

Probióticos en la avicultura: una revisión

Elvis Alexander Díaz-López¹ / Jaime Ángel-Isaza² / Daniela Ángel B.³

Resumen

Los probióticos y prebióticos actualmente se postulan como una alternativa potencial de reemplazo a los antibióticos utilizados como subterapéuticos, a modo de promotores de crecimiento. Su ventaja es que no dejan residuos en el huevo ni en la carne del ave, y no generan riesgo de resistencia antibiótica en la microbiota humana. El uso de los microorganismos probióticos, principalmente bacterias productoras de ácido láctico en la alimentación de las aves, contribuye al mantenimiento de la integridad y estabilidad de la flora intestinal. Esto dificulta la proliferación de microorganismos perjudiciales, lo cual ayuda a prevenir la aparición de enfermedades y a mejorar el rendimiento productivo. Sin embargo, en cuanto a su efecto como promotor de crecimiento, los resultados son contradictorios, en gran medida debido a la variedad de microorganismos y dosis que se pueden suministrar, al tipo de aves utilizadas, a los métodos de administración, a la composición de las dietas de alimentación de las aves y a las condiciones ambientales en que se realizan los bioensayos. Por lo tanto, y debido a la necesidad de prescindir de los antibióticos como promotores de crecimiento, es indispensable continuar investigando y ampliando el conocimiento de estos aditivos, mediante la realización de bioensayos que permitan determinar las cepas bacterianas y los métodos de administración más idóneos en los linajes de aves modernas bajo producción intensiva. El objetivo de esta revisión es presentar un análisis de las condiciones en las que estas sustancias actúan, y explicar por qué a veces sus efectos son insignificantes.

Palabras clave: aves, gastrointestinal, lactobacilos, microbiota, producción.

Probiotics in poultry farming: A review

Abstract

Probiotics and prebiotics are currently postulated as a potential replacement alternative to sub-therapeutic antibiotics as growth promoters. The advantage is that these agents do not leave residues in the egg or meat of the poultry, and do not cause risk of developing antibiotic resistance in human microbiota. The use of probiotic microorganisms, mainly lactic acid-producing bacteria in poultry feeding, contributes to maintaining the integrity and stability of the intestinal flora. This hampers the proliferation of harmful microorganisms, which helps to prevent the onset of disease and improves productive performance. Nevertheless, regarding their effect as growth promoters, results are contradictory, largely because of the variety of microorganisms and doses that can be administered, the type of poultry used, methods of administration, diet compositions, and environmental conditions in which bioassays are performed. Therefore, given the need to eliminate antibiotics as growth promoters, it is essential to continue researching and expanding our knowledge of these additives, by conducting bioassays to determine bacterial strains and the most suitable methods of administration in modern poultry lineages under intensive production. The objective of this review is to present an analysis of the conditions under which these substances work, and to explain why their effects are sometimes insignificant.

Keywords: poultry, gastrointestinal, lactobacilli, microbiota, production.

1 Médico veterinario zootecnista. Esp. MSc. Miembro del Grupo de investigación en Nutrición, Metabolismo y Seguridad Alimentaria, Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.
✉ elvis.diaz@ucaldas.edu.co

2 Médico veterinario zootecnista. Candidato a MSc. Miembro del grupo de investigación en Nutrición, Metabolismo y Seguridad Alimentaria, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.
✉ jaim.e.angel92@gmail.com

3 Médica veterinaria zootecnista, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.
✉ dangel_9@hotmail.com

Cómo citar este artículo: Díaz-López EA, Ángel-Isaza J, Ángel D. Probióticos en la avicultura: una revisión. *Rev Med Vet.* 2017;(35): 175-89. doi: <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4400>

Probióticos na avicultura: uma revisão

Resumo

Os probióticos e prebióticos atualmente se postulam como uma alternativa potencial de substituição aos antibióticos utilizados como subterapêuticos, a modo de promotores de crescimento. Têm como vantagem que estes agentes não deixam resíduos no ovo nem na carne da ave, e não geram risco de resistência antibiótica na microbiota humana. O uso dos micro-organismos probióticos, principalmente bactérias produtoras de ácido láctico na alimentação das aves, contribui para a manutenção da integridade e estabilidade da flora intestinal. Isto dificulta a proliferação de micro-organismos prejudiciais, fator que ajuda a prevenir a aparição de doenças e a melhorar o rendimento produtivo. No entanto, em relação ao seu efeito como promotor de crescimento, os resultados são contraditórios, em grande medida devido à variedade de micro-organismos e doses que podem ser administradas, ao tipo de aves utilizadas, aos métodos de administração, à composição das dietas de alimentação das aves e às condições ambientais em que se realizam os bioensaios. Portanto, e devido à necessidade de prescindir dos antibióticos como promotores de crescimento, é indispensável continuar pesquisando e ampliando o conhecimento destes aditivos, mediante a realização de bioensaios que permitam determinar as cepas bacterianas e os métodos de administração mais idôneos nas linhagens de aves modernas sob produção intensiva. O objetivo desta revisão é apresentar uma análise das condições nas que estas substâncias atuam, e explicar por que às vezes os seus efeitos são insignificantes.

Palavras chave: aves, gastrointestinal, lactobacilos, microbiota, produção.

INTRODUCCIÓN

Una óptima absorción de nutrientes en sus componentes básicos permite una conversión eficiente del alimento, lo cual es primordial para la producción y el bienestar de las aves. Para ayudar a lograrlo, durante varias décadas se ha recurrido a la adición de antibióticos como subterapéuticos, usados como promotores de crecimiento con el propósito de mantener la salud intestinal y mejorar la eficiencia digestiva (1). No obstante, también ha crecido la preocupación por los efectos deletéreos que puede generar la administración de antibióticos en los animales sobre la salud humana, ya que se considera que muchos de ellos transmiten genes inductores de resistencia hacia la microbiota humana. Esto llevó a su prohibición desde 2006 por la Comunidad Europea (2). Como una alternativa de reemplazo eficiente a los antibióticos, en su función como promotores de crecimien-

to, sin la generación de riesgos para la salud humana (3), se viene planteando el uso de cepas de microorganismos seleccionados, que estimulen la eubiosis y la estabilidad de la flora intestinal de las aves, lo cual permite que se mantenga la integridad y funcionalidad de las mucosas digestivas, y garantiza el aprovechamiento oportuno de los nutrientes suministrados en la dieta (1).

Los divergentes resultados bioexperimentales hallados en los estudios existentes impiden concluir contundentemente su efectividad como promotores de salud y eficiencia productiva. Por lo tanto, en esta investigación documental se discuten los diferentes efectos controvertidos de los probióticos empleados en la producción avícola, y algunos factores bióticos y abióticos que afectan los resultados de los experimentos que evalúan estas sustancias.

MICROBIOTA GASTROINTESTINAL EN LAS AVES

En el tracto gastrointestinal de las aves habita una comunidad diversa de bacterias, hongos, protozoos y virus, que interactúan constantemente con el huésped. La adquisición y desarrollo de esta microbiota intestinal en las aves se origina desde la eclosión del pollito, junto con los microbios que se encuentran en la superficie de la cáscara del huevo, los cuales corresponden a microorganismos del intestino de la madre, además de fuentes externas presentes en el medio ambiente, el alimento y el personal que manipula los animales. Esto influye sobre la población intestinal de los pollos (4).

Se estima que el número de células bacterianas supera al de las células del ave en un radio aproximado de 10 a 1. El tracto gastrointestinal de las aves en producción está colonizado aproximadamente por 640 especies de bacterias de 140 géneros diferentes, varía en abundancia y diversidad a lo largo del tracto intestinal, y es inferior el número de microorganismos en los que el paso del alimento es más rápido (5).

Debido a la alta intensidad del peristaltismo en el intestino delgado, la colonización en el lumen de las bacterias en esta zona es menos rápida y favorable. Se demora aproximadamente dos semanas en alcanzar estabilidad microbiana, y se constituye en su mayoría por bacterias anaerobias facultativas como *Lactobacillus* sp., *Enterococcus* sp. y *Escherichia coli*, las cuales representan entre el 60 y el 90 % de la microbiota intestinal. Otras especies que se encuentran comúnmente en el íleon y el duodeno son los anaerobios obligados como eubacterias, clostridios, propionibacterias y fusobacterias (6).

No obstante, la microbiota intestinal no debe ser estudiada de manera individual como especies aisladas de microorganismos, sino en forma de comunidades que interactúan entre sí, que tienen la capacidad de estimular o inhibir el crecimiento de otras cepas de microorganismos. De tal forma, una población bacteriana compuesta por organismos benéficos interactúa con el hospedero promoviendo mejores condiciones de salud (6).

Definición de probiótico

Los probióticos se definieron, en un principio, como “sustancias secretadas por un microorganismo que estimulan el crecimiento de otro” (7). Luego, en 1989, se propone modificar esta definición a “suplemento alimentario vivo que tiene un efecto benéfico para el huésped” (8). En la actualidad, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ha modificado el término a “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio en la salud del huésped” (9).

Los probióticos pueden estar conformados por un solo tipo de microorganismo o por combinaciones de estos, con el fin de lograr mayor eficiencia al colonizar el intestino. Principalmente utilizan bacterias los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Pediococcus* (8), y emplean levaduras como prebióticos, como la *Saccharomyces cerevisiae*. No obstante, como se puede observar en la tabla 1, cada género de microorganismos puede tener diferentes especies y cepas con capacidad de producir efectos metabólicos diferentes, por lo que se recurre a utilizarlos en conjunto para lograr los mejores beneficios (10).

Tabla 1. Especies de bacterias ácido-lácticas usadas como probiótico

<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Bifidobacterium</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>S. cremoris</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. casei</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. brevis</i>	<i>S. faecium</i>	<i>B. animalis</i>
<i>L. cellobiosus</i>	<i>S. diacetylactis</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. lactis</i>		

Fuente: Fuller R. Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol. 1989;66(5):365-78.

Para obtener estos microorganismos, las principales fuentes son el contenido intestinal y las heces fecales de animales (11). Durante el proceso de colonización, las cepas endógenas presentan mayor capacidad de proliferar, debido a que se encuentran en un ambiente similar al del que fueron aisladas (12). Por este motivo, bacterias como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* y *Bifidobacterium* spp. son comúnmente utilizadas en los suplementos probióticos. No obstante, microorganismos que no forman parte de la flora normal de las aves (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y *Saccharomyces cerevisiae*) también han demostrado tener la capacidad de ejercer efectos positivos en las aves (13).

Algunas de estas bacterias en su metabolismo utilizan carbohidratos como fuente de energía, lo que genera ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico, butírico y láctico), los cuales han demostrado poseer propiedades benéficas para la salud del tracto intestinal. Entre esto se puede destacar el ácido butírico, que sirve como fuente de energía para las células del intestino, estimula la proliferación celular, regula la apoptosis y contribuye a mantener la integridad de la pared intestinal (14). Por otra parte, están las bacterias productoras de ácido láctico; estas son las más utilizadas como probióticos, debido su capacidad para adaptarse y proliferar en las condiciones intestinales, lo que genera múltiples efectos positivos en la salud de las aves (15).

Mecanismos de acción

Los probióticos presentan múltiples mecanismos de acción a través de los cuales coadyuvan a generar estabilidad en la flora intestinal, lo que evita la proliferación de bacterias enteropatógenas. Como primer mecanismo se encuentra la “exclusión competitiva”; esta permite a los microorganismos probióticos colonizar ampliamente el intestino, lo que obliga a las bacterias patógenas a competir por un lugar de adhesión en la pared intestinal, hace que se disminuya la obtención de nutrientes y difi-

culta la proliferación de microorganismos perjudiciales (8). Sin embargo, y a pesar de que la exclusión competitiva siempre es constante, se presentan algunos resultados contradictorios, en parte debido a las diferencias en el ambiente intestinal de cada animal. Se ha observado en animales adultos con microbiota estable que la exclusión competitiva no es biológicamente significativa en contraste con animales jóvenes, cuyo ambiente intestinal aún está en desarrollo. Este hecho se explicaría, en parte, debido a que el tipo y la cantidad de probiótico suministrado pueden no ser los indicados para el animal, con el probable desarrollo de antagonismo, evidenciado por la incorrecta generación de exclusión competitiva de los patógenos en el intestino (16).

La estimulación del sistema inmune tanto innato como celular es otro mecanismo por el cual los probióticos contribuyen en la protección del hospedero. Dentro de los efectos ejercidos en el sistema inmune innato, se puede observar la capacidad que poseen los probióticos de aumentar la actividad de las células NK, o *natural killer*, que se destacan por su efecto citotóxico y por producir citoquinas que actúan como inmunomoduladores y agentes proinflamatorios (17). No obstante, se ha estudiado otro mecanismo antiinflamatorio de los probióticos en el que algunos de sus productos metabólicos tienen la capacidad de interactuar con receptores de señalización como el NF- κ B (factor nuclear kappa B), lo cual evita la producción de agentes inflamatorios que afecten la integridad de la mucosa intestinal (18).

Por otra parte, se ha demostrado que la administración de estos aditivos en la dieta posee efectos quimiotácticos, mediados por citoquinas, metaloproteinasas y prostaglandinas, que estimulan la respuesta inmune celular, lo que aumenta la producción de inmunoglobulinas (IgA, IgM e IgY) y la migración de linfocitos T (19). Sato y colaboradores observaron el efecto significativo ($p < 0,05$) de la administración de probióticos en la estimulación de linfocitos T por medio de receptores Toll, lo que contribuye a la presentación del antígeno. Sin embargo, no observó ninguna inferencia sobre los linfocitos B (20).

En otros estudios se ha observado que la adición de probióticos genera estímulo en el desarrollo de órganos linfoides como el timo (21) y la bolsa de Fabricio (22). Probablemente esta acción permite a las aves ejercer una mejor respuesta inmune frente al ataque de patógenos. No obstante, este beneficio sigue siendo aún controversial, ya que en investigaciones realizadas por Awad y colaboradores (23), después de relacionar el peso corporal de las aves con el del timo y de la bolsa de Fabricio, no se encontró ningún efecto significativo ($p > 0,05$) sobre el desarrollo de estos órganos. Los resultados obtenidos se explican por el efecto de las condiciones de estrés y desafío de campo al que fueron sometidos los animales.

Otro beneficio de la suplementación probiótica se realiza sobre la capa de mucina, constituyente principal del intestino con funciones de lubricación y de protección. Esta actúa como filtro seleccionador de nutrientes e impide el paso de moléculas y agentes nocivos. También se ha descrito que factores como la fibra en la dieta, la ingesta de treonina y mediadores inflamatorios, asociados a la suplementación con microorganismos probióticos, puede contribuir a aumentar la secreción de mucina (24), debido a que generan estímulo en los genes encargados de desarrollar sus componentes, lo cual contribuye a mantener la integridad de la mucosa intestinal (25).

Las bacterias ácido-lácticas utilizadas como probióticos poseen un metabolismo anaerobio, en el que se fermenta glucosa y se produce ácido láctico, disminuyen el pH intestinal, lo cual dificulta la reproducción y colonización de bacterias patógenas, y ayuda a prevenir la generación de lesiones en la superficie de absorción del intestino (26).

Los probióticos también contribuyen a evitar lesiones generadas por sustancias denominadas como *reactive oxygen species*. Estas sustancias tóxicas de desecho se producen de forma endógena por el metabolismo oxidativo durante la producción de energía. Sin embargo, fuentes exógenas como la contaminación ambiental, el exceso de hierro en la dieta o las infecciones bacterianas llevan a que estas aumenten, lo que genera efectos perjudiciales sobre las células, que comienzan con la infla-

mación patológica de tejidos y desencadenan necrosis celular (27).

Para contrarrestar el efecto de estos tóxicos, el organismo utiliza sustancias denominadas *antioxidantes*, como las enzimas antioxidantes o las vitaminas C y E. No obstante, en los últimos años se le ha atribuido también este potencial a la microbiota intestinal, debido a que algunas bacterias, como *Lactobacillus delbruckii*, poseen la capacidad de producir glutatión, que es uno de los principales antioxidantes no enzimáticos involucrados en la defensa contra los radicales libres. Por lo tanto, una correcta población de microorganismos entéricos puede contribuir a incrementar las concentraciones de estos antioxidantes no enzimáticos, lo que protege la integridad de los tejidos del intestino (28).

Todos los mecanismos descritos son de gran importancia debido a que promueven la eubiosis y equilibrio de la flora intestinal y mejoran la salud de las aves, ya que ayudan a proteger la pared intestinal. Esta actúa como barrera natural contra bacterias patógenas y sustancias tóxicas presentes en el intestino. La integridad de las criptas y las vellosidades intestinales permiten una correcta absorción de los nutrientes suministrados en el alimento (10). La tasa de crecimiento de las bacterias benéficas se puede afectar por factores estresantes ambientales y de manejo, lo que lleva al desequilibrio en la microflora intestinal, y aumenta el riesgo de proliferación de bacterias patógenas (1). Sin embargo, se ha demostrado que la inclusión de microorganismos probióticos en la dieta mejora dicho equilibrio, como lo evidenciaron Li y colaboradores (29), para quienes la inclusión de *Bacillus subtilis*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Candida utilis* y *Lactobacillus acidophilus* en el alimento puede alterar la microflora intestinal, y aumentar 4, 6, 7 y 10 veces, respectivamente, su cantidad en los ciegos, en comparación con aves que no recibieron suplementación. De igual forma, también observaron una marcada inhibición en el crecimiento de *actinomicetos*, lo que evidencia la capacidad que tienen los probióticos de proliferar y proteger el tracto intestinal de microorganismos potencialmente patógenos.

Efectos de los probióticos en el rendimiento productivo

Estudios realizados para determinar el efecto de los probióticos en la mucosa intestinal han evidenciado un incremento en el tamaño de las vellosidades del intestino. Pelicano y colaboradores (30) hallaron que las microvellosidades del yeyuno de aves suplementadas con probióticos hasta el día 21 de edad fueron significativamente ($p < 0,01$) más largas ($230 \mu\text{m}$) comparadas con las que no recibieron suplementación ($200 \mu\text{m}$). Así mismo, en otro experimento en el que se suplementaron aves hasta los 42 días de edad, con una mezcla de siete tipos de microorganismos probióticos, se observó efecto significativo ($p < 0,05$) en el aumento del tamaño de las vellosidades del íleon, y pasaron de medir $458,3 \pm 37,45 \mu\text{m}$ a $675,0 \pm 25,0 \mu\text{m}$ (31). Otro factor con el cual se ha medido la contribución de los microorganismos sobre la integridad de la barrera intestinal es por medio de las uniones celulares estrechas, que consisten en complejos de proteínas compuestos principalmente por claudinas y ocludinas, y cumplen la función de regular el transporte entre células vecinas. Este proceso desempeña un papel importante en la permeabilidad paracelular de la mucosa. El efecto de los probióticos sobre estas uniones celulares fue investigado por Song y colaboradores (32), quienes demostraron que la administración oral de una mezcla probiótica incrementa la concentración de ocludina, lo que conduce a mejorar la integridad de la barrera intestinal.

Los resultados hallados permiten inferir que los suplementos probióticos no solo poseen la capacidad de aumentar la superficie de absorción, sino que también tienen la capacidad de proteger al huésped, lo que mejora consigo el rendimiento productivo de las aves, como se observa en la tabla 1.

Algunos investigadores afirman que la suplementación probiótica mejora las variables productivas, como lo describieron Alkhalif y colaboradores (21). Estos autores observaron aumento significativo ($p < 0,05$) sobre el peso de las aves; registraron $1863,6 \text{ g} \pm 26,87$ después de suplementar con *Pediococcus acidilactic* a una dosis de

10^9 ufc/g , mientras que en el grupo control el peso corporal fue de $1661,31 \text{ g} \pm 26,75$. Respecto a la conversión alimenticia, estos investigadores también evidenciaron efecto significativo ($p < 0,05$), ya que se pasa de un índice de $1,930 \text{ g} \pm 0,021$ a uno de $1,850 \text{ g} \pm 0,021$ (33). Los resultados descritos corroboran los hallazgos de Kabir y colaboradores (13), quienes evidenciaron una ganancia de peso altamente significativa ($p < 0,01$), después de suministrar probióticos a pollos de engorde en el alimento.

De forma contradictoria, en otro experimento, y después de evaluar el peso corporal de pollos de engorde al día 42 suplementados con un antibiótico promotor de crecimiento, un probiótico, y comparados con un grupo control, no se observó diferencia ($p > 0,05$) entre los tratamientos, y se obtuvieron respectivamente pesos de $2635,5 \text{ g}$, $2624,6 \text{ g}$ y $2587,7 \text{ g}$ (34). Resultados similares registraron Rocha y colaboradores, en los cuales no se observaron diferencias ($p > 0,05$) en la ganancia de peso ni en la conversión alimenticia, siendo esta última de $1,560 \text{ g}$ en el grupo con probiótico, en contraste a $1,570 \text{ g}$ en las aves que no recibieron suplementación (35).

También en gallinas de postura se discute el efecto de los probióticos sobre las variables productivas. Como prueba de la inconsistencia en los resultados obtenidos, Ramasamy y colaboradores (36) no hallaron diferencia ($p > 0,05$) en el porcentaje de postura durante todo el periodo de producción. Así mismo, Mikulski y colaboradores (37) tampoco encontraron efecto significativo en la producción de huevo ($p = 0,165$). Sin embargo, la conversión alimenticia fue significativamente ($p < 0,001$) mejor en las aves tratadas con probióticos, al igual que la masa de los huevos, la cual aumentó ($p = 0,003$) de forma lineal con el incremento de la dosis de probiótico. En forma opuesta, Zhang y colaboradores (38), al utilizar una combinación de *Lactobacillus salivarius* y *Bacillus subtilis* en alimento de aves de postura, evidenciaron un aumento significativo ($p < 0,05$) en el porcentaje de producción de huevo, que pasó de $90,90 \pm 1,68$ a $95,13 \pm 0,32$. Además, registraron una mejor conversión alimenticia ($2,020 \text{ g} \pm 0,02$) vs. ($2,130 \text{ g} \pm 0,03$) y menor porcentaje de huevos rotos en relación con las aves que no fueron suplementadas con probióticos.

La variabilidad de los resultados experimentales para determinar el efecto de los diferentes probióticos sobre los parámetros productivos se puede explicar, en parte, por los diferentes microorganismos utilizados, como probióticos, métodos de cría, condiciones sanitarias y ambientales de los bioensayos. Todos los factores descritos probablemente no permitieron que la flora intestinal sufriera cambios a través de la proliferación de microorganismos indeseables; de tal manera, el efecto

del aditivo bacteriano no se hizo evidente en algunos grupos de aves. De acuerdo con lo planteado, y en correspondencia, se hace necesario continuar investigando y ampliando los conocimientos sobre el efecto de los probióticos sobre el rendimiento productivo de las aves, para optimizar su uso como promotores de crecimiento.

En la tabla 2 se presentan los resultados de producción de suplementación probiótica de pollos de engorde.

Tabla 2. Resultados productivos de suplementación probiótica en pollo de engorde

Género	Especie	Concentración	Vía	Tiempo de administración (días)	Peso final (g)	Consumo alimento acumulado final (g)	Conversión alimenticia final (g)	Referencia
<i>Pediococcus</i>	<i>acidilactici</i>	10 ⁶ ufc/g	Alimento	42	(T) 1776,03 ± 26,75 ^a (C) 1661,31 ± 26,71 ^b	(T) 2968,56 ^a (C) 3116,82 ^b	(T) 1,71 ± 0,02 ^a (C) 1,93 ± 0,021 ^b	Alkhalif, Alhajy Al-homidan (33)
<i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Pediococcus</i> <i>Enterococcus</i>	<i>Reuteri</i> <i>salivarius</i> <i>animalis</i> <i>acidilactici</i>	10 ⁶ ufc/kg	Alimento	42	(T) 2,343 ± 17,5 ^a (C) 2,215 ± 17,5 ^a	(T) 4,114 ± 30,8 (C) 4,093 ± 30,8	(T) 1,80 ± 0,00 ^a (C) 1,89 ± 0,00 ^b	Mountzouris et al. (10)
<i>Bacillus</i>	<i>subtilis</i>	-	Alimento	42	(T) 2,430 ± 0,10 ^a (C) 2,480 ± 0,10 ^a	(T) 4,450 ± 0,12 ^a (C) 4,540 ± 0,12 ^a	(T) 1,83 ± 0,04 ^a (C) 1,83 ± 0,04 ^a	Pelicano et al. (30)
<i>Bacillus</i>	<i>coagulans</i>	10 ⁶ ufc/g	Alimento		(T) 2,247,5 ± 57,9 ^a (C) 2109,8 ± 51,5 ^b	-	(T) 2,05 ± 0,10 ^a (C) 2,29 ± 0,10 ^b	Wang y Gu (39)

Concentración: unidades formadoras de colonia (ufc) por cantidad de alimento o agua.
(T) tratamiento; (C) Control; a-b dentro de la celda indica diferencia significativa (p > 0,05).

Efecto de los probióticos en el control de enfermedades

Las bacterias ácido-lácticas tienen la capacidad de producir bacteriocinas, sustancias que poseen la propiedad de inhibir el crecimiento de bacterias con potencial patógeno (40). Una de las más comunes es la *nisina*; esta ha demostrado efectos positivos en la eliminación de microorganismos patógenos importantes para la avicultura, como *Listeria monocytogenes*, bacteria responsable de la listeriosis, la cual puede ser transmitida al humano mediante las carcasas de pollo contaminadas (41).

La salmonelosis en la industria avícola genera altas pérdidas económicas, ya que a través de la contaminación de la carne y el huevo puede contagiar al humano. El efecto benéfico que tienen los probióticos contra este agente es uno de los más estudiados, ya que se perfila como una alternativa de tratamiento diferente a los antibióticos, lo que ocasiona una disminución en la colonización de la bacteria en el tracto intestinal, y estimula la respuesta inmune (42). La administración oral de *Lactobacillus* ha demostrado la capacidad de disminuir la población de *Salmonella enteritidis* en la cloaca y la vagina, lo cual disminuye la probabilidad de que los huevos sean contaminados por esta bacteria (43). No obstante, se ha evidenciado que el tratamiento con probióticos debe realizarse 24 horas posinfección. El momento en el que se realiza el tratamiento es de gran importancia para que los microorganismos probióticos puedan ejercer correctamente su mecanismo de exclusión competitiva (44).

El *Clostridium perfringens* y la *Escherichia coli* son agentes capaces de generar infecciones del tracto intestinal con importantes repercusiones negativas en los parámetros productivos. Se ha observado que la suplementación con probióticos puede disminuir la concentración de estas enterobacterias en el intestino, lo que evita que generen efectos adversos sobre las aves (26). Sin embargo, otros experimentos realizados no han encontrado esta misma relación. Otutum y colaboradores (45) no

observaron disminución en el recuento de *Escherichia coli* en el intestino de las aves después de recibir cultivos de *Lactobacillus* spp. La diversidad de los resultados se explica por la variación en la microbiota de los diferentes estudios, además de diferentes dosis, edad de las aves y la porción del intestino sobre la cual se realizó la medición bacteriana.

La contribución de la suplementación probiótica a los animales con enfermedades producidas por agentes virales se soporta en la capacidad de estimular el sistema inmune. Este efecto fue observado por Kumar y colaboradores (46) en cuyo experimento los títulos de anticuerpos contra el virus de la enfermedad infecciosa de la bolsa aumentaron significativamente ($p < 0,05$). Resultados distintos fueron observados por Talebi y colaboradores (47), quienes no encontraron incremento significativo ($p > 0,05$) de los anticuerpos posvacunales contra el virus de la enfermedad infecciosa de la bolsa, en grupos de aves suplementadas con probióticos. Sin embargo, aunque existe variabilidad en la eficiencia y el uso de estos aditivos en el control de enfermedades, como se observa en la tabla 3, los probióticos han demostrado en varios estudios poseer propiedades que contribuyen a mejorar las condiciones de diversas patologías en las aves de producción (46).

El deoxinivalenol es un metabolito producido por hongos del género *Fusarium*, que se encuentran en ocasiones en el alimento. Esta toxina es inhibidora de la síntesis de proteínas, y a veces logra lesionar tejidos de alto recambio proteico como el sistema inmune y el intestino, lo que afecta las vellosidades intestinales y la absorción de nutrientes. Para contrarrestar estas lesiones detrimenales, se ha recurrido a estudiar el efecto que puede tener la suplementación con probióticos. Awad y colaboradores (23) demostraron que la administración de *Eubacterium* spp. logró mejorar la longitud y el espesor de las vellosidades intestinales, además de aumentar el tamaño del yeyuno, lo cual produce mayor ganancia de peso.

Tabla 3. Algunas enfermedades sobre las cuales se ha hallado efecto positivo de los probióticos

Probiótico género	Probiótico especie	Vía	Enfermedad	Tiempo de administración (días)	Significancia	Tipo de agente	Agente género	Agente especie	Referencia
<i>Pediococcus</i>	<i>Acidilactici</i>	Alimento	Coccidiosis	10	p < 0,05	Parásito	<i>Eimeria</i>	<i>Acervulina tenella</i>	Lee et al. (48)
<i>Lactobacillus</i>	<i>Acidophilus</i>	Alimento	New Castle	42	p < 0,05	Virus	<i>Paramyxovirus</i>	-	Kumar y Singh (46)
<i>Lactobacillus</i>	<i>Acidophilus</i>	Alimento	Gumboro	42	p < 0,05	Virus	<i>Avibirnavirus</i>	-	Kumar y Singh (46)
<i>Bacillus</i>	<i>Subtilis</i>	Alimento	Clostridiosis	42	p < 0,05	Bacteria	<i>Clostridium</i>	-	Teo y Tan et al. (22)
<i>Bacillus</i>	<i>Subtilis</i>	Alimento	Colibacilosis	42	p < 0,05	Bacteria	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	Teo et al., 2007 (22)

Efecto de los probióticos en la calidad de la carne y los huevos

Se ha demostrado la posibilidad de mejorar las características organolépticas de la carne, ya sea fresca o congelada, como la textura, jugosidad y apariencia, mediante la inclusión de probióticos en la alimentación de las aves. Los resultados obtenidos en investigaciones sobre las características sensorias de la carne son variables. Al respecto, Kabir y colaboradores observaron resultados significativos al encontrar un mejor sabor en la carne de aves suplementadas con probióticos (13); entre tanto, Pelicano y colaboradores no evidenciaron mejoras en la palatabilidad ni en el aspecto general de esta (49).

Otra característica importante para los consumidores es la terneza, la cual se mide con la fuerza necesaria para realizar un corte. Aunque no es bien comprendido el mecanismo por el cual los probióticos mejoran esta condición, se ha evidenciado que la inclusión alimenticia de *Saccharomyces cerevisiae* ejerce un efecto benéfico en la terneza de la pechuga y los muslos (38). Sin embargo, experimentos como el de Pelicano y colaboradores demuestran que no hay argumentos científicos suficientes que respalden el uso de probióticos o prebióticos para mejorar esta característica (49).

Por otra parte, la suplementación con probióticos también ha manifestado tener efectos sobre las grasas, ya que disminuyen la concentración de fosfolípidos de la carne, el colesterol en la yema de los huevos y la reducción de la grasa abdominal de las aves (50). El efecto hipocolesterolémico de los probióticos puede explicarse debido a la capacidad de algunos microorganismos, como *L. acidophilus*, de asimilar el colesterol utilizándolo para su propio metabolismo. Además, algunas cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterias* son capaces de desconjugar los ácidos biliares, lo que impide su reabsorción intestinal, por lo que son eliminados en las heces; esto hace que el hígado tenga que volver a sintetizar las sales biliares a partir del colesterol sanguíneo (51).

La calidad microbiológica de la carne es otra característica que puede ser mejorada mediante el uso de pro-

bióticos por medio de la exclusión competitiva. Los microorganismos benéficos que se establecen en el intestino generan la reducción intestinal de bacterias con potencial zoonótico, como *Salmonella Enteritidis*, *Coliformes* y *Clostridium* spp., lo cual generaría un mejor estado sanitario del producto, puesto que reduce el riesgo de infecciones alimentarias por canales contaminadas (52).

Efecto de los probióticos en la incubación

Para reducir el riesgo de la colonización de patógenos ambientales en las primeras horas de vida de las aves, se plantea la alternativa de la administración *in ovo* de bacterias probióticas, con el fin del establecimiento temprano de la flora intestinal benéfica, que genere exclusión competitiva, para dificultar así la contaminación con microorganismos nocivos que afecten la salud de las aves y a su vez los parámetros productivos (53). No obstante, los resultados son inconstantes. Algunos experimentos hechos por Yamawaki y colaboradores (54) al realizar conteo de *Salmonella enteritidis*, después de la inoculación *in ovo* y la inoculación por inmersión de cepas de *Lactobacillus*, no demostraron una disminución significativa ($p > 0,05$) de esta bacteria en los ciegos de las aves. En contraste, De Olivera y colaboradores (55), al administrar probióticos *in ovo* a través de la cámara de aire, demostraron que las aves suplementadas e infectadas con *Salmonella enteritidis* tenían significativamente ($p < 0,05$) menor carga de *Salmonella* ($p < 0,05$) y mejor ganancia de peso. Debido a la diversidad de resultados y métodos de administración, especies bacterianas y dosis usadas, se deben seguir investigando los efectos de los probióticos sobre la incubación, con el fin de obtener los mejores beneficios para la industria avícola.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La suplementación con probióticos a dosis adecuadas en la producción avícola claramente incide en la población de bacterias en el tracto intestinal, lo que estimula la eubiosis y la salud del intestino. Esto permite una buena digestión y absorción de nutrientes con un

beneficio sobre el estado inmunitario de las aves bajo producción intensiva. No obstante, respecto a su efecto como promotor de crecimiento, los resultados aún son controversiales debido a la cantidad de variantes de microorganismos usados, dosis, métodos de administración, condiciones ambientales, tipo de aves, estado de salud de los animales, dietas alimentarias y, en general, a las diferentes condiciones inherentes de cada experimento.

Es fundamental prescindir completamente del uso de los antibióticos como promotores de crecimiento en la avicultura, y para lograrlo se deben seguir realizando bioensayos que permitan determinar cuáles son las cepas bacterianas más idóneas con función probiótica en las estirpes de aves modernas bajo producción intensiva. Con ello se establecen los mejores sustratos biológicos de acción, que a su vez permitan desarrollar las interacciones más eficientes entre el huésped y los microorganismos suplementados.

REFERENCIAS

- Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int J Food Microbiol.* 2010;141(Suppl 1):S15-28. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031>
- Regulation (EC) No. 1831/2003 [internet]. *Oficial Journal of European Union* [citado 2015 jun. 23]; p. 29-43. Disponible en: <http://eurlex.europa.eu/legalcontent/es/txt/pdf/?uri=celex:32003r1831&from=en>
- Vianna Nunes R, Scherer C, Pozza PC, Eyng C, Giusti Bruno LD, Medeiros Vieites F. Use of probiotics to replace antibiotics for broilers. *R Bras Zoot.* 2012;41(10):2219-24. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012001000012>
- Rinttilä T, Apajalahti J. Intestinal microbiota and metabolites—Implications for broiler chicken health and performance. *J Appl Poult Res.* 2013;22(3):647-58. doi: <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00742>
- Gil de los Santos JR, Storch OB, Gil-Turnes C. *Bacillus cereus* var. *toyoii* and *Saccharomyces boulardii* increased feed efficiency in broilers infected with *Salmonella enteritidis*. *Br Poult Sci.* 2005;46(4):494-7. doi: <https://doi.org/10.1080/00071660500181461>
- Salanitro JP, Fairchild IG, Zgornicki YD. Isolation, culture characteristics, and identification of anaerobic bacteria from the chicken cecum. *Appl Microbiol.* 1974;27(4):678-87.
- Lilly DM, Stillwell RH. Growth promoting factor produced by microorganisms. *Science.* 1965;147(3659):747-8. doi: <https://doi.org/10.1126/science.147.3659.747>
- Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol.* 1989;66(5):365-78. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria [internet]. 2001 [citado 2015 abr. 23]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>
- Mountzouris KC, Tsitsirikos P, Palamidi I, Arvaniti A, Mohnl M, Schatzmayr G, Fegeros K. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasmaimmunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poult Sci.* 2010;89(1):58-67. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00308>
- Kalantzopoulos G. Fermented products with probiotic qualities. *Anaerobe.* 1997;3(2-3):185-90. doi: <https://doi.org/10.1006/anae.1997.0099>
- Vinderola CG, Medici M, Perdígón G. Relationship between interaction sites in the gut, hydrophobicity, mucosal immunomodulating capacities and cell wall protein profiles in indigenous and exogenous bacteria. *J Appl Microbiol.* 2004;96(2):230-43. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2004.02158.x>
- Kabir SML. The role of probiotics in the poultry industry. *Int J Mol Sci.* 2009;10(8):3531-46. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms10083531>
- Huda-Faujan N, Abdulmir AS, Fatimah AB, Anas OM, Shuhaimi M, Yazid AM, Loong YY. The impact of the level of the intestinal short chain fatty acids in inflammatory bowel disease patients versus healthy subjects. *Open Biochem J.* 2010;13(4):53-8. doi: <https://doi.org/10.2174/1874091X01004010053>

15. Hamid THTA, Ezureen E. Isolation of lactic acid bacteria from malaysian non-broiler chicken (*Gallus gallus*) intestine with potential probiotic for broiler feeding. IIUM Engineering Journal. 2011;12(4):133-9.
16. Callaway TR, Edrington TS, Anderson RC, Harvey RB, Genovese KJ, Kennedy CN, Venn DW, Nisbet DJ. Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. Anim Health Res Rev. 2008;9(2):217-25. doi: <https://doi.org/10.1017/S1466252308001540>
17. Matsuzaki T, Chin J. Modulating immune responses with probiotic. Immunol Cell Biol. 2000;78(1):67-73. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2000.00887.x>
18. Lescheid DW. Probiotics as regulators of inflammation: a review. FFHD. 2014;4(7):299-311.
19. Bai SP, Wu AM, Ding XM, Lei Y, Bai J, Zhang KY, Chio JS. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. Poult Sci. 2013;92(3):663-70. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02813>
20. Sato K, Takahashi K, Tohno M, Miura Y, Kamada T, Ikegami S, Kitazawa H. Immunomodulation in gut-associated lymphoid tissue of neonatal chicks by immunobiotic diets. Poult Sci. 2009;88(12):2532-8. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00291>
21. Alkhalaf A, Alhaj M, Al-Homidan, I. Influence of probiotic supplementation on immune response of broiler chicks. Egyptian Poultry Science. 2010;30(1):271-80.
22. Teo AY, Tan HM. Evaluation of the performance and intestinal gut microflora of broilers fed on corn-soy diets supplemented with bacillus subtilis PB6 (CloS-TAT). J Appl Poult Res. 2007;16(3):296-303. doi: <https://doi.org/10.1093/japr/16.3.296>
23. Awad WA, Böhm J, Razzazi-Fazeli E, Ghareeb K, Zentek J. Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. Poult Sci. 2006;85(6):974-9. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/85.6.974>
24. Aliakbarpour HR, Chamani M, Rahimi G, Sadeghi AA, Quejeq D. The bacillus subtilis and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression, histomorphology and growth performance in broilers. Asian-Australas J Anim Sci. 2012;25(9):1285-93. doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12110>
25. Caballero-Franco C, Keller K, De Simone C, Chadee K. The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2007;292(1):G315-22. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00265.2006>
26. Cao GT, Zeng XF, Chen AG, Zhou L, Zhang L, Xiao YP, Yang CM. Effects of a probiotic, Enterococcus faecium, on growth performance, intestinal morphology, immune response, and cecal microflora in broiler chickens challenged with Escherichia coli K88. Poult Sci. 2013;92(11):2949-55. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03366>
27. Kullisaar T, Songisepp E, Zilmer, M. Probiotics and oxidative stress. En: Lushchak VI, editor. Oxidative stress. Environmental induction and dietary antioxidants. Estonia: InTech; 2012. doi: <https://doi.org/10.5772/33924>
28. Coskun S, Aslim B, Yuksekdogan ZN. Effect of two strains of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus on nitric oxide generation and antioxidant status of rat small intestine. Med Chem Res. 2010;(19):1082-91. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2004000300008>
29. Li YB, Xu QQ, Yang CJ, Yang X, Lv L, Yin CH, Liu XL, Yan H. Effects of probiotics on the growth performance and intestinal micro flora of broiler chickens. Pak J Pharm Sci. 2014;27(3):713-20.
30. Pelicano ERL, De Souza PA, De Souza HBA, Leonel FR, Zeola NMBL, Boiago MM. Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. Rev Bras Cienc Avi. 2004;6(3):177-82. doi: <https://doi.org/10.3923/ijps.2015.31.36>
31. Beski SSM, Al-Sardary SYT. Effects of dietary supplementation of probiotic and synbiotic on broiler chickens hematology and intestinal integrity. Int J Poult Sci. 2015;14(1):31-6. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03455>
32. Song J, Xiao K, Ke LY, Jiao LF, Hu CH, Diao QY, Shi B, Zou XT. Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. Poult Sci. 2014;93(3):581-8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.04.005>

33. Alkhalaf A, Alhaj M, Al-homidan I. Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens. *Saudi J Biol Sci.* 2010;17(3):219-25. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.04.005>
34. Bitterncourt L, Silva da Cassimira C, Silva Rangel PDS, Zanardo Donato DC, De Albuquerque R, Araújo LA. Influence of a probiotic on broiler performance. *R Bras Zootec.* 2011;40(12):2739-43. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.04.005>
35. Rocha A, Abreu R, Costa M, Oliveira G, Albinati R, Paz A, Queiroz L, Pedreira T. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. *Rev Bras Saúde Prod An.* 2010;11(3):793-801.
36. Ramasamy K, Abdullah M, Jalaludin S, Wong M, Ho YW. Effects of *Lactobacillus* cultures on performance of laying hens, and total cholesterol, lipid and fatty acid composition of egg yolk. *J Sci Food Agric.* 2009;89(3):482-6. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3477>
37. Mikulski D, Jankowski J, Naczmanski J, Mikulska M, Demey V. Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poult Sci.* 2012;91(10):2691-700. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/84.7.1015>
38. Zhang AW, Lee BD, Lee SK, Lee KW, An GH, Song KB, Lee CH. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. *Poult Sci.* 2005;84(7):1015-21. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/84.7.1015>
39. Wang Y, Gu Q. Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of Arbor Acres broilers. *Res Vet Sci.* 2010;89(2):163-7. doi: <https://doi.org/10.17795/ijep18877>
40. Darabi P, Goudarzvand M, Natanzi MM, Khodaii Z. Antibacterial activity of probiotic bacteria isolated from broiler feces and commercial strains. *Int J Enteric Pathog.* 2014;2(3):e18877. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00503>
41. Ruiz A, Williams SK, Dyeri N, Hinton A Jr, Rodrick GE. Nisin affects the growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat turkey ham stored at four degrees Celsius for sixty-three days. *Poult Sci.* 2010;89(2):353-8. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01220>
42. Menconi A, Wolfenden AD, Shivaramaiah S, Terraes JC, Urbano T, Kuttel J, et al. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults. *Poult Sci.* 2011;90(3):561-5. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00436>
43. Van Coillie E, Goris J, Cleenwerck I, Grijspeerdt K, Botteldoorn N, Van Immerseel F, et al. Identification of lactobacilli isolated from the cloaca and vagina of laying hens and characterization for potential use as probiotics to control *Salmonella Enteritidis*. *J Appl Microbiol.* 2007;102(4):1095-106.
44. Higgins JP, Higgins SE, Wolfenden AD, Henderson SN, Torres-Rodriguez A, Vicente JL, et al. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on *Salmonella Enteritidis* in neonatal broilers. *Poult Sci.* 2010;89(2):243-7. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00436>
45. Otutumi LK, Furlan AC, Nunes Martins E, Nakamura CV, De Moraes Garcia ER, Ventura Loose P. Diferentes vias de administração de probiótico sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a população microbiana do intestino delgado de codornas de corte. *R Bras Zootec.* 2010;39(1):158-64. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000100021>
46. Kumar L, Singh PK, Kumar M, Kumar Ch. Effect of dietary supplementation of combination of probiotics on the growth performance and immune response of broiler chickens. *Anim Nutr Feed Techn.* 2013;13(1):15-25.
47. Talebi A, Amirzadeh B, Mokhtari B, Gahri H. Effects of a multi-strain probiotic (PrimaLac) on performance and antibody responses to Newcastle disease virus and infectious bursal disease virus vaccination in broiler chickens. *Avian Pathol.* 2008;37(5):509-12. doi: <https://doi.org/10.1080/03079450802356995>
48. Lee SH, Lillehoj HS, Dalloul RA, Park DW, Hong YH, Lin JJ. Influence of *Pediococcus*-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens. *Poult Sci.* 2007;86(1):63-6. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/86.1.63>

49. Pelicano ERL, De Souza PA, De Souza HBA, Oba A, Norkus EA, Kodawara LM, De Lima TMA. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. *Rev Bras Cienc Avic.* 2003;5(3):207-14. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78747-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78747-4)
50. Král M, Angelovičová M, Alfaig E, Walczycka M. Meat quality of broiler chickens fed diets with bacillus subtilis and malic acid additives. *Scientific Papers. Animal Science and Biotechnologies.* 2013;46(2):375-8.
51. Gilliland SE, Walker DK. Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *J Dairy Sci.* 1990;73(4):905-11. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78747-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78747-4)
52. Lilly KGS, Shires LK, West BN, Beaman KR, Loop SA, Turk PJ, et al. Strategies to improve performance and reduce preslaughter Salmonella in organic broilers. *The J Appl Poult Res.* 2011;20(3):313-32. doi: <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00245>
53. Hashemzadeh Z, Karimi Torshizi M.A, Rahimi S, Razban V, Zahraei Salehi T. Prevention of Salmone-lla colonization in neonatal broiler chicks by using different routes of probiotic administration in hatchery evaluated by culture and PCR techniques. *J Agri Sci Tech.* 2010;12(4):425-32.
54. Yamawaki RA, Milbradt EL, Coppola MP, Rodrigues JC, Andreatti Filho RL, Padovani CR, Okamoto AS. Effect of immersion and inoculation in ovo of *Lac-tobacillus* spp. in embryonated chicken eggs in the prevention of Salmonella Enteritidis after hatch. *Poult Sci.* 2013;92(6):1560-3. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02936>
55. De Oliveira JE, van der Hoeven-Hangoor E, van de Linde IB, Montijn RC, van der Vossen JM. In ovo inoculation of chicken embryos with probiotic bacteria and its effect on posthatch Salmonella susceptibility. *Poult Sci.* 2014;93(4):818-29. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03409>