del ave y, segundo, mejorar la calidad de la carne como producto, especialmente durante el almacenamiento, lo que garantiza una larga vida útil (Gheisar y Kim, 2018). La oxidación de los lípidos es una de las principales causas del deterioro de la calidad en la carne o los tejidos musculares y está bien correlacionada con el contenido de hierro y los ácidos grasos poliinsaturados contenidos en la carne, la cual se mide como ranciedad (Rhee *et al.*, 1996).

Se ha sugerido que los fitogénicos pueden actuar favoreciendo la actividad de algunas enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, catalasa, oxidasa, glutatión peroxidasa y, en consecuencia, inhibir el impacto de los agentes oxidantes sobre el metabolismo de los lípidos en los animales (Franz *et al.*, 2010). De esta forma, la suplementación en la dieta con antioxidantes de origen vegetal puede representar una herramienta eficiente para mejorar la capacidad antioxidante en los pollos de engorde y los productos derivados de él (Florou-Paneri *et al.*, 2005; Christaki *et al.*, 2012; Giannenas *et al.*, 2016).

Un aspecto importante en términos de eficacia antioxidante que ha sido bastante referenciado es el sinergismo entre el uso de los fitogénicos y la nutrición del pollo de engorde. En relación a ello, un estudio reciente llevado a cabo por Giannenas *et al.* (2018a) encontró que la suplementación en el

alimento con 500 mg/kg de un aditivo polihierbal (conteniendo alcanfor, mentol y timol como principales activos) en pollos de engorde, mostró una mayor estabilidad oxidativa y menor grado de rancidez de los lípidos presentes en la pechuga y muslo almacenados en refrigeración durante 4 días en comparación con el grupo de control no suplementado. Entre las conclusiones de este estudio se sugiere el uso de aditivos fitogénicos para promover el estado antioxidante en el pollo de engorde, cuando éstos contengan las cantidades adecuadas de componentes fenólicos activos. Otro estudio (Ramos *et al.*, 2017) mostró que la suplementación de la dieta de pollos por 42 días con un extracto de orégano en la dosis de 100 mg/kg incrementó significativamente el contenido de timol y carvacrol a nivel de la pechuga. Al finalizar la suplementación con el extracto a las 6 semanas, la carne de pollo acumuló un 552% de contenido de timol y un 648% del contenido de carvacrol, comparado con el control sin el extracto. En este estudio, el contenido de timol y carvacrol fue determinado por cromatografía de gases-espectrometría de masas y sus autores proponen esta metodología de análisis como una herramienta para identificar y cuantificar los componentes fenólicos (trazabilidad) provenientes de plantas en la carne u otros tejidos animales.

La actividad antioxidante de los fitogénicos también ha sido evaluada en diversos estudios *in vitro* con diferentes métodos. Zhang *et al.* (2018), evaluó el efecto del aceite esencial de *Melaleuca alternifolia* (árbol del té) mediante el empleo de tres métodos: el método DPPH - 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (ensayo espectrofotométrico para determinar propiedades de eliminación de radicales libres), el ensayo de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y el método de eliminación de radicales hidroxilos. El aceite esencial de la planta fue eficaz para reducir el DPPH (en la dosis de 48.35 µg/ml) y las reacciones oxidativas de los lípidos (135.9 µg/ml), al mismo tiempo que, eliminó completamente las sustancias radicales hidroxilo (43.71 µg/ml); demostrando de esta forma su actividad antioxidante. Otro estudio (Nikolic *et al.*, 2012) evaluó la actividad antioxidante de cuatro productos comerciales a base de *M. alternifolia* mediante el método DPPH. Los resultados evidenciaron que todos los productos poseían una actividad antioxidante dependiente de la concentración y se basó en una composición química equilibrada entre terpinen-4-ol y compuestos terpénicos. Así mismo, Kulisic *et al.* (2004) empleando métodos similares, encontraron que el aceite esencial de orégano, su fracción y sus constituyentes puros tienen un efecto antioxidante significativo, siendo ésta menos efectiva que el ácido

ascórbico, pero comparable con el α -tocoferol y el hidroxitolueno butilado antioxidante sintético. Si bien estos hallazgos evidencian un efecto antioxidante con potencial aplicación en la industria alimentaria, agrícola y/o farmacéutica; los resultados *in vivo* no siempre son tan satisfactorios como los estudios *in vitro*. En este caso, deben considerarse factores biológicos donde pueden ocurrir reacciones divergentes, por lo que, se necesitan estudios experimentales *in vivo* a gran escala para garantizar su eficacia (Mathé *et al.*, 2015).

La inflamación es una respuesta protectora normal inducida por una lesión o infección del tejido y funciona para combatir a los agentes invasores del organismo, así como, para eliminar las células huésped muertas o dañadas. Como respuesta al proceso inflamatorio hay un aumento de la permeabilidad de las células del revestimiento endotelial y la afluencia de leucocitos sanguíneos hacia el intersticio, cascada oxidativa y la liberación de citocinas (Miguel, 2010). Al mismo tiempo, también hay una inducción de la actividad de varias enzimas (oxigenasas, óxido nítrico sintasas, peroxidasas), así como, el metabolismo del ácido araquidónico. En el proceso inflamatorio también existe la expresión de moléculas de adhesión celular, como la molécula de adhesión intercelular y la molécula de adhesión celular vascular (Gomes *et al.*, 2008).

La actividad antiinflamatoria de los fitogénicos puede atribuirse no sólo a su acción antioxidante sino también a sus interacciones en las diferentes etapas del proceso inflamatorio. Se ha mencionado una relación entre el uso de diferentes extractos y aceites esenciales de plantas con una acción sobre las señales en cascada que involucran a las citocinas, así como, a la expresión de genes proinflamatorios, sugiriéndose una actividad moduladora (Miguel, 2010; Gbenou *et al.*, 2013). Las principales moléculas activas con acción antiinflamatoria son los fenoles, terpenoides y flavonoides; los cuales ejercerían su actividad a través de la supresión del metabolismo de las prostaglandinas inflamatorias (Suganya *et al.*, 2016). Esta actividad parece manifestarse en varios tipos de células en especies animales, siendo la quercetina una de las moléculas más estudiadas al respecto (Chirumbolo, 2010; Hager-Theodorides *et al.*, 2014; Saeed *et al.*, 2017).

3.4 DIGESTIBILIDAD

La digestibilidad es un concepto que se refiere al grado en que los nutrientes contenidos en una dieta son absorbidos por el cuerpo de un animal a medida que pasa a través del tracto digestivo. Una mejor digestibilidad de los nutrientes contribuye a una mejor eficiencia alimenticia. La mala digestibilidad de una dieta, por el contrario, no solo es visible por la caída en el rendimiento, sino también por un impacto negativo directo sobre el tracto digestivo.

Una baja digestibilidad de la dieta se refleja en mayores cantidades de alimento no digerido en el intestino, el cual está potencialmente sujeto a la fermentación por la microbiota intestinal. Este proceso fermentativo se realiza principalmente en el intestino grueso y, en menor grado, en el intestino delgado. La presencia de proteínas y aminoácidos sin digerir favorece la formación de metabolitos no deseados, como el amoníaco y las aminas biogénicas, los cuales ejercen un efecto tóxico. Esto conlleva a un desequilibrio a nivel del intestino que tiene como resultado procesos inflamatorios y un recambio acelerado del tejido intestinal, lo que resulta en un pobre rendimiento y pérdida de nutrientes por cuadros diarreicos (Steiner y Syed, 2015).

Varios estudios han reportado el efecto positivo de la adición de fitogénicos sobre la estimulación de la actividad enzimática en aves, aunque esto no necesariamente sea acompañado de un mejor rendimiento productivo. Al respecto, Jang *et al.* (2007) encontraron que la actividad de la tripsina, la amilasa y la maltasa se vieron notablemente mejoradas en el intestino de pollos de engorde suplementados con aceite esencial de orégano en la dosis de 50 mg/kg de alimento. Del mismo modo, Basmacioglu *et al.* (2010) mostraron que la inclusión de aceite esencial de orégano en las dosis de 250 y 500 mg/kg en una dieta a base de harina de trigo y soya, con o sin enzimas exógenas adicionadas, aumentó sustancialmente la actividad de la quimotripsina en el tracto gastrointestinal y mejoró la digestibilidad de la proteína cruda en pollos de engorde. En ambos estudios el rendimiento productivo fue similar al grupo de pollos que recibieron dietas sin contener aceites esenciales.

En relación a la digestión de proteínas, varios trabajos han encontrado una relación positiva en la mejora de este proceso mediante la aplicación de fitogénicos en aves. Jamroz *et al.* (2003) observaron que la digestibilidad ileal aparente de nitrógeno, nutrientes y aminoácidos (treonina, serina, asparagina, fenilalanina, histidina y lisina) en pollos de 21 días, se vio afectada positivamente por la suplementación de un producto (a una dosis de 150 y 300ppm) conteniendo extractos de capsaicina, carvacrol y cinamaldehído, mejorando el peso vivo y la conversión alimenticia con el grupo control blanco. La inclusión de un extracto a base de aceites esenciales de orégano, canela y pimienta; y otro conteniendo salvia, tomillo y romero, mejoraron la digestibilidad fecal aparente de la materia seca y la digestibilidad del extracto de éter en pollos de engorde Ross, administrados en la dieta en la dosis de 200 ppm y 5,000 ppm respectivamente (Hernández *et al.*, 2004). Sin embargo, este efecto no fue significativo sobre el desempeño productivo de las aves. En un estudio más reciente, Park y Kim (2018) descubrieron que la suplementación en la dieta con una proteasa y la inclusión al 0.03% de un aditivo fitogénico a base de aceites esenciales de timol (*Thymus vulgaris*), eugenol (*Cinnamomum* spp.) y piperina (*Piper* spp.), redujo las concentraciones de emisión de amoníaco excretada y aumentó la retención de nitrógeno. Así mismo, la combinación proteasa y aceite esencial mostraron una sinergia significativa para ambas variables.

Según varios autores los aditivos fitogénicos pueden estimular las actividades de lipasas y proteasas, favoreciendo el aumento de la energía digestible y la energía metabolizable en aves. García *et al.* (2007) administrando 200 ppm de un extracto a base de una mezcla de aceites esenciales de orégano, canela y pimienta; obtuvo resultados similares a la avilamicina al mejorar la conversión alimenticia y la digestibilidad ileal aparente en comparación a un grupo no tratado. Otro estudio evaluó el efecto de tres niveles de inclusión en la dieta (80, 125 y 250 mg/kg) de un aditivo fitogénico a base de aceites esenciales de orégano, anís y cítricos (Mountzouris *et al.*, 2011), encontrando que el nivel de inclusión tuvo un efecto significativo sobre la digestibilidad aparente del extracto total de la materia orgánica y la energía metabolizable aparente corregida con nitrógeno de las dietas experimentales comparado con el grupo de aves sin tratar. Amad *et al.* (2011), por su parte, observaron que la inclusión de un aditivo fitogénico conteniendo aceites esenciales de tomillo y anís estrellado, incrementó la

digestibilidad ileal aparente de ceniza bruta, proteína cruda, grasa bruta, calcio y fósforo; a medida que aumentaba la dosis del fitogénico de 150, 750 hasta 1,500 mg/kg. La digestibilidad de estos nutrientes fue significativamente mayor en las aves alimentadas tratadas con el aditivo en comparación con los controles, aunque este efecto no se tradujo en una mejora en el rendimiento productivo. Un resultado similar fue el observado por Paraskeuas *et al.* (2017), quienes encontraron que la adición de un aditivo fitogénico en el alimento a base de anitol, mentol y eugenol a diferentes dosis (100 y 150 mg/kg) aumentó la digestibilidad aparente del tracto total de la materia seca y la energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno, al aumentar el nivel del aditivo frente a un grupo control sin suplemento fitogénico en pollos Cobb.

Otros estudios han reportado la ausencia de un efecto benéfico sobre la digestibilidad de nutrientes mediante el empleo de aditivos fitogénicos en aves. Es así que, no se observaron diferencias para la energía metabolizable aparente, digestibilidad ileal aparente y actividad de ciertas enzimas, entre aves tratadas con diferentes combinaciones de extractos y aceites esenciales de plantas respecto a grupos de aves que recibieron sólo dietas basales (Lee *et al.* 2003, 2004b; Jamroz *et al.*, 2005; Cross *et al.*, 2007).

3.5 MORFOLOGÍA Y FUNCIÓN INTESTINAL

El uso de aditivos fitogénicos en forma de extractos o aceites esenciales de plantas en aves comerciales también ha sido relacionado con un efecto sobre la morfología y la funcionalidad intestinal. El tracto gastrointestinal se compone principalmente de las células intestinales en el epitelio y el endotelio, un medio mucoso en el lumen que contiene una microbiota que a veces se compone principalmente de bacterias comensales y beneficiosas, responsables en mucha medida de la regulación de patógenos bacterianos. Este componente celular, además de ser responsable de la absorción de nutrientes, pueden apoyar en las reacciones del sistema inmune asociado al intestino, así como, para estimular la producción de moco intestinal que puede contribuir aún más a controlar la presión de

patógenos mediante la inhibición de la adherencia a la mucosa (Applegate *et al.*, 2010; Tsirtsikos *et al.*, 2012).

La altura de las vellosidades intestinales es un indicador importante de la función digestiva en los pollos de engorde y otras especies animales, ya que, está directamente asociada con la capacidad de absorción de la membrana mucosa del intestino. Varios estudios han demostrado que la morfometría intestinal fue influenciada en pollos de engorde alimentados con dietas suplementadas con plantas o hierbas aromáticas (extractos o aceites esenciales), siendo evidenciado su efecto por el incremento en la altura de las vellosidades y el número de células caliciformes en los pollos alimentados con productos fitogénicos en comparación con un grupo de aves que no lo recibieron (Hong *et al.*, 2012; Skoufos *et al.*, 2016; Giannenas *et al.*, 2018b). Así mismo, otros estudios reportaron que una menor altura de las vellosidades estuvo relacionada con una menor capacidad de absorción a nivel del intestino delgado (Yamauchi *et al.*, 2006; Laudadio *et al.*, 2012).

La producción de mucina es una parte crítica del sistema de defensa inmunológico inespecífico y es secretada por células caliciformes a lo largo de las vellosidades dentro del epitelio. Entre sus funciones importantes se incluye el de lubricar las superficies intestinales, atrapar y neutralizar las bacterias, interactuar con el sistema inmunológico intestinal, actuar como una barrera de difusión de nutrientes y macromoléculas, y también protegiendo las células epiteliales subyacentes (Kim y Ho, 2010; Antoni *et al.*, 2014). En tal sentido, varios estudios han sugerido que la administración de fitogénicos en aves pueden estimular la producción de una capa de mucina protectora en el intestino debido al incremento significativo en el número de células caliciformes respecto a grupos de aves no tratadas, efecto que fue acompañado por el incremento en la longitud de las vellosidades (Jamroz *et al.*, 2006; Reisinger *et al.*, 2011; Tzora *et al.*, 2017).

Al igual que con otras propiedades atribuidas al uso de aditivos fitogénicos, la mayoría de estudios disponibles se basan en la evaluación de productos comerciales conteniendo combinaciones de diferentes extractos y aceites esenciales de plantas, por lo que, hace falta un entendimiento más profundo

para explicar la eficacia y el modo de acción para cada especie de planta, sea en su forma de extracto o aceite esencial, así como, la dosis de las sustancias activas que la componen. Definir el efecto específico y el sitio objetivo (especie animal o su microbiota intestinal) de los compuestos individuales sigue siendo crítico y facilitará su posterior aplicación en el alimento balanceado de las aves (Christaki *et al.*, 2012).

3.6 ACTIVIDAD ANTICOCIDIAL

La coccidiosis aviar es la enfermedad parasitaria más importante en pollos de engorde, ya que, afecta directamente a la desarrollo y rendimiento productivo al causar lesiones en el tracto intestinal, sitio donde se realiza la digestión y absorción de los nutrientes contenidos en el alimento. Las especies de *Eimerias* (coccidias) son altamente específicas de órganos y tejidos del huésped, siendo las aves jóvenes más susceptibles a la infección y a la enfermedad. La coccidiosis se previene y se trata comúnmente con quimioterapia, pero la aparición de cepas resistentes a los medicamentos evidencia la importancia de desarrollar estrategias alternativas.

Se ha informado del uso de aceites esenciales como parte de formulaciones o dietas para controlar la coccidiosis. Diversos estudios se han llevado a cabo en los últimos años para evidenciar el efecto potencial de diferentes especies de plantas en el control de la infección por *Eimeria spp.* El cuadro 5 muestra las especies de plantas y sus principales compuestos a los cuales se les ha atribuido una actividad anticoccidial. La ventaja de este tipo de alternativas es que no originan residuos en los productos finales destinados al consumo humano ni generan resistencia por parte del parásito.

Cuadro 5. Aditivos fitogénicos con actividad anticoccidial (adaptado de Kostadinovic *et al.*, 2015)

Nombre común y <i>nombre científico</i>	Componentes principales del aceite esencial	Composición (% del total de volátiles)	Referencia
Ajenjo dulce <i>Artemisia annua</i>	alcanfor	44	Juteau <i>et al.</i> , 2002
	germacreno D	16	
	<i>trans</i> -pinocarveol	11	
	β -selineno	9	
	β -cariofileno	9	
	cetona de artemisia	3	
	1,8-cineol	1.2	
Ajenjo amargo <i>Artemisia absinthium</i>	cis-epoxiocimeno	24.1 - 31.1	Blagojević <i>et al.</i> , 2006
	<i>trans</i> -sabineno	5.5 - 7.4	
	α -tujona	2.8 - 20.8	
	β -tujona	5.5 - 26	
	acetato de <i>trans</i> -sabinilo	4.3 - 6.6	
	acetato de linalilo cis-	5.9 - 10.5	
Anís <i>Pimpinella anisum</i>	acetato de crisantenilo	15.5 - 43.4	Sharifi <i>et al.</i> , 2008
	<i>trans</i> -anetole	92.9	
	p-alilanisole	2.2	
	Z- α -biosaboleno	1.8	
Orégano <i>Oreganum vulgare</i>	carvacrol	0.14 - 18.5	D'Antuono <i>et al.</i> , 2000
	timol	0.72 - 21.7	
	γ -terpineno	1.8 - 18.2	
	p-cimeno	2.2 - 9.4	
	α -pineno	3.14	
Nimbo <i>Azadirachta indica</i>	limoneno	7.17	Pandey <i>et al.</i> , 2012
	n-undecano	6.31	
	acetato de bornilo	6.62	
	b-cariofileno	12.73	
Berberry <i>Berberis lycium</i>	berberina	4.5	Shabbir <i>et al.</i> , 2012; Khare, 2004
	palmitina	3.1	
	antocianina	82.5 (en extracto)	
Kuh seng <i>Sophora flavescens</i>	berbamina	0.5	Li <i>et al.</i> , 2012
	ligustilida	24.58	
	2-etil-1-hexanol geranilo	3.25	
	acetona	2.1	

El género *Artemisia* de la familia *Compositae* (*Asteraceae*) ha sido uno de los más estudiados por su efecto potencial sobre diferentes especies parasitarias tanto en humanos como en animales. Incluye más de 300 especies, en algunas de las cuales, se ha logrado aislar la artemisinina en extractos crudos, siendo el compuesto que estaría relacionado a sus efectos antiparasitarios o anticoccidiales,

además, de una alta capacidad antioxidante (Ferreira, 2009). Un estudio realizado por Arab *et al.* (2006), encontraron que la artemisinina aislada de la planta *Artemisia sieberi* y administrada a pollos de engorde Ross 308, redujo significativamente el número de ooquistes de *E. tenella* y *E. acervulina*, pero no *E. maxima*. Dragan *et al.* (2010) por su parte, evaluaron la actividad anticoccidial de *Artemisia annua* y *Pimpinella anisum* sobre la eliminación de ooquistes en pollos de engorde infectados con *E. tenella*, encontrando una reducción significativa (90.70%) por efecto de la administración de la primera, en comparación con el grupo control infectado alimentado con una dieta estándar. En este estudio, *P. anisum* redujo el número de ooquistes en las heces en menor medida (58.83%). Al final del experimento (32 días después de la infección) los pollitos que recibieron *Artemisia annua* tuvieron la mejor eficiencia alimenticia e incrementaron el aumento de peso diario en comparación con los otros grupos experimentales.

Estudios más recientes han dejado también evidencia del potencial efecto anticoccidial de especies de *Artemisia* en pollos de engorde. Al respecto, Kostadinovic *et al.* (2012) observaron que la adición de 3 mg/kg en la dieta de un extracto de *Artemisia absinthium* (conteniendo artemisinina), redujo el número de ooquistes eliminados en las heces de pollos de engorde de la línea Arbor Acres infectados con ooquistes de *Eimeria tenella* (20,000 ooquistes por ave). En otro estudio, se comparó el efecto anticoccidial del extracto de *Artemisia sieberi* versus el del ionóforo monensina en pollos de engorde de 21 días infectados con *E. tenella*, *E. maxima*, *E. necatrix* y *E. acervulina* (Kheirabadi *et al.*, 2014). En este estudio se pudo encontrar que los pollos desafiados con coccidias y tratados con extracto de *A. sieberi* presentaron un número reducido de ooquistes por gramo de heces y una mayor ganancia de peso, comparado con el grupo que recibió monensina. Resultados similares fueron observados en un estudio que empleó un extracto de *A. sieberi* obtenido usando éter de petróleo y recuperado como un nuevo extracto granulado. Los pollos de engorde desafiados por *E. tenella* al día 21 y tratados con este extracto mostraron una reducción significativa en la mortalidad, diarrea, severidad de lesiones en ciegos y número de ooquistes eliminados en las heces (Kaboutari *et al.*, 2014). Todas estas investigaciones sugieren que los extractos de *Artemisia* evaluados pueden usarse como alternativas a los anticoccidiales de uso convencional en condiciones de campo.

El efecto del aceite esencial de orégano en el control de la infección por coccidias en aves también ha sido estudiado. Giannenas *et al.* (2003) evaluaron el efecto anticoccidial de los aceites esenciales de orégano en pollos desafiados a los 14 días de edad con 5×10^4 ooquistes esporulados de *Eimeria tenella*, observando que su inclusión en la dosis de 300 mg/kg en la dieta, mejoró la ganancia de peso corporal y la conversión alimenticia versus un grupo control infectado, pero fueron más bajas que un grupo tratado con lasalocid, anticoccidial sintético de uso comercial. Por otro lado, Mohiti-Asli y Ghanaatparast-Rashti (2015), luego de desafiar experimentalmente a pollos de 22 días de edad con 50 veces la dosis de una vacuna viva atenuada de coccidias a aves tratadas con una dosis de 500 ppm de aceite esencial de orégano, reportaron un incremento significativo del índice de eficiencia europeo y una reducción de la severidad de lesiones intestinales, así como, disminución en la eliminación de ooquistes, comparado con un grupo control desafiado sin tratar.

Otras plantas también han sido evaluadas para evidenciar su potencial efecto anticoccidial en la disminución de la severidad de la infección por Eimerias en pollos. Youn y Noh (2001) evaluaron el efecto de 15 hierbas diferentes contra una infección experimental inducida por *E. tenella* encontrando que, los datos de tasas de supervivencia, síntomas de diarrea con sangre, puntajes de lesiones, aumento de peso corporal y eliminación de ooquistes en las aves; fueron reducidos de manera más eficaz por *Sophora flavescens*, seguido de *Pulsatilla koreana*, *Sinomenium acutum*, *Ulmus macrocarpa* y *Quisqualis indica*. Por su parte, Tipu *et al.* (2002) compararon la eficacia anticoccidial de salinomicina y el fruto de nimbo (*Azadirachta indica*) en pollos inoculados con 30,000 ooquistes esporulados de especies mixtas de Eimeria, concluyendo que la adición de 0.3% de fruta molida de nimbo en la dieta redujo el impacto de la enfermedad en términos de conteo de ooquistes en las heces y baja mortalidad en comparación con el grupo tratado con salinomicina. En otro estudio, Wang *et al.* (2008) demostraron que el extracto de proantocianidina de semilla de uva puede reducir la infección por *E. tenella* al reducir la mortalidad, incrementar la ganancia de peso y la severidad de lesiones intestinales. Adicionalmente, se observó que este extracto disminuyó la presencia de óxido nítrico, pero aumentó la enzima superóxido dismutasa en el plasma de los pollos, sugiriendo que la proantocianidina de la semilla de uva reduce el impacto de la coccidiosis mediante una regulación en la disminución del estrés oxidativo.

En estudios más recientes, Lee *et al.* (2011a) encontraron que dos mezclas de fitogénicos (uno a base de carvacrol, cinamaldehído y oleorresina de *Capsicum*; y otro conteniendo oleorresinas de *Capsicum* y cúrcuma) protegieron eficazmente contra la infección por *E. tenella* mejorando el peso vivo versus un control no tratado. Además, ambos tratamientos mostraron un aumento en las células naturales asesinas, macrófagos, leucocitos y sus citocinas (IFN- γ e IL-6), lo que llevó a la inducción y elevación de la inmunidad del ave para eliminar *E. tenella*. Ola-Fadunsin y Ademola (2013) demostraron el control de una infección natural con especies mixtas de Eimerias por un extracto de *Moringa oleífera*, al observar que la eliminación de ooquistes en heces, aumento de peso y mortalidad, fueron mejorados por la administración en diferentes dosis (0.1 a 0.5 g/kg de peso vivo), en comparación a un grupo control desafiado sin tratar. Más tarde, Yang *et al.* (2015b) demostraron que la administración de *Bidens pilosa* en la dosis de 0.5, 1 y 5% en la dieta, ejerció una actividad anticoccidial en pollos infectados con *E. tenella* al reducir la mortalidad, la pérdida de peso corporal, el recuento de ooquistes fecales y las lesiones intestinales. A nivel local, Tupayachi *et al.* (2016) estudiaron el efecto de la suplementación de harina de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) (0.25%) y de aceite de copaiba (0.15 ml/kg) en el comportamiento productivo y morfometría intestinal en pollos desafiados con coccidias a los 14 días de edad. Los resultados obtenidos mostraron que ambas alternativas no ejercieron influencia sobre el rendimiento productivo, la altura de vellosidades ni en el recuento de ooquistes.

Estudios *in vitro* también han evidenciado el potencial efecto anticoccidial de diferentes aceites esenciales de plantas. Así, Lee *et al.* (2011b) encontraron que la suplementación con cinamaldehído a una dosis de 10 y 100 $\mu\text{g/ml}$ redujo la viabilidad de esporozoitos de *Eimeria tenella* en comparación con un medio control. Remmal *et al.* (2011) informaron que ooquistes de Eimeria fueron inactivados *in vitro* después de un período de contacto de tres horas con aceites esenciales de artemisia, tomillo, té y clavo. De los diez aceites esenciales probados, solo los cuatro pudieron destruir los ooquistes en una concentración menor a 1 mg/ml. Estos mismos investigadores en otro estudio, evaluaron el efecto de los aceites comerciales de carvacrol, carvona, isopulegol, timol y eugenol en la destrucción de ooquistes. Los resultados arrojaron que el tratamiento de suspensiones de ooquistes de Eimeria (*E. tenella*: 45%, *E. maxima*: 32%, *E. acervulina*: 10%, *E. necatrix*: 6% y *E. mitis*: 7%) con estos componentes condujo

a su lisis de forma dependiente de la dosis y el tiempo de exposición (Remmal *et al.*, 2013). De esta forma ambos estudios dejan una evidencia que los aceites esenciales pueden ser una alternativa para la destrucción de la fase infectiva del parásito, el ooquiste.

3.7 RENDIMIENTO PRODUCTIVO

Los efectos de los aditivos fitogénicos en el rendimiento productivo de las aves resultan de los mecanismos de acción discutidos en las secciones anteriores. En general, las variables que comúnmente se emplean como indicadores del rendimiento del pollo de engorde son el peso corporal, la ganancia de peso, el índice de conversión alimenticia y el consumo de alimento; los mismos que están influenciados por varios factores, como el genotipo, la composición y calidad del alimento, los sistemas de alimentación, el manejo, la infraestructura y ambientes de crianza, las condiciones ambientales y de sanidad.

La influencia positiva de los aditivos fitogénicos en los parámetros de producción de las aves comerciales ha sido evidenciada en varios estudios. Ciftci *et al.* (2005) observaron que la adición de 400 mg/kg de aceite de anís a la dieta de pollos de engorde, mejoró la ganancia diaria de peso vivo y la conversión alimenticia en aproximadamente un 15% y 12%, respectivamente, en comparación con un grupo control que recibió una dieta basal. En otro estudio, Cross *et al.* (2007), registraron una mejora significativa en el aumento de peso corporal al complementar las dietas de pollos de engorde con 1 gramo de aceite esencial de tomillo por kilogramo. Mohammed y Abbas (2009) reportaron también que la adición de hinojo en la dosis de 1g/kg a la dieta de pollos resultó en una mejora significativa en el peso corporal de 6% comparado con el control sin tratar. Por otro lado, Toghiani *et al.* (2010) informaron una mejora de aproximadamente el 6% en el aumento de peso corporal al complementar las dietas de pollos de engorde con 5 gramos de tomillo por kilogramo de dieta, aunque, el resto de variables productivas no se vieron influenciadas significativamente por este tratamiento.

El cuadro 6 presenta los estudios realizados en pollos de engorde empleando fitogénicos y su efecto sobre las variables productivas comúnmente evaluadas a nivel comercial.

Cuadro 6. Efecto de la suplementación en la dieta de aditivos fitogénicos sobre el rendimiento productivo de pollos de engorde (adaptado de Abdelli *et al.*, 2021)

Efecto del tratamiento, % de diferencia respecto al control					
Aditivo fitogénico	Dosis en la dieta (mg/kg)	Peso vivo	Consumo de alimento	Conversión alimenticia	Referencia
Extracto de <i>Achyranthes japonica</i>	1,000	+3.5	-2.4	-6.2	Park y Kim (2019)
Mezcla AE* (carvacrol, cinamaldehido, oleorresina de capsicum)	100	+16.4	+6.1	-9.4	Pirgozliev et al. (2019)
<i>Aerva lanata</i> , <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Piper nigrum</i> y <i>Piper betle</i>	10,000	+14.1	0	-14	Oso et al. (2019)
Extracto en polvo de <i>Pulicaria gnaphalodes</i>	3,000	+4.3	0	-3	Shirani et al. (2019)
Extracto de cúrcuma lipofílico estandarizado	10,000	+9	+1.6	-7.7	Johannah et al. (2018)
Mezcla AE (carvacrol, timol, paracimeno)	400 µL	+4.2	0	-3.9	Liu et al. (2018)
Tomillo en polvo	5,000	+4.6	+3.3	0	Hassan y Awad (2017)
Mezcla AE (orégano, anís, cáscara de cítricos)	150	0	-5.3	0	Mohiti-Asli y Ghanaatparast-Rashti (2017)
Mezcla de hierbas, especias y AE (menta, anís, clavo de olor)	100	+7	0	0	Paraskeuas et al. (2017)

Mezcla AE (mentol, anitol, carvacrol, timol, limoneno)	150	0	0	0	Hafeez et al. (2016)
	100	+2.4	0	0	
Mezcla AE (orégano conteniendo carvacrol y timol)	300	+7.8	+4	0	Peng et al. (2016)
	600	+9.6	+8	0	
Extracto de semillas de <i>Nigella sativa</i>	10,000	+3	0	+5.6	Rahman y Kim (2016)
	20,000				

* Aceites esenciales.

Entre los aditivos fitogénicos comúnmente empleados en las dietas de pollos, la literatura ha demostrado que el aceite esencial del orégano es una herramienta robusta para favorecer el crecimiento y mejorar el uso eficiente del alimento en pollos de engorde (cuadro 7). La efectividad de los fitogénicos es en gran medida influenciada por múltiples factores, como la fuente y los niveles de dosificación de los extractos de plantas empleados, la edad de las aves, la composición de las dietas experimentales y condiciones experimentales en las cuales son evaluados, entre otras (Brenes y Roura, 2010; Giannenas *et al.*, 2018b), por estas causas, los resultados en algunos estudios *in vivo* fueron inconsistentes. Existen otros factores que pueden también influir en los resultados, como el diseño experimental, la composición y las concentraciones de las sustancias activas incluidas en el aditivo (Steiner y Syed, 2015).

Como se mencionó en secciones anteriores, la concentración de los compuestos bioactivos relacionados con los métodos de producción (extracción), el origen de los materiales vegetales utilizados, así como, los parámetros de cultivo; son críticos también para que un fitogénico ejerza su efecto en las aves. Este concepto hace pensar que un extracto de la misma especie de planta usado en diferentes ensayos, pueden diferir en composición y actividades. En ese sentido, Burt (2004) menciona que las principales sustancias activas que tienen funciones antimicrobianas en el aceite esencial de orégano son el carvacrol y el timol, cuyo contenido puede diferir en un amplio rango que puede ir de 5% hasta 85%.

Cuadro 7. Resumen de literatura basada en el efecto del aceite esencial de orégano solo o en combinación con otros aditivos fitogénicos o compuestos polihierbales sobre el ICA

(adaptado de Jin *et al.*, 2020)

Línea genética de las aves	Período experimental, días	Porcentaje de ICA* mejorado	Referencia
Cobb 500	38	4.2	Botsoglou et al. (2002)
Cobb 500	42	2.6	Giannenas et al. (2003)
Ross	41	1.5	Waldenstedt (2003)
Cobb 500	35	3.5	Giannenas et al. (2004)
Cobb 500	42	4.7	Giannenas et al. (2004)
Ross	42	1.9	Tiihonen et al. (2010)
Cobb 500	35	13.3	Tsinas et al. (2011)
Arbor Acres	42	7.6	Jin et al. (2012)
Three-yellow chicken	49	14.8	Jin et al. (2012)
Arbor Acres	35	4.1	Jin et al. (2012)
Ross 307	42	4.6	Jin et al. (2012)
Ross 308	42	10.1	Giannenas et al. (2014)
Ross 308	42	1.6	Bozkurt et al. (2014)
Ross 308	42	7.3	Giannenas et al. (2016)
Ross 308	44	1.7	Skoufos et al. (2016)
Ross 308	42	8.9	Tzora et al. (2017)
Ross 308	42	9.2	Giannenas et al. (2018a)
Ross 308	42	5.5	Giannenas et al. (2018b)

* ICA = índice de conversión alimenticia (g alimento consumido / g peso ganado)

Estudios más recientes también han demostrado el efecto positivo del uso de hierbas y especias empleadas comúnmente como ingredientes en gastronomía, sobre los parámetros productivos de pollos de engorde. Al respecto, Rahimi *et al.* (2011) reportaron que la adición de un extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) al 0.2, 0.4 y 0.6% en el agua de bebida, mejoró la conversión alimenticia durante el inicio, el crecimiento y la totalidad del período experimental (42 días) en comparación con las aves que

no recibieron los extractos. En otro estudio, Aji *et al.* (2011) observaron una mejora significativa del peso corporal cuando se administraron 50 y 100 mg de ajo (*Allium sativum*) y cebolla (*Allium cepa*) a la dieta de pollos de engorde respecto a un grupo control. Por su parte, Alhaji *et al.*, (2015) informaron que la suplementación con 1 y 2 gramos de semilla de anís en la dieta de los pollos de engorde mejoró el peso corporal, la ganancia de peso diaria y la conversión alimenticia, pero no tuvo ningún efecto sobre el consumo de alimento. Así mismo, la mezcla o uso combinado de estas plantas también ha mostrado tener efectos positivos sobre el mejoramiento del rendimiento productivo en pollos. En tal sentido, Ertas *et al.* (2005) encontraron que una mezcla de aceite esencial de orégano, clavo y anís mejoró en 12% la conversión alimenticia en pollos de engorde frente al grupo control y un 8% respecto al grupo de aves suplementadas con APC. Por otro lado, Khattak *et al.* (2014) demostraron que la adición de una mezcla de aceites esenciales de albahaca, comino, laurel, limón, orégano, salvia, té y tomillo (100 a 500 g/ton) en la dieta de los pollos de engorde mejora el peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia en comparación con el grupo de control, durante la fase de crecimiento (10-24 días) y en todo el período experimental (0-42 días) del estudio.

Herramientas actuales como el meta-análisis han permitido relacionar el modo de acción bajo los cuales los extractos de plantas ejercen su efecto benéfico en el medio intestinal de las aves y, por ende, sobre el rendimiento productivo. La figura 2 muestra el modo de acción combinado para el carvacrol, cinamaldehído y capsaicina contenidos en un producto a base de extractos de ají 2%, orégano 5% y canela 3% (Vikari, 2008). El carvacrol influye en las condiciones intestinales estimulando poblaciones de lactobacilos, lo que da como resultado la exclusión competitiva de las enterobacterias, creando un efecto ahorrador de energía reducir el impacto inflamatorio y tóxico ante una eventual infección. Por su parte, el cinamaldehído tiene un efecto antioxidante que ayuda a proteger la mucosa digestiva, disminuyendo el requerimiento de energía para su mantenimiento y reparación. Por lo tanto, una mucosa más fuerte y saludable tendrá una mayor y más efectiva capacidad de absorción de nutrientes. Por otro lado, la capsaicina aumenta la secreción de enzimas en el tracto digestivo, lo que mejora la digestión y aumenta la disponibilidad de nutrientes (Vikari, 2008).

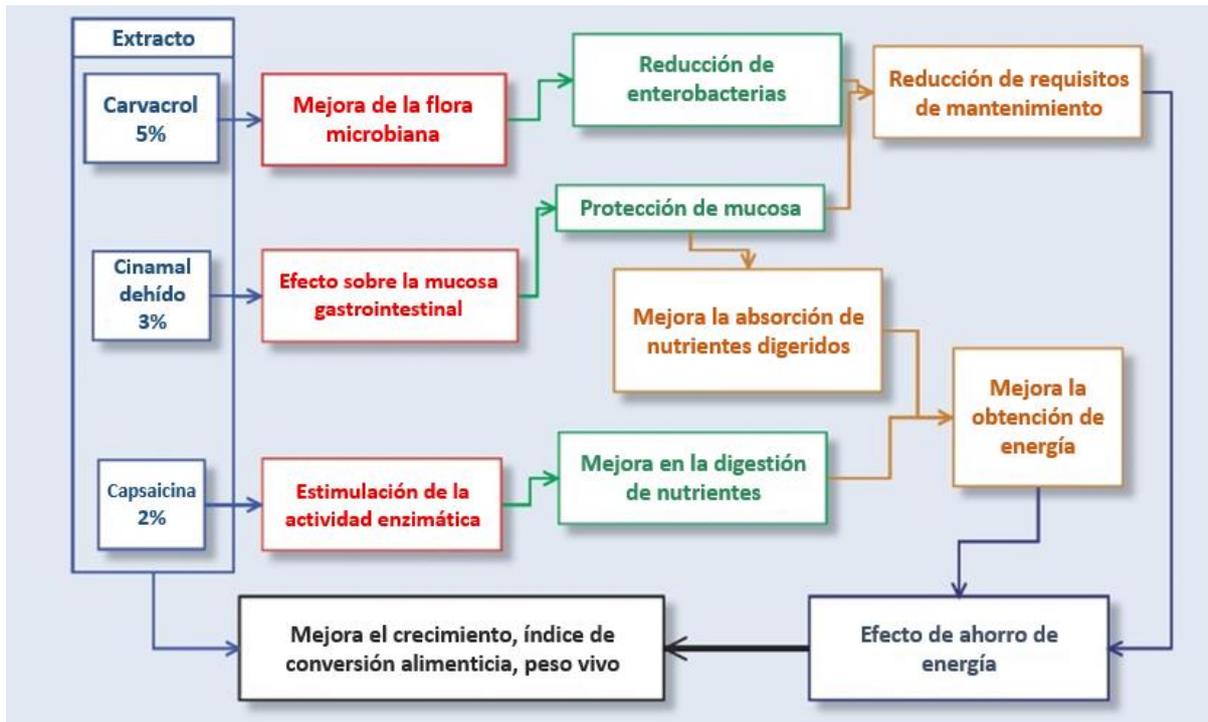


Figura 2. Modo de acción combinado del carvacrol, cinamaldehído y capsaicina en la mejora del crecimiento y rendimiento productivo de las aves (World Poultry, 2008)

4. MARCO REGULATORIO PARA EL USO DE ADITIVOS FITOGÉNICOS EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Los aditivos alimentarios, en general, se consideran como productos que se aplican durante largos períodos o incluso en todo el ciclo de vida de animales sanos con el fin de corregir deficiencias nutricionales, mantener una ingesta adecuada de ciertos nutrientes o apoyar funciones fisiológicas específicas. En contraste, los antimicrobianos usados en medicina veterinaria son administrados para la profilaxis y terapia de problemas de salud diagnosticados bajo la supervisión de un profesional durante un período de tiempo limitado. Por lo tanto, las declaraciones de propiedades farmacológicas para tratar o prevenir enfermedades en animales no están considerados para los aditivos, incluyendo los fitogénicos (Wallace *et al.*, 2010; Franz *et al.*, 2020).

El procesamiento, comercialización y uso de aditivos alimentarios dentro de la Unión Europea se encuentran establecidos en el reglamento N° 1831/2003 (EC, 2003), seguido de reglas detalladas para su implementación de acuerdo con el reglamento N° 429/2008 (EC, 2008). A estos documentos acompañan la guía sobre identificación, caracterización y condiciones de uso (EFSA, 2017); y la guía de evaluación de la eficacia de los aditivos para alimentos balanceados de animales (EFSA, 2018), emitidas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA - European Food Safety Authority).

De acuerdo con la definición del reglamento N° 1831/2003, los aditivos para alimentos balanceados de animales son sustancias o preparaciones, que se agregan intencionalmente al alimento o al agua para (Von Holst *et al.*, 2006; Wallace *et al.*, 2010):

- 1) Actuar favorablemente sobre las características de los alimentos. Un ejemplo lo representan los antioxidantes que prolongan la vida de almacenamiento del alimento y materiales alimenticios al protegerlos contra el deterioro causado por la oxidación;
- 2) Actuar favorablemente sobre las características de los productos animales como, por ejemplo, el uso de colorantes como sustancias que, cuando se administran a los animales, agregan colores a los alimentos de origen animal;

- 3) Actuar favorablemente sobre el color de los peces y aves ornamentales;
- 4) Actuar favorablemente sobre las consecuencias ambientales de la producción animal como, por ejemplo, la reducción de la excreción de amoníaco o la producción de metano;
- 5) Actuar favorablemente sobre la producción, rendimiento o bienestar animal, particularmente al afectar la microbiota gastrointestinal o la digestibilidad de los alimentos;
- 6) Poseer un efecto coccidiostático o histomonostático.

Actualmente, dependiendo de sus funciones y propiedades, Franz *et al.* (2020) clasifican a los aditivos fitogénicos utilizados comúnmente en producción animal como: a) aditivos sensoriales: cualquier sustancia cuya adición en el alimento mejora o cambia las propiedades organolépticas del mismo, o las características visuales de los alimentos derivados de animales; b) aditivos tecnológicos: cualquier sustancia añadida al alimento para fines tecnológicos (p.ej. reductores de emisiones de gases); y c) aditivos zootécnicos: cualquier aditivo utilizado para mejorar el rendimiento de los animales con buena salud.

En la Unión Europea, antes de comercializar un aditivo para alimento balanceado de animales, los fabricantes deben solicitar y obtener la autorización de la Comisión Europea. La actividad de un aditivo fitogénico o cualquier otro aditivo alimentario debe demostrarse mediante estudios de eficacia para cada uso propuesto y que satisfagan al menos una de las características que deben tener de acuerdo con las categorías y grupos funcionales de aditivos para piensos establecidos en el Reglamento (CE) 1831/2003 (Franz *et al.*, 2020). Para demostrar la eficacia zootécnica real de un producto, los proveedores tienen la posibilidad de presentar un informe de autorización para que la Comisión Europea lo evalúe y categorice como un aditivo zootécnico. Esta labor es encargada a la EFSA con el fin de realizar una evaluación completa del aditivo y obtener una valoración de este último. En base a esta valoración, la Comisión Europea podrá autorizar el uso del producto en la categoría de "aditivo zootécnico". Esta valoración permite a la empresa informar sobre los aspectos de rendimiento y eficiencia productiva del producto autorizado (Arnaud y Maurin, 2020).

Aunque la comprensión del modo de acción de este tipo de productos debería ser un requisito previo para su aplicación óptima en términos de eficacia, aún no se logra una comprensión completa de estos aspectos en los animales. Los aspectos biológicos de la planta (especie, variedad y condiciones de crecimiento, tiempo de cosecha, estado de madurez), fabricación (extracción/destilación y estabilización), condiciones de almacenamiento (método, luz, temperatura, tensión de oxígeno, tiempo), así como, posibles efectos sinérgicos o antagonistas (compuestos antinutricionales o contaminación microbiana); son factores que pueden afectar sustancialmente su composición y efectividad (Cheng *et al.*, 2014; Suganya *et al.*, 2016). Otro punto a tener en consideración es que los compuestos bioactivos contenidos en una planta se dan en la naturaleza como combinaciones complejas y no de manera individual, y la sinergia entre estos compuestos individuales puede ser una característica importante de su acción. Finalmente, una ventaja indudable que justificaría el uso de los bioactivos de plantas sobre los APC es la poca probabilidad en la generación de resistencia microbiana frente a los compuestos sintéticos convencionales (Wallace *et al.*, 2010).

De acuerdo con las normativas impuestas por la Unión Europea, cualquier aditivo en el alimento debe ser completamente identificado, caracterizado y trazable. Para ello debe demostrarse su eficacia sobre los efectos nutricionales declarados, incluida la ausencia de posibles interacciones con otros aditivos alimentarios y la seguridad para el animal, para el usuario (p. ej. el productor avícola y personal de los molinos de alimentos), para el consumidor de productos derivados de animales y para el medio ambiente (Windisch *et al.*, 2008). Los aditivos en los que no todos los componentes pueden identificarse, como en el caso de los extractos de plantas, deben ser caracterizados en base a los productos secundarios que contribuyen a su actividad (Franz *et al.*, 2020).

Debido a su diversidad y composición compleja, es difícil realizar estudios integrales de toxicología y evaluación de seguridad en el uso de las plantas y sus extractos. El desafío es identificar y cuantificar los diferentes efectos para afirmar una mejora en la utilización del alimento, la fisiología animal y el estado de salud del animal. En adición, la diversidad biológica de las especies animales y los procesos metabólicos codificados genéticamente en sinergia con la comunidad microbiana del

intestino, pueden conducir a diferentes grados de tolerancia con los bioactivos de origen vegetal en la dieta y la evidencia de posibles efectos tóxicos (Cheng *et al.*, 2014).

Los métodos analíticos para identificar y cuantificar la trazabilidad de los compuestos fitogénicos en alimentos y tejidos animales aún son escasos y difíciles de desarrollar. Aunque la mayoría de los compuestos fitogénicos son un grupo de alternativas naturales a los antibióticos y generalmente la FDA de los Estados Unidos los reconoce como seguros (FDA, 2019), todavía se necesita estudios completos sobre su toxicidad y seguridad antes que puedan usarse ampliamente en alimentos para animales (Yang, 2015a).

5. CONCLUSIONES

Se considera que uno de los principales desafíos en la industria avícola es producir el mayor volumen de carne al menor costo, objetivo que fue siempre alcanzable a través del uso de los APC. Actualmente con la prohibición en su uso, el desafío de los criadores para lograr el mismo objetivo es mucho mayor, debido al incremento de infecciones por agentes patógenos y oportunistas, tales como *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Camphylobacter spp.*, *Histomona meleagridis*, entre otros. Todo esto ha forzado a la industria a tratar de encontrar alternativas naturales efectivas que puedan reemplazar el uso de APC, para mantener el rendimiento productivo y el retorno económico al nivel de una industria sostenible y redituable. Durante los últimos años, se han llevado a cabo numerosos estudios en busca de desarrollar nuevos aditivos alimenticios, con el objetivo de mantener la productividad de los animales, habiéndose prestado extrema atención a la salud intestinal de las aves, tanto a través del manejo nutricional como del control del medioambiente. Dentro de las nuevas alternativas, los aditivos fitogénicos han cobrado especial relevancia como una de las herramientas más aceptadas en la industria cárnica de aves para reemplazar a los APC.

Los múltiples estudios que se vienen realizando con la finalidad de evaluar el efecto de la incorporación de los aditivos fitogénicos en la dieta, muestran resultados variables, sin embargo, en la mayoría de casos se obtienen efectos positivos sobre la digestibilidad, la morfología intestinal, la actividad antioxidante, el control de los procesos inflamatorios en el tracto digestivo, así como, la modulación de la microbiota intestinal y el impacto sobre las variables productivas. Por otro lado, se ha demostrado un efecto de sinergia entre diversos compuestos fitogénicos que, según la literatura disponible hasta la fecha, tienen un potencial significativo para ser considerados como alternativas de reemplazo a los APC. Incluso en algunos casos, ya cuentan con presentaciones comerciales para diferentes especies avícolas y animales, sin embargo, el modo exacto de acción de estos aditivos aún no ha sido totalmente esclarecido, por lo que, se requieren mayores estudios bajo condiciones estandarizadas.

La utilización de los productos fitogénicos es regulada por la FDA de los Estados Unidos y el EFSA en la Unión Europea, siendo incluidos en la categoría de aditivos generalmente reconocido como seguro (GRAS por sus siglas en inglés) para alimentos humanos y animales en el caso del primero, o considerados como saborizantes o aromatizantes en el caso del segundo. Por ello, el nivel de estandarización de los aditivos fitogénicos y los requerimientos regulatorios para su administración a las aves han aumentado en la última década. Además de esto, los diferentes productos disponibles en el mercado presentan una composición compleja y variable, lo que, también se ve reflejado en sus efectos *in vivo*, por lo que, se hace necesaria una investigación sistemática y exhaustiva sobre su eficacia y seguridad para garantizar su uso seguro en las dietas de aves comerciales.

La variabilidad de los resultados revisados sobre el uso de fitogénicos es debido a múltiples factores: composición del fitogénico (origen o lugar de cultivo, métodos de fabricación y condiciones de almacenamiento), rangos de dosis evaluadas, condiciones medioambientales variables durante los ensayos (temperatura, humedad y calidad del aire), genética, edad de las aves, composición y calidad del alimento, estado de salud del animal, así como, el estado sanitario y los sistemas de bioseguridad de la granja. El desarrollo reciente de tecnologías "ómicas" y de alto rendimiento puede hacer avanzar significativamente las investigaciones sobre los mecanismos relacionados a las funciones de los compuestos fitogénicos y, por lo tanto, orientar el uso eficaz de los mismos.

Más estudios son necesarios para esclarecer el mecanismo exacto bajo el cual los aditivos fitogénicos ejercen su efecto, así como, el desarrollo y/o mejora de los métodos de su presentación (por ejemplo, microencapsulación) para la administración dirigida a los órganos donde debe actuar el fitogénico. Un problema conocido es la omisión de la información completa de la composición de los productos fitogénicos por el llamado "secreto industrial", lo cual interfiere con la investigación para dilucidar la acción real de dichos productos, por ello, un aspecto en el futuro es el de realizar ensayos estandarizados con productos que especifiquen su composición en detalle, de modo que los resultados puedan ser analizados y comparados técnicamente. Otro aspecto es la falta de información sobre los efectos no deseados y de sobredosisificación en los ensayos revisados tanto *in vitro* e *in vivo* que

demuestren el uso seguro e inocuo de los aditivos fitogénicos en aves. Finalmente, debe señalarse que el uso de aditivos fitogénicos junto con otras alternativas naturales, sumado a un buen manejo y prácticas de producción, serán las claves para maximizar el rendimiento y mantener la productividad de los animales, mientras se avanza con el objetivo final de retirar definitivamente el uso de antibióticos de la industria avícola.

LITERATURA CITADA

1. **Abdelli N, Solà-Oriol D, & Pérez JF. 2021.** Phytogetic Feed Additives in Poultry: Achievements, Prospective and Challenges. *Animals* 11(12): 3471.
2. **Abudabos AM, Alyemni AH. 2013.** Effects of the essential oil blend CRINA® Poultry in feed on broiler performance and gut microbiology. *Italian Journal of Animal Science* 12(4): e83.
3. **Aji SB, Ignatius K, Asha'Adatu Y, Nuhu JB, Abdulkarim A, Aliyu U, & Abubakar H. 2011.** Effects of Feeding Onion (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium sativum*) on. *Research Journal of Poultry Sciences* 4(2): 22-27.
4. **Alhaji MS, Alhobaishi M, El Nabi AG, & Al-Mufarrej SI. 2015.** Immune responsiveness and performance of broiler chickens fed a diet supplemented with high levels of Chinese star anise fruit (*Illicium verum* Hook. F). *Journal of Animal and Veterinary Advances* 14(2): 36-42.
5. **Amad AA, Männer K, Wendler KR, Neumann K and Zentek J. 2011.** Effects of a phytogetic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. *World's Poultry Sci J* 90: 2811–2816.
6. **Antoni L, Nuding S, Wehkamp J, Stange EF. 2014.** Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology* 20(5): 1165-1179.
7. **Applegate TJ, Kloze V, Steiner T, Ganner A, Schatzmayr G. 2010.** Probiotics and phytoGENICS for poultry: myth or reality? *J Appl Poultry Res* 19(2): 194-210.
8. **Arab HA, Rahbari S, Rassouli A, Moslemi MH, & Khosravirad F. 2006.** Determination of artemisinin in *Artemisia sieberi* and anticoccidial effects of the plant extract in broiler chickens. *Tropical Animal Health and Production* 38(6): 497-503.
9. **Arnaud E, Marin J. 2020.** Extractos a base de plantas: panorama presente y futuro. Engormix [Internet], [09 enero 2020]. Disponible en: <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/extracto-base-plantas-panorama-t44690.htm>
10. **Arsi K, Donoghue AM, Venkitanarayanan K, Kollanoor-Johny A, Fanatico AC, Blore PJ, Donoghue DJ. 2014.** The efficacy of the natural plant extracts, thymol and carvacrol against *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Journal of food safety* 34(4): 321-325.

11. **Barra A. 2009.** Factors affecting chemical variability of essential oils: a review of recent developments. *Natural product communications* 4(8): 1147-1154.
12. **Basmacioglu H, Baysal Ş, Misirlioglu Z, Polat ME, Yilmaz H, & Turan N. 2010.** Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat–soybean meal diets. *British poultry science* 51(1): 67-80.
13. **Bassole IHN, & Juliani HR. 2012.** Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 17(4): 3989-4006.
14. **Bhat BG, Chandrasekhara N. 1986.** Studies on the metabolism of piperine: absorption, tissue distribution and excretion of urinary conjugates in rats. *Toxicology* 40(1): 83-92.
15. **Blagojević P, Radulović N, Palić R, Stojanović G. 2006.** Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(13): 4780-4789.
16. **Botsoglou NA, Florou-Paneri P, Christaki E, Fletouris DJ, Spais AB. 2002.** Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *British Poultry Science* 43(2): 223-230.
17. **Bozkurt M, Aysul N, Küçükylmaz K, Aypak S, Ege G, Catli AU, & Çınar M. 2014.** Efficacy of in-feed preparations of an anticoccidial, multienzyme, prebiotic, probiotic, and herbal essential oil mixture in healthy and *Eimeria spp.*-infected broilers. *Poultry science* 93(2): 389-399.
18. **Brenes A, Roura E. 2010.** Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Anim Feed Sci Tech* 158(1-2): 1-14.
19. **Burt S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223-253.
20. **Cabuk M, Bozkurt M, Alcicek AH, Akbaş Y, Küçükylmaz K. 2006.** Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *South African Journal of Animal Science* 36(2): 135-141.

21. **Campos-Vega R, Dave B. 2013.** Chapter 2: Chemistry and classification of phytochemicals. En: Tiwari BK, Brunton NP, Brennan CS, eds. Handbook of Plant Food Phytochemicals Sources, Stability and Extraction. 1a ed. Reino Unido: Wiley-Blackwell. p 7-48.
22. **Cheng G, Hao H, Xie S, Wang X, Dai M, Huang L, Yuan Z. 2014.** Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry?. *Frontiers in microbiology* 5(217): 1-15.
23. **Cherian G, Orr A, Burke IC, & Pan W. 2013.** Feeding *Artemisia annua* alters digesta pH and muscle lipid oxidation products in broiler chickens. *Poultry science* 92(4): 1085-1090.
24. **Chirumbolo S. 2010.** The role of quercetin, flavonols and flavones in modulating inflammatory cell function. *Inflammation & Allergy-Drug Targets* 9(4): 263-285.
25. **Cho JH, Kim HJ, & Kim IH. 2014.** Effects of phytogetic feed additive on growth performance, digestibility, blood metabolites, intestinal microbiota, meat color and relative organ weight after oral challenge with *Clostridium perfringens* in broilers. *Livestock Science* 160: 82-88.
26. **Christaki E, Florou-Paneri P, Giannenas I, Papazahariadou M, Botsoglou NA, Spais AB. 2004.** Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Animal Research* 53(2): 137-144.
27. **Christaki E, Bonos E, Giannenas I, Florou-Paneri P. 2012.** Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture* 2(3): 228-243.
28. **Ciftci M, Guler T, Dalkilic B, & Ertas ON. 2005.** The effect of anise oil (*Pimpinella anisum* L.) on broiler performance. *International Journal of Poultry Science* 4(11): 851-855.
29. **Cross DE, McDevitt RM, Hillman K, & Acamovic T. 2007.** The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *British Poultry Science* 48(4): 496-506.
30. **D'Antuono LF, Galletti GC, & Bocchini P. 2000.** Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. populations from a North Mediterranean Area (Liguria Region, Northern Italy). *Annals of Botany* 86(3): 471-478.
31. **Da Costa PM, Oliveira M, Ramos B, Bernardo F. 2011.** The impact of antimicrobial use in broiler chickens on growth performance and on the occurrence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli*. *Livestock science* 136(2-3), 262-269.

32. **Da Silveira SM, Cunha Júnior A, Scheuermann GN, Secchi FL, & Vieira CRW. 2012.** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. *Ciência Rural* 42(7): 1300-1306.
33. **De Souza AL, de Barros JC, de Conceicao ML, Neto NJG, da Costa ACV. 2009.** Combines application of *Origanum vulgare* L. essential oil and acetic acid for controlling the growth of *Staphylococcus aureus* in foods. *Br J Microbiol* 40: 387–393.
34. **Dhama K, Latheef SK, Mani S, Samad HA, Kartik K, Tiwari R, Khan RU, Al-agawany M, Farag MR, Alam GM, Laudadio V, Tufarelli V. 2015.** Multiple beneficial applications and modes of action of herbs in poultry health and production – A review. *Int. J. Pharmacol.* 11: 152–176.
35. **Diario Oficial El Peruano.** Resolución Directoral N° 0091-2019-MINAGRI-SENASA-DIAIA. Lima, Perú, 2 de diciembre de 2019. p 6-9.
36. **Dragan L, Tutilincu A, Dan I, Dunca I, Dragan M, & Mircean V. 2010.** Effects of *Artemisia annua* and *Pimpinella anisum* on *Eimeria tenella* (Phylum Apicomplexa) low infection in chickens. *Sci Parasitol* 11(2): 77-82.
37. **Dunn WB, Ellis DI. 2005.** Metabolomics: current analytical platforms and methodologies. *Trends Anal Chem* 24(4): 285–294.
38. **EC, 2003.** Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union* L268, 18.10.2003, pp. 29-43.
39. **EC, 2008.** Regulation (EC) N° 429/2008 on Detailed Rules for the Implementation of Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council as Regards the Preparation and the Presentation of Applications and the Assessment and the Authorization of Feed Additives. *Official Journal of the European Union* L 133, 22.5.2008, pp. 1-65.
40. **EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Rychen G, Aquilina G, Azimonti G, Bampidis V, Bastos MDL, Gropp J. 2017.** Guidance on the identity, characterisation and conditions of use of feed additives. *EFSA Journal* 15(10): e05023.

41. **EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Rychen G, Aquilina G, Azimonti G, Bampidis V, Bastos MDL, Gropp J. 2018.** Guidance on the assessment of the efficacy of feed additives. *EFSA Journal* 16(5): e05274.
42. **Engberg RM, Grevsen K, Ivarsen E, Fretté X, Christensen LP, Højberg O, & Canibe N. 2012.** The effect of *Artemisia annua* on broiler performance, on intestinal microbiota and on the course of a *Clostridium perfringens* infection applying a necrotic enteritis disease model. *Avian Pathology* 41(4): 369-376.
43. **Ertas ON, Guler T, Çiftçi M, Dalkılıç B, & Simsek UG. 2005.** The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. *International Journal of Poultry Science* 4(11): 879-884.
44. **FDA. 2019.** Food and drugs, 21CFR582. Disponible en: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?CFRPart=582> (accesado el 04 abril 2019).
45. **Fernandez-Panchon MS, Villano D, Troncoso AM, & Garcia-Parrilla MC. 2008.** Antioxidant activity of phenolic compounds: from *in vitro* results to *in vivo* evidence. *Critical reviews in food science and nutrition* 48(7): 649-671.
46. **Ferreira JFS. 2009.** *Artemisia* species in small ruminant production: their potential antioxidant and anthelmintic effects. *Proceedings of Medicinal Botanicals Program, Mountain State University*, pp. 156-200.
47. **Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJ. 1997.** Physiological aspects of essential oil production. En: Franz C, Mathé A, Buchbauer G, eds. *Essential oils: Basic and applied research. Proceedings of the 27th International Symposium on essential Oils*. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL. p 95-107.
48. **Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJ. 2008.** Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance journal*, 23(4), 213-226.
49. **Florou-Paneri P, Christaki E, Giannenas IA, Papazahariadou M, Botsoglou NA, Spais AB. 2004.** Effect of dietary Olympus tea (*Sideritis scardica*) supplementation on performance of chickens challenged with *Eimeria tenella*. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13(2): 301-312.

50. **Florou-Paneri P, Palatos G, Govaris A, Botsoglou D, Giannenas I, Ambrosiadis I. 2005.** Oregano herb versus oregano essential oil as feed supplements to increase the oxidative stability of turkey meat. *International Journal of Poultry Science* 4(11): 866-871.
51. **Franz C, Baser KHC, Windisch W. 2010.** Essential oils and aromatic plants in animal feeding—a European perspective. A review. *Flavour and Fragrance Journal* 25(5): 327-340.
52. **Franz C, Novak J. 2016.** Sources of essential oils. En: Baser KHC, Buchbauer G, eds. *Handbook of Essential Oils*. 2a ed. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton. p 43-86.
53. **Franz C, Baser KHC, Hahn-Ramssl I. 2020.** Herbs and aromatic plants as feed additives: aspects of composition, safety, and registration rules. En: Florou-Paneri P, Christaki E, Giannenas I, eds. *Feed additives aromatic plants and herbs in animal nutrition and health*. Reino Unido: Academic Press. p 35-56.
54. **Friedman M, Henika PR, Levin CE, & Mandrell RE. 2004.** Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of agricultural and food chemistry* 52(19): 6042-6048.
55. **Gadde U, Kim WH, Oh ST, Lillehoj HS. 2017.** Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Anim Health Res Rev* 18:26–45.
56. **García V, Catala-Gregori P, Hernández F, Megias MD, & Madrid J. 2007.** Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research* 16(4): 555-562.
57. **Gbenou JD, Ahounou JF, Akakpo HB, Laleye A, Yayi E, Gbaguidi F, & Kotchoni SO. 2013.** Phytochemical composition of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils and their anti-inflammatory and analgesic properties on Wistar rats. *Molecular biology reports* 40(2): 1127-1134.
58. **Gheisar MM, Hosseindoust A, & Kim IH. 2015.** Evaluating the effect of microencapsulated blends of organic acids and essential oils in broiler chickens diet. *Journal of Applied Poultry Research* 24(4): 511-519.
59. **Gheisar MM & Kim IH. 2018.** Phytochemicals in poultry and swine nutrition—a review. *Italian Journal of Animal Science* 17(1): 92-99.

60. **Giannenas IA, Bonos E, Filiouis G, Stylianaki I, Kumar P, Lazari D, & Florou-Paneri P. 2018a.** Effect of a polyherbal or an arsenic-containing feed additive on growth performance of broiler chickens, intestinal microbiota, intestinal morphology, and lipid oxidation of breast and thigh meat. *The Journal of Applied Poultry Research* 28(1): 164-175.
61. **Giannenas IA, Bonos E, Skoufos I, Tzora A, Stylianaki I, Lazari D, Florou-Paneri P. 2018b.** Effect of herbal feed additives on performance parameters, intestinal microbiota, intestinal morphology and meat lipid oxidation of broiler chickens. *British poultry science* 59(5): 545-553.
62. **Giannenas IA, Bonos E, Christaki E, & Florou-Paneri P. 2013.** Essential oils and their applications in animal nutrition. *Med Aromat Plants* 2(140): 2167-0412.
63. **Giannenas IA, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Christaki E, Botsoglou NA, Spais B. 2003.** Dietary oregano essential oil supplementation on performance of broilers challenged with *Eimeria tenella*. *Arch Anim Nutr* 57: 99-106.
64. **Giannenas IA, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Botsoglou NA, Christaki E, Spais AB. 2004.** Effect of diet supplementation with ground oregano on performance of broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. *Archiv fur Geflugelkunde* 68(6): 247-252.
65. **Giannenas IA, Papaneophytou CP, Tsalie E, Triantafillou E, Tontis D, & Kontopidis GA. 2014.** The effects of benzoic acid and essential oil compounds in combination with protease on the performance of chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences* 23(1): 73-81.
66. **Giannenas IA, Tzora A, Bonos E, Sarakatsianos I, Karamoutsios A, Anastasiou I, & Skoufos I. 2016.** Effects of dietary oregano essential oil, laurel essential oil and attapulgit on chemical composition, oxidative stability, fatty acid profile and mineral content of chicken breast and thigh meat. *Eur Poultry Sci* 80: 1-18.
67. **Gomes A, Fernandes E, Lima JL, Mira L, & Corvo ML. 2008.** Molecular mechanisms of anti-inflammatory activity mediated by flavonoids. *Current medicinal chemistry* 15(16): 1586-1605.
68. **Grashorn MA. 2010.** Use of phytobiotics in broiler nutrition—an alternative to infeed antibiotics. *J Anim Feed Sci* 19(3): 338-347.

69. **Guo FC, Savelkoul HFJ, Kwakkel RP, Williams BA, Verstegen MWA. 2003.** Immunoactive, medicinal properties of mushroom and herb polysaccharides and their potential use in chicken diets. *World's Poult Sci J* 59:427–440.
70. **Guyard-Nicodeme M, Keita A, Quesne S, Amelot M, Poezevara T, Le Berre B, & Chemaly M. 2016.** Efficacy of feed additives against *Campylobacter* in live broilers during the entire rearing period. *Poultry Science* 95(2): 298-305.
71. **Hafeez A, Männer K, Schieder C, & Zentek J. 2016.** Effect of supplementation of phytogenic feed additives (powdered vs. encapsulated) on performance and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry science* 95(3): 622-629.
72. **Hager-Theodorides AL, Goliomytis M, Delis S, & Deligeorgis S. 2014.** Effects of dietary supplementation with quercetin on broiler immunological characteristics. *Animal Feed Science and Technology* 198: 224-230.
73. **Halle I, Thomann R, Bauermann U, Henning M, Köhler P. 2004.** Effects of a graded supplementation of herbs and essential oils in broiler feed on growth and carcass traits. *Landbauforschung Volkenrode* 54: 219-229.
74. **Hashemi SR, Davoodi H. 2011.** Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Vet Res Commun* 35(3): 169-180.
75. **Hashemi SR, Idrus Z, Bejo MH, Abas F, Somchit MN. 2008.** Acute toxicity study and phytochemical screening of selected herbal aqueous extract in broiler chickens. *Int. J. Pharmacol.*, 4: 352-360.
76. **Hashemi SR, Zulkifli I, Davoodi H, Zunita Z, & Ebrahimi M. 2012.** Growth performance, intestinal microflora, plasma fatty acid profile in broiler chickens fed herbal plant (*Euphorbia hirta*) and mix of acidifiers. *Animal Feed Science and Technology* 178(3-4): 167-174.
77. **Hassan FA, & Awad A. 2017.** Impact of thyme powder (*Thymus vulgaris* L.) supplementation on gene expression profiles of cytokines and economic efficiency of broiler diets. *Environmental Science and Pollution Research* 24(18): 15816-15826.
78. **Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. 2003.** Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Biol Sci Ser B* 270: 313-321.

79. **Helander IM, Alakomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid EJ, & von Wright A. 1998.** Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry* 46(9): 3590-3595.
80. **Hernández F, Madrid J, García V, Orengo J, & Megias MD. 2004.** Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry science* 83(2): 169-174.
81. **Hippenstiel F, Abdel-Wareth AA, Kehraus S, Südekum KH. 2011.** Effects of selected herbs and essential oils, and their active components on feed intake and performance of broilers—a review. *Arch Geflügelk* 75(4): 226-234.
82. **Hong JC, Steiner T, Aufy A, Lien TF. 2012.** Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. *Livestock science* 144(3): 253-262.
83. **Huie CW. 2002.** A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Anal Bioanal Chem* 373(1–2): 23–30.
84. **Hulankova R, & Borilova G. 2012.** *In vitro* combined effect of oregano essential oil and caprylic acid against *Salmonella* serovars, *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Acta Veterinaria Brno* 80(4): 343-348.
85. **Hume ME, Clemente-Hernández S, & Oviedo-Rondón EO. 2006.** Effects of feed additives and mixed *Eimeria* species infection on intestinal microbial ecology of broilers. *Poultry Science* 85(12): 2106-2111.
86. **Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F. 2011.** An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal* 187(2): 182-188.
87. **Industria Avícola. 2019.** Encuesta de nutrición y alimentación avícola. Jackie Roembke. Edición junio 2019. Pág.4-11.
88. **Jang IS, Ko YH, Kang SY, Lee CY. 2007.** Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Anim Feed Sci Technol* 134: 304-315.

89. **Jamroz D, Orda J, Kamel C, Wilczkiewicz A, Wertelecki T, & Skorupinska J. 2003.** The influence of phytogetic extracts on performance, nutrient digestibility, carcass characteristics, and gut microbial status in broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences* 12(3): 583-596.
90. **Jamroz D, Wilczkiewicz A, Wertelecki T, Orda J, & Skorupinska J. 2005.** Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *British poultry science* 46(4): 485-493.
91. **Jamroz D, Wertelecki T, Houszka M, & Kamel C. 2006.** Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90(5-6): 255-268.
92. **Jerzsele A, Szeker K, Cszinszky R, Gere E, Jakab C, Mallo JJ, Galfi P. 2012.** Efficacy of protected sodium butyrate, a protected blend of essential oils, their combination, and *Bacillus amyloliquefaciens* spore suspension against artificially induced necrotic enteritis in broilers. *Poultry Science* 91(4): 837-843.
93. **Jin L, Dersjant-Li Y, Giannenas I. 2020.** Application of aromatic plants and their extracts in diets of broiler chickens. En: Florou-Paneri P, Christaki E, Giannenas I, eds. *Feed additives*. 1a ed. Reino Unido: Academic Press. p 159-185.
94. **Jin L, Yuan L, Zhu JP, Cheng XH. 2012.** Application of phytogetic feed additives in poultry feed to reduce feed costs. *New Feed. Special Issue on phytogetic feed additives*, pp. 24-25.
95. **Johannah NM, Joseph A, Maliakel B, & Krishnakumar IM. 2018.** Dietary addition of a standardized extract of turmeric (TurmaFEED TM) improves growth performance and carcass quality of broilers. *Journal of animal science and technology* 60(1): 1-9.
96. **Johny AK, Darre MJ, Donoghue AM, Donoghue DJ, & Venkitanarayanan K. 2010.** Antibacterial effect of trans-cinnamaldehyde, eugenol, carvacrol, and thymol on *Salmonella Enteritidis* and *Campylobacter jejuni* in chicken cecal contents *in vitro*. *Journal of Applied Poultry Research* 19(3): 237-244.
97. **Juteau F, Masotti V, Bessiere JM, Dherbomez M, & Viano J. 2002.** Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia* 73(6): 532-535.

98. **Kaboutari J, Arab HA, Ebrahimi K, & Rahbari S. 2014.** Prophylactic and therapeutic effects of a novel granulated formulation of Artemisia extract on broiler coccidiosis. *Tropical animal health and production* 46(1): 43-48.
99. **Karatzas AK, Kets EPW, Smid EJ, & Bennik MHJ. 2001.** The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology* 90(3): 463-469.
100. **Karimi M, Foroudi F, & Abedini MR. 2014.** Effect of Sangrovit on performance and morphology of small intestine and immune response of broilers. *Biosci Biotechnol Res Asia*, 11(2), 855-61.
101. **Kelly C, Gundogdu O, Pircalabioru G, Cean A, Scates P, Linton M, Pet I. 2017.** The *in vitro* and *in vivo* effect of carvacrol in preventing *Campylobacter* infection, colonization and in improving productivity of chicken broilers. *Foodborne pathogens and disease* 14(6): 341-349.
102. **Khattak F, Ronchi A, Castelli P, & Sparks N. 2014.** Effects of natural blend of essential oil on growth performance, blood biochemistry, cecal morphology, and carcass quality of broiler chickens. *Poultry science* 93(1): 132-137.
103. **Kheirabadi KP, Katadj JK, Bahadoran S, da Silva JAT, Samani AD, & Bashi MC. 2014.** Comparison of the anticoccidial effect of granulated extract of *Artemisia sieberi* with monensin in experimental coccidiosis in broiler chickens. *Experimental Parasitology* 141: 129-133.
104. **Kim YS, Ho SB. 2010.** Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Current gastroenterology reports* 12(5): 319-330.
105. **Kim YJ, Bostami, ABMR, Islam MM, Mun HS, Ko SY, Yang CJ. 2016.** Effect of fermented *Ginkgo biloba* and *Camelia sinensis*-based probiotics on growth performance, immunity and caecal microbiology in broilers. *Int J Poult Sci* 15(2): 62-71.
106. **Kohlert C, Van Rensen I, März R, Schindler G, Graefe EU, Veit M. 2000.** Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes in animals and humans. *Planta medica* 66(06): 495-505.
107. **Kokkini S, Karousou R, Dardioti A, Krigas N, Lanaras T. 1997.** Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry* 44 (5): 883-886.

109. **Koscova J, Nemcova R, Gancarcikova S, Jonecova Z, Bomba A, & Buleca V. 2006.** Effect of two plant extracts and *Lactobacillus fermentum* on colonization of gastrointestinal tract by *Salmonella enterica* var. Dusseldorf in chicks. *Biologia* 61(6): 775-778.
110. **Kostadinovic L, Levic J, Galonja-Coghill T, & Ruzicic L. 2012.** Anticoccidian effects of the *Artemisia absinthium* L. extracts in broiler chickens. *Archiva Zootechnica* 15(2): 69-77.
111. **Kostadinovic L, Puvača N, Popović S, & Lević J. 2015.** Botanical supplements as anti-coccidial alternatives in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal* 71(1): 27-36.
112. **Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, & Milos M. 2004.** Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry* 85(4): 633-640.
113. **Kurekci C, Al Jassim R, Hassan E, Bishop-Hurley SL, Padmanabha J, McSweeney CS. 2014.** Effects of feeding plant-derived agents on the colonization of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. *Poultry science* 93(9): 2337-2346.
114. **Kumar M, Kumar V, Roy D, Kushwaha R, Vaiswani S. 2014.** Application of herbal feed additives in animal nutrition-a review. *Int J Livest Res* 4(9): 1-8.
115. **Langhout P. 2000.** New additives for broiler chickens. *World poultry* 16(3): 22-27.
116. **Laudadio V, Passantino L, Perillo A, Lopresti G, Passantino A, Khan RU, Tufarelli V. 2012.** Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. *Poultry Science* 91(1): 265-270.
117. **Leaman DJ, Salvador S. 2005.** International standard for sustainable wild collection of medicinal and aromatic plants (ISSC-MAP), draft 2. Steering group for the development of practice standards and performance criteria for the sustainable wild collection. http://www.floraweb.de/proxy/floraweb/map-pro/draft_2.pdf
118. **Lee KW, Everts H, Kappert HJ, Frehner M, Losa R, & Beynen AC. 2003.** Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British poultry science* 44(3): 450-457.
119. **Lee KW, Everts H, Beynen AC. 2004a.** Essential oils in broiler nutrition. *Int J Poult Sci.* 3: 738-752.

119. **Lee KW, Everts H, Kappert HJ, Van Der Kuilen J, Lemmens AG, Frehner M, & Beynen AC. 2004b.** Growth performance, intestinal viscosity, fat digestibility and plasma cholesterol in broiler chickens fed a rye-containing diet without or with essential oil components. *Int J Poult Sci* 3(9): 613-618.
120. **Lee SH, Lillehoj HS, Jang SI, Lee KW, Bravo D, & Lillehoj EP. 2011a.** Effects of dietary supplementation with phytonutrients on vaccine-stimulated immunity against infection with *Eimeria tenella*. *Veterinary parasitology* 181(2-4): 97-105.
121. **Lee SH, Lillehoj HS, Jang SI, Lee KW, Park MS, Bravo D, & Lillehoj EP. 2011b.** Cinnamaldehyde enhances *in vitro* parameters of immunity and reduces *in vivo* infection against avian coccidiosis. *British Journal of Nutrition* 106(6): 862-869.
122. **Lillehoj H, Liu Y, Calsamiglia S, Fernandez-Miyakawa ME, Chi F, Cravens RL, Gay CG. 2018.** Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Veterinary research* 49(1): 76.
123. **Liu S, Song M, Yun W, Lee J, Lee C, Kwak W, & Cho J. 2018.** Effects of oral administration of different dosages of carvacrol essential oils on intestinal barrier function in broilers. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 102(5): 1257-1265.
124. **Mahmoud BS. 2014.** The efficacy of grape seed extract, citric acid and lactic acid on the inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in shucked oysters. *Food Control* 41: 13-16.
125. **Marcinčák S, Popelka P, Zdolec N, Martonova M, Šimková J, Marcinčáková D. 2011.** Effect of supplementation of phytogetic feed additives on performance parameters and meat quality of broiler chickens. *Slovenian Veterinary Research* 48(1): 27-34.
126. **Mathé A. 2007.** Essential oils as phytogetic feed additives. En: Franz C, Mathé A, Buchbauer G, eds. *Essential oils: basic and applied research*. Allured Publishing Corporation, Carol Stream. p 315–325.
127. **Mathé A. 2009.** Essentials oils – Biochemistry, production and utilization. En: Steiner T, ed. *Phyto-genics in animal nutrition: natural concepts to optimize gut health and performance*. 1^a ed. Austria: Nottingham University Press. p 1-18.

128. **Mathé A. 2015.** Chapter 2: Botanical Aspects of Medicinal and Aromatic Plants. En: Mathé A, ed. Medicinal and Aromatic Plants of the World: Scientific, Production, Commercial and Utilization Aspects. Springer. p 13-34.
129. **Mathlouthi N, Bouzaienne T, Oueslati I, Recoquillay F, Hamdi M, Urdaci M, Bergaoui R. 2012.** Use of rosemary, oregano, and a commercial blend of essential oils in broiler chickens: *in vitro* antimicrobial activities and effects on growth performance. J Anim Sci 90(3): 813-823.
130. **Mayer M, Vogl CR, Amorena M, Hamburger M, Walkenhorst M. 2014.** Treatment of organic livestock with medicinal plants: a systematic review of European Ethnoveterinary research. Forschende Komplementärmed. 21: 375-386.
131. **McReynolds J, Waneck C, Byrd J, Genovese K, Duke S, & Nisbet D. 2009.** Efficacy of multistrain direct-fed microbial and phylogenetic products in reducing necrotic enteritis in commercial broilers. Poultry Science 88(10): 2075-2080.
132. **Miguel MG. 2010.** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. Molecules 15(12): 9252-9287.
133. **Mitsch P, Zitterl-Eglseer K, Köhler B, Gabler C, Losa R, & Zimpernik I. 2004.** The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. Poultry science 83(4): 669-675.
134. **Mohammed AA, & Abbas RJ. 2009.** The effect of using fennel seeds (*Foeniculum vulgare* L.) on productive performance of broiler chickens. International Journal of Poultry Science 8(7): 642-644.
135. **Mohiti-Asli M, & Ghanaatparast-Rashti M. 2015.** Dietary oregano essential oil alleviates experimentally induced coccidiosis in broilers. Preventive veterinary medicine 120(2): 195-202.
136. **Mohiti-Asli M, & Ghanaatparast-Rashti M. 2017.** Comparison of the effect of two phytogetic compounds on growth performance and immune response of broilers. Journal of Applied Animal Research 45(1): 603-608.
137. **Molina D, San Martín V, Shiva C., Serrano-Martínez E, Rojas R, Zavala C, & Álvarez P. 2018.** Efecto de los extractos de hojas de *Passiflora edulis* y *Psidium guajava* en el rendimiento productivo y microbiología fecal de pollos de engorde. Revista Electrónica de Veterinaria 19(5): 1-14.

138. **Mountzouris KC, Paraskevas V, Fegeros K. 2009.** Phytogetic compounds in broiler nutrition. En: Steiner T, ed. *Phytogenics in animal nutrition: natural concepts to optimize gut health and performance*. 1^a ed. Austria: Nottingham University Press. p 97-110.
139. **Mountzouris KC, Paraskevas V, Tsirtsikos P, Palamidi I, Steiner T, Schatzmayr G, & Fegeros K. 2011.** Assessment of a phytogetic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. *Animal Feed Science and Technology* 168(3-4): 223-231.
140. **Navarrete P, Toledo I, Mardones P, Opazo R, Espejo R, & Romero J. 2010.** Effect of *Thymus vulgaris* essential oil on intestinal bacterial microbiota of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and bacterial isolates. *Aquaculture Research*, 41(10): 667-678.
141. **Nikolic M, Markovic T, Markovic D, Peric T, Glamočlija J, Stojkovic D, & Sokovic M. 2012.** Screening of antimicrobial and antioxidant activity of commercial *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oils. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(22): 3852-3858.
142. **Novak J, Grausgruber-Gröger S, Lukas B. 2007.** DNA-based authentication of plant extracts. *Food Res Int* 40 .388-392.
143. **O'Bryan CA, Pendleton SJ, Crandall PG, & Ricke SC. 2015.** Potential of plant essential oils and their components in animal agriculture—*in vitro* studies on antibacterial mode of action. *Frontiers in Veterinary Science* 2: 1-35.
144. **Oksman-Caldentey KM, Inze D. 2004.** Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. *Trends Plant Sci* 9(9): 433–440.
145. **Ola-Fadunsin SD, & Ademola IO. 2013.** Direct effects of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) acetone leaf extract on broiler chickens naturally infected with *Eimeria* species. *Tropical animal health and production* 45(6): 1423-1428.
146. **Organización Mundial de la Salud. 2000.** General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. WHO/EDM/TRM/2000.1. Geneva. p 128.
147. **Oviedo-Rondón EO, Hume ME, Hernández C, & Clemente-Hernández S. 2006.** Intestinal microbial ecology of broilers vaccinated and challenged with mixed *Eimeria* species, and supplemented with essential oil blends. *Poultry science* 85(5): 854-860.

148. **Ouwehand AC, Tiihonen K, Kettunen H, Peuranen S, Schulze H, Rautonen N. 2010.** *In vitro* effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota. *Veterinarni Medicina* 55(2): 71-78.
149. **Pandey IP, Ahmed SF, Chhimwal S, & Pandey S. 2012.** Chemical composition and wound healing activity of volatile oil of leaves of *Azadirachta indica* A. juss. *Advances in Pure and Applied Chemistry* 1: 2167-0854.
150. **Paraskeuas V, Fegeros K, Palamidi I, Hunger C, & Mountzouris KC. 2017.** Growth performance, nutrient digestibility, antioxidant capacity, blood biochemical biomarkers and cytokines expression in broiler chickens fed different phytogetic levels. *Animal Nutrition* 3(2): 114-120.
151. **Paraskeuas VV, & Mountzouris KC. 2019.** Modulation of broiler gut microbiota and gene expression of Toll-like receptors and tight junction proteins by diet type and inclusion of phytoGENICS. *Poultry science* 98(5): 2220-2230.
152. **Park JH, & Kim IH. 2018.** Effects of a protease and essential oils on growth performance, blood cell profiles, nutrient retention, ileal microbiota, excreta gas emission, and breast meat quality in broiler chicks. *Poultry science* 97(8): 2854-2860.
153. **Park JH, & Kim IH. 2019.** Effects of dietary *Achyranthes japonica* extract supplementation on the growth performance, total tract digestibility, cecal microflora, excreta noxious gas emission, and meat quality of broiler chickens. *Poultry science* 99(1): 463-470.
154. **Patočka J, Jakl J. 2010.** Biomedically relevant chemical constituents of *Valeriana officinalis*. *Journal of applied biomedicine*, 8(1): 11-18.
155. **Peng QY, Li JD, Li Z, Duan ZY, & Wu YP. 2016.** Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on growth performance, carcass traits and jejunal morphology in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 214: 148-153.
156. **Perry CA, Dwyer J, Gelfand JA, Couris RR, McCloskey WW. 1996.** Health effects of salicylates in foods and drugs. *Nutrition reviews* 54(8): 225-240.
157. **Pino JA, Marbot R, Aguero J, Fuentes V. 2001.** Essential oil from buds and leaves of clove (*Syzygium aromaticum*) grown in Cuba. *J. Essen. Oil Res.* 13:278– 279.

158. **Pirgozliev V, Mansbridge SC, Rose SP, Lillehoj HS, & Bravo D. 2019.** Immune modulation, growth performance, and nutrient retention in broiler chickens fed a blend of phytogetic feed additives. *Poultry science* 98(9): 3443-3449.
159. **Placha I, Takacova J, Ryzner M, Cobanova K, Laukova A, Strompfova V, & Faix S. 2014.** Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. *British Poultry Science* 55(1): 105-114.
160. **Pourhossein Z, Qotbi A, Seidavi A, Laudadio V, Centoducati G, Tufarelli V. 2015.** Effect of different levels of dietary sweet orange (*Citrus sinensis*) peel extract on humoral immune system responses in broiler chickens. *Animal Science Journal* 86: 105–110.
161. **Preuss HG, Echard B, Dadgar A, Talpur N, Manohar V, Enig M, Ingram C. 2005.** Effects of essential oils and monolaurin on *Staphylococcus aureus*: *in vitro* and *in vivo* studies. *Toxicology Mechanisms and Methods* 15(4): 279-285.
162. **Puvaca N, Stanacev V, Glamocic D, Levicc J, Peric L, Stanacev V, Milic D. 2013.** Beneficial effects of phytoadditives in broiler nutrition. *World's Poult Sci J* 69(1): 27–34.
163. **Rahimi A, Mirza Aghazadeh A, Daneshya MR. 2011.** Growth performance and some carcass characteristics in broiler chickens supplemented with Thymus extract (*Thymus vulgaris*) in drinking water. *J Am Sci* 7(11): 400–405.
164. **Rahman M, & Kim SJ. 2016.** Effects of dietary *Nigella sativa* seed supplementation on broiler productive performance, oxidative status and qualitative characteristics of thighs meat. *Italian Journal of Animal Science* 15(2): 241-247.
165. **Ramos FA, Martínez AP, Montes ES, Gaytán CN, Cázarez ASH, Tovar JC, & Castillo JD. 2017.** Oregano oil use in broiler diet increases accumulation of carvacrol and thymol in breast meat. *Acta universitaria* 27(1): 34-39.
166. **Reisinger N, Steiner T, Nitsch S, Schatzmayr G, Applegate TJ. 2011.** Effects of a blend of essential oils on broiler performance and intestinal morphology during coccidial vaccine exposure. *Journal of Applied Poultry Research* 20(3): 272-283.
167. **Remmal A, Achahbar S, Bouddine L, Chami N, & Chami F. 2011.** *In vitro* destruction of Eimeria oocysts by essential oils. *Veterinary parasitology* 182(2-4): 121-126.

168. **Remmal A, Achahbar S, Bouddine L, Chami F, & Chami N. 2013.** Oocysticidal effect of essential oil components against chicken *Eimeria* oocysts. *Int J Vet Med* 2013 ID 599816 8 pg.
169. **Rhee KS, Anderson LM, & Sams AR. 1996.** Lipid oxidation potential of beef, chicken, and pork. *Journal of Food Science* 61(1): 8-12.
170. **Roofchae A, Irani M, Ebrahimzadeh MA, & Akbari MR. 2011.** Effect of dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil on growth performance, cecal microflora and serum antioxidant activity of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology* 10(32): 6177-6183.
171. **Roura E, Humphrey B, Tedo G, Ipharraguerre I. 2008.** Unfolding the codes of short-term feed appetite in farm and companion animals. A comparative oronasal nutrient sensing biology review. *Can J Anim Sci* 88(4): 535-558.
172. **Saeed M, Naveed M, Arain MA, Arif M, Abd El-Hack ME, Alagawany M, & Sun C. 2017.** Quercetin: Nutritional and beneficial effects in poultry. *World's Poultry Science Journal* 73(2): 355-364.
173. **Seongwei L, Najiah M, Wendy W, & Nadirah M. 2009.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* flower bud (Clove) against fish systemic bacteria isolated from aquaculture sites. *Frontiers of Agriculture in China* 3(3): 332-336.
174. **Sharifi R, Kiani H, Farzaneh M, & Ahmadzadeh M. 2008.** Chemical composition of essential oils of Iranian *Pimpinella anisum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller and their antifungal activity against postharvest pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 11(5): 514-522.
175. **Shetty K, & Wahlqvist M. 2004.** A model for the role of the proline-linked pentose-phosphate pathway in phenolic phytochemical bio-synthesis and mechanism of action for human health and environmental applications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 13(1): 1-24.
176. **Shirani V, Jazi V, Toghiani M, Ashayerizadeh A, Sharifi F, & Barekatin R. 2019.** *Pulicaria gnaphalodes* powder in broiler diets: consequences for performance, gut health, antioxidant enzyme activity, and fatty acid profile. *Poultry science* 98(6): 2577-2587.
177. **Si W, Gong J, Tsao R, Zhou T, Yu H, Poppe C, & Du Z. 2006.** Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *Journal of Applied Microbiology* 100(2): 296-305.

178. **Skoufos I, Giannenas I, Tontis D, Bartzanas T, Kittas C, Panagakis P, Tzora A. 2016.** Effects of oregano essential oil and attapulgate on growth performance, intestinal microbiota and morphometry in broilers. *South African Journal of Animal Science* 46(1): 77-88.
179. **Solorzano-Santos F, Miranda-Novales MG. 2012.** Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology* 23(2): 136-141.
180. **Stanacev V, Glamocic D, Milosevic N, Puvaca N, Stanacev V, Plavska N. 2011.** Effect of garlic (*Allium sativum* L.) in fattening chicks nutrition. *African Journal of Agricultural Research* 6: 943-948.
181. **Steiner T, & Syed B. 2015.** Chapter 20: Phytogetic feed additives in animal nutrition. En: Mathé A, ed. *Medicinal and Aromatic Plants of the World*. Dordrecht: Springer. p 403-423.
182. **Suganya T, Senthilkumar S, Deepa K, Muralidharan J, Gomathi G, Gobiraju S. 2016.** Herbal feed additives in poultry. *Int J Sci Environ Technol* 5(3): 1137-45.
183. **Suzuki OH, Flemming JS, Silva MET. 2008.** Uso de óleos essenciais na alimentação de leitões. *Revista Acadêmica Ciência Animal* 6(4): 519-526.
184. **Symeon GK, Zintilas C, Demiris N, Bizelis IA, Deligeorgis SG. 2010.** Effects of oregano essential oil dietary supplementation on the feeding and drinking behaviour as well as the activity of broilers. *International Journal of Poultry Science* 9(4): 401-405.
185. **Tiihonen K, Kettunen H, Bento MHL, Saarinen M, Lahtinen S, Ouwehand AC, Rautonen N. 2010.** The effect of feeding essential oils on broiler performance and gut microbiota. *British Poultry Science* 51(3): 381-392.
186. **Tipu MA, Pasha TN, & Ali Z. 2002.** Comparative efficacy of salinomycin sodium and neem fruit (*Azadirachta indica*). *International Journal of Poultry Science* 1(4): 91-93.
187. **Tiwari BK, Cullen PJ, Brennan CS, O'Donnell CP. 2013.** Chapter 13: Impact of processing on phytochemicals: non thermal processing. En: Tiwari BK, Brunton NP, Brennan CS, eds. *Handbook of Plant Food Phytochemicals Sources, Stability and Extraction*. 1a ed. Reino Unido: Wiley-Blackwell. p 273-300.

188. **Toghyani M, Tohidi M, Gheisari AA, & Tabeidian SA. 2010.** Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *African Journal of Biotechnology* 9(40): 6819-6825.
189. **Tsinas A, Giannenas I, Voidarou C, Tzora A, & Skoufos J. 2011.** Effects of an oregano based dietary supplement on performance of broiler chickens experimentally infected with *Eimeria acervulina* and *Eimeria maxima*. *The Journal of Poultry Science* 48(3): 194-200.
190. **Tsirtsikos P, Fegeros K, Kominakis A, Balaskas C, Mountzouris K.C. 2012.** Modulation of intestinal mucin composition and mucosal morphology by dietary phytogetic inclusion level in broilers. *Animal* 6(7): 1049-1057.
191. **Tupayachi G, Zea O, & Vélchez C. 2016.** Efecto de la suplementación con harina de yacón o aceite de copaiba sobre el comportamiento productivo e integridad intestinal de pollos inoculados con coccidias. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 27(3): 475-485.
192. **Tzora A, Giannenas I, Karamoutsios A, Papaioannou N, Papanastasiou D, Bonos E, Skoufos I. 2017.** Effects of oregano, attapulgate, benzoic acid and their blend on chicken performance, intestinal microbiology and Intestinal morphology. *J Poult Sci.* 54: 218-227
193. **Unión Europea. 2003.** Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Off J Eur Union L* 268:29-43.
194. **Upadhaya SD, Kim IH. 2017.** Efficacy of phytogetic feed additive on performance, production and health status of monogastric animals—a review. *Annals of Animal Science* 17(4): 929-948.
195. **Vikari, A. 2008.** Plant extracts benefit producers and consumers. *World Poultry* 6(24): 16-17.
196. **Vokou D, Kokkini S, Bessiere JM. 1993.** Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare ssp. hirtum*) essential oils. *Biochem. Syst. Ecol.* 21:287–295.
197. **Von Holst C, Jensen AM, Simone G. 2006.** New authorisation of feed additives in the EU: the role of the Community Reference Laboratory and the network of National Reference Laboratories. En: Barug D, de Jong J, Kies AK, Verstegen MWA, eds. *Antimicrobial growth promoters: Where do we go from here?*. 1^a ed. Holanda: Wageningen Academic Publishers. p 235-247.

198. **Waldenstedt L. 2003.** Effect of vaccination against coccidiosis in combination with an antibacterial oregano (*Origanum vulgare*) compound in organic broiler production. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section Animal Science* 53(2): 101-109.
199. **Wallace RJ, Oleszek W, Franz C, Hahn I, Baser KH, Mathé A, Teichmann K. 2010.** Dietary plant bioactives for poultry health and productivity. *Br Poult Sci* 51:461–487.
200. **Wang ML, Suo X, Gu JH, Zhang WW, Fang Q, & Wang X. 2008.** Influence of grape seed proanthocyanidin extract in broiler chickens: effect on chicken coccidiosis and antioxidant status. *Poultry Science* 87(11): 2273-2280.
201. **Warwick SI, Stewart CN. 2005.** Crops come from wild plants: how domestication, transgenes, and linkage together shape fertility. *Crop fertility and volunteerism* 36(1): 9-30.
202. **Wati T, Ghosh TK, Syed B, & Haldar S. 2015.** Comparative efficacy of a phytogetic feed additive and an antibiotic growth promoter on production performance, caecal microbial population and humoral immune response of broiler chickens inoculated with enteric pathogens. *Animal Nutrition* 1(3): 213-219.
203. **Windisch W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. 2008.** Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J Animal Sci* 86(14): 140-148.
204. **Windisch W, Rohrer E, Schedle K. 2009.** Phytogetic feed additives to young piglets and poultry: mechanisms and application. En: Steiner T., ed. *Phytogetics in Animal Nutrition*. 1a ed. Nottingham University Press, Nottingham. p 19-38.
205. **Xu J, Zhou F, Ji BP, Pei RS, & Xu N. 2008.** Carvacrol and thymol had desired antimicrobial effect on *E. coli*. The antibacterial effects were attributed to their ability to permeabilize and depolarize the cytoplasmatic membrane. *Lett Appl Microbiol* 47: 174-179.
206. **Yamauchi K, Buwjoom T, Koge K, Ebashi T. 2006.** Histological alterations of the intestinal villi and epithelial cells in chickens fed dietary sugar cane extract. *British poultry science* 47(5): 544-553.
207. **Yang C, Chowdhury MA, Huo Y, Gong J. 2015a.** Phytogetic compounds as alternatives to in-feed antibiotics: potentials and challenges in application. *Pathogens* 4(1): 137-156.

208. **Yang J, He X, Zhao D. 2013.** Chapter 15: Factors affecting phytochemical stability. En: Tiwari BK, Brunton NP, Brennan CS, eds. Handbook of Plant Food Phytochemicals Sources, Stability and Extraction. 1a ed. Reino Unido: Wiley-Blackwell. p 332-374.
209. **Yang WC, Tien YJ, Chung CY, Chen YC, Chiou WH, Hsu SY, & Chang CLT. 2015b.** Effect of *Bidens pilosa* on infection and drug resistance of *Eimeria* in chickens. Research in veterinary science 98: 74-81.
210. **Yitbarek MB. 2015.** Phytochemicals as feed additives in poultry production: a review. International Journal of Extensive Research 3: 49-60.
211. **Youn HJ, & Noh JW. 2001.** Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. Veterinary parasitology 96(4): 257-263.
212. **Young JF, Stagsted J, Jensen SK, Karlsson AH, & Henckel P. 2003.** Ascorbic acid, alpha-tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. Poultry science 82(8): 1343-1351.
213. **Zhai H, Liu H, Wang S, Wu J, Kluentner AM. 2018.** Potential of essential oils for poultry and pigs. Animal nutrition 4(2): 179-186.
214. **Zhang HY, Piao XS, Zhang Q, Li P, Yi JQ, Liu JD, Li QY, Wang GQ. 2013.** The effects of Forsythia suspensa extract and berberine on growth performance, immunity, antioxidant activities, and intestinal microbiota in broilers under high stocking density. World's Poult Sci J 92: 1981–1988.
215. **Zhang X, Guo Y, Guo L, Jiang H, & Ji Q. 2018.** In vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Melaleuca alternifolia* essential oil. BioMed research international 2018: 1-8.
216. **Zhou F, Ji B, Zhang H, Jiang H, Yang Z, Li J, & Yan W. 2007.** Synergistic effect of thymol and carvacrol combined with chelators and organic acids against *Salmonella typhimurium*. Journal of food protection 70(7): 1704-1709.