

Evaluación in vitro de extractos vegetales de *Prosopis spp* para su uso como reemplazo de AGP en aves

Ardoino, S.M.¹; Mariani E.L.²; Cachau, P.D.² y Toso, F.³

¹Cátedra Producción de Aves, CIDEF, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, calle 5 esquina 116, General Pico, La Pampa. silviardoino@hotmail.com

²Cátedra Producción de Aves, FCV, UNLPam.

³Cátedra Farmacología, CIDEF, FCV, UNLPam.

RESUMEN

Las consecuencias negativas del uso de antibióticos promotores de crecimiento en las dietas de aves llevaron a su prohibición en numerosos países. Esto también ha ocurrido en Argentina recientemente. En la búsqueda de ingredientes que ofrezcan un resultado similar en la ración se ha comenzado a ensayar el uso de extractos y aceites esenciales derivados de especies vegetales. Se evaluaron *in vitro* extractos metanólicos de cuatro especies de *Prosopis* frente a *Salmonella gallinarum gallinarum*, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* con el objetivo de poner en evidencia su efecto antimicrobiano y la posibilidad de utilizarlos como reemplazo de antibióticos promotores de crecimiento en la ración. Los resultados demostraron que los extractos metanólicos de *Prosopis flexuosa flexuosa* y *Prosopis strombulífera* inhibieron completamente el crecimiento de *Salmonella gallinarum gallinarum* y *Clostridium perfringens*, pero no inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli*. *Prosopis flexuosa depressa* y *Prosopis alpataco* no inhibieron el crecimiento de ninguna de las tres especies bacterianas ensayadas de esta manera.

Palabras clave: AGP, extractos vegetales, antibióticos promotores de crecimiento, resistencia antimicrobiana, *Prosopis*

In vitro evaluation of vegetable extracts of *Prosopis spp* for its use as replacement of AGP in poultry

ABSTRACT

The negative consequences of the use of antibiotic growth promoters in poultry diets led to their prohibition in many countries. This has also happened in Argentina recently. In the search for ingredients that offer a similar result in the ration, the use of extracts and essential oils derived from plant species has begun to be tested. Methanolic extracts of four species of *Prosopis* were evaluated in vitro against *Salmonella gallinarum gallinarum*, *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* to demonstrate their antimicrobial effect and the possibility of using them as a replacement for antibiotic growth promoters in the ration. The results showed that the methanolic extracts of *Prosopis flexuosa flexuosa* and *Prosopis strombulífera* completely



inhibited the growth of *Salmonella gallinarum gallinarum* and *Clostridium perfringens* but did not inhibit the growth of *Escherichia coli*. *Prosopis flexuosa depressa* and *Prosopis alpataco* did not inhibit the growth of any of the three bacterial species tested in this way.

Keywords: AGP, vegetable extracts, antibiotics growth promoters, antimicrobial resistance, *Prosopis*

INTRODUCCIÓN

La carne de pollo es uno de los principales aportes de proteína a la dieta a nivel mundial, su producción se caracteriza por requerir de espacios reducidos y costos bajos, en comparación con otras carnes. La producción global de carne de pollo en el año 2021 se estima fue de 135.400.000 toneladas, superior a la producción de carne bovina y de cerdo (FAO 2021). En la República Argentina durante 2021 se faenaron 741.395.000 cabezas de pollos, lo que permite estimar un consumo aparente de 45,56 kg por habitante por año (MAGyP, 2022).

Para lograr llegar a niveles de producción que permitan obtener estas cantidades de carne la industria avícola invirtió en los últimos 70 años grandes cantidades de recursos en investigación relacionada con genética, sanidad y alimentación. Así fue posible, en nuestro país, pasar de pollos que a los cinco meses pesaban 2,3 kg en la década de 1950 a los actuales 2,85 kg en 47 días en 2020 (CAPIA, 2022).

Una de las prácticas de manejo alimenticio que colaboró para llegar a estos resultados productivos fue la incorporación de antibióticos como promotores de crecimiento (AGP, antibiotics growth promoters) utilizados en las raciones de alimentos balanceados. Esta adición continuada de antibióticos en dosis subterapéuticas en la ración permitió la modificación de la flora intestinal mediante la reducción de las bacterias habitantes normales del intestino del ave, pero que ejerciendo un efecto negativo sin llegar a una acción patógena específica. Esta acción mejoraba la absorción y aprovechamiento de nutrientes y la disminución de la inflamación a nivel intestinal. Sin embargo, también provocó una lenta pero constante selección de bacterias resistentes al antibiótico utilizado, las cuales se fueron volcando al medio ambiente y trasladando esa resistencia a las próximas generaciones bacterianas. Es así que ya a mediados de la década de 1970 comienzan a desarrollarse estudios que alertan sobre este problema y evalúan sus futuras implicancias. En 1986 Suecia se convierte en el primer país en prohibir el uso de antibióticos como promotores de crecimiento fundamentando su decisión en el desarrollo de la resistencia antimicrobiana (RAM) y la inseguridad de los efectos de este proceso a futuro (Wierup, 1999; Cepero Briz, 2005).

Ante esta situación de ausencia de los AGP se puso el foco en dos cuestiones: la microbiota intestinal y los ingredientes que pudieran reemplazar a los AGP sin los efectos contraproducentes sobre la salud pública. Consecuentemente, se inició un importante área de estudio relacionada con la microbiota intestinal y su importancia en la digestión de los nutrientes y la inflamación intestinal. Cuando la microbiota se ve alterada se produce un proceso inflamatorio que trae aparejado la disminución de la permeabilidad intestinal, la proliferación de bacterias no deseables, la disminución del tamaño de las vellosidades y consecuentemente disminución de la absorción. A raíz de

ello, se genera competencia entre los microorganismos indeseables tales como *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* y los mecanismos de absorción del ave por los nutrientes, incrementando el costo metabólico y de activación del sistema inmunitario (López et al., 2016).

Dentro de los ingredientes propuestos para el reemplazo de los AGP se ensayaron numerosos compuestos, sobre todo aquellos considerados "naturales": probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y fitobióticos (Denli y Demirel, 2018). Los términos fitogénicos y fitobióticos se han usado como sinónimos. Se denomina así a compuestos naturales provenientes de las plantas y utilizados como aditivos en la producción animal, tales como los extractos vegetales y los aceites esenciales. Estos compuestos son metabolitos secundarios de las plantas y desde el punto de vista químico incluyen terpenos, flavonoides, alcaloides y fenoles (Abd El-Ghany, 2020). Numerosos informes destacan los resultados positivos de estos compuestos sobre parámetros de producción, efecto antimicrobiano y antibacterial, anticoccidial e inmunomodulador en varias especies animales, con especial atención en aves (Deminicis et al. 2021; Liu et al., 2019; Peralta et al., 2019; Gonçalves Koizumi et al., 2014; Mathouli et al., 2012). Además se ha observado una modificación en la histomorfología de la pared intestinal, relativa al largo de las vellosidades intestinales, profundidad de las criptas y relación vellosidad/cripta que también favorece los resultados productivos. (Deminicis et al., 2021)

Especialmente se han probado para esta finalidad plantas aromáticas, tanto en forma individual como utilizando combinaciones de aceites o extractos de diferentes plantas (Xue et al., 2020). El orégano (*Origanum vulgare*) fue uno de los primeros en ensayarse, desde fines del siglo pasado (Hammer et al., 1996), describiéndose para el mismo actividad antimicrobiana, anticoccidial, antioxidante y de aumento de consumo de alimento, (Denli y Demirel, 2018; Bona et al., 2012; Mathouli et al., 2012). El extracto de orégano y el aceite esencial de orégano se utilizan en forma comercial en varios países desde mediados de la década de 1990 para su uso como aditivo en dietas de aves.

Dentro de las numerosas especies ensayadas en aves como reemplazo de los AGP incluyen extractos o aceites esenciales derivados de *Allium sativum* (ajo), *Piper nigrum* (pimienta negra), *Euphorbia hirta* (hierba de sapo), *Thymus vulgaris* (tomillo), *Cinnamomum cassia* (canela china, casia), *Curcuma longa* (cúrcuma), *Laurus nobilis* (laurel), *Citrus limonum* Risso (limonero), *zingiber officinale* (jengibre), *Quercus cortex* (roble), *Ginkgo biloba* (ginkgo), *Camelia sinensis* (té), *Azadiractha indica* (nimbo de la India), *Trigonella foenum* (fenogreco), *Copaifera sp* (copaifera) (Deminicis et al, 2021; Abd El-Ghany, 2020)).

El objetivo de gran parte de estos trabajos incluyó identificar los compuestos químicos responsables del efecto antimicrobiano. Se puso en evidencia que el timol y su isómero el carvacrol, el cinamaldehído, presentes en gran parte de las aromáticas, todos con gran cantidad de componentes fenólicos o terpénicos presentaron resultados que pueden llegar a ser comparables con los obtenidos por los AGP (Huberman et al., 2021; Ullah et al., 2020, Wang et al., 2018).

También se han ensayado otras especies no aromáticas como reemplazo de los AGP. Un estudio realizado con *Schinopsis lorenzii* (quebracho colorado) reveló que *in vitro*, su extracto tiene una actividad similar a la Bacitracina Zn (Prosdócimo et al, 2010).)

Las especies leñosas en general son una fuente importante de compuestos fenólicos, los cuales han demostrado tener efecto antimicrobiano. Estudios sobre *Prosopis flexuosa* var. *depressa* determinaron su efecto antimicrobiano in vitro frente a *Br. canis* en la forma de extracto metanólico. La caracterización química del mismo determinó la presencia de taninos, núcleos esteroidales y triterpénicos, flavonoides y alcaloides, los que en forma separada o asociativa podrían justificar el citado efecto (Ardoino et al., 2012). El extracto hidroetanólico de *Prosopis pallida* demostró efecto antibacteriano a diferentes concentraciones frente a bacterias productoras de gingivitis (Grillo Patiño y Livia Valladolid, 2018), en tanto que *Prosopis alba* presentó actividad antimicrobiana media frente a *Salmonella* en un extracto con acetona y agua. El mismo estudio demostró que se obtiene una mayor concentración de compuestos fenólicos cuando la extracción se realiza con acetona y agua que cuando se realiza con etanol y agua, independientemente que la metodología de extracción sea agitación o ultrasonido. (Ruiz et al., 2019) En el mismo estudio se ensayó el efecto antimicrobiano frente a *E. coli*, el cual es negativo. Similares resultados encontraron Corzo et al. (2009) utilizando tintura, decocción e infusión de hojas de *Prosopis alba*. Sin embargo, Correa Arellano (2021) encuentra efectos inhibitorios del extracto acuoso de la algarroba ("algarrobina") en forma de preparado comercial sobre *E. coli*, logrando una CIM del 50%. En el análisis de la composición del extracto describe la presencia de azúcares reductores, saponinas, polifenoles, nitratos entre otros.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antimicrobiano de distintas especies de prosopis frente a *Samonella gallinarum*, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringes* para su potencial uso como reemplazo de AGP en aves.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especies vegetales: se utilizaron partes aéreas (tallos, hojas y corteza, no frutos) de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa*, *Prosopis flexuosa* var. *depressa*, *Prosopis alpataco* y *Prosopis strombulifera*.

Obtención de los extractos vegetales: se maceraron 20 g de partes aéreas trituradas de cada planta en 100 mL de una solución etanol:agua (1:1, v/v) durante 24 h (3x). De esta manera se obtuvieron los Extractos Hidroalcohólicos, los cuales se juntaron y fueron llevados a sequedad en rotavapor a una temperatura de 70°C. Los extractos secos se retomaron con 200 mL de metanol (3X). Se juntaron y llevaron a sequedad en rotavapor a 70°C obteniendo los Extractos Metanólicos Desecados. Estos extractos desecados se conservaron a - 20°C hasta el momento de realizar los ensayos. Antes de los ensayos, los Extractos Metanólicos Desecados correspondientes al extracto obtenido a partir de 4 g de partes aéreas secas se resuspendieron en un volumen total de 5 mL de agua destilada estéril obteniendo el Extracto Metanólico para ensayar.

Cepas microbianas: las cepas utilizadas fueron provistas por el Departamento de Bacteriología del INEI ANLIS "Carlos G. Malbrán". Todas las cepas son cuarto repique de cepas derivadas ATCC.

Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales contra *Salmonella gallinarum gallinarum* y *Escherichia coli*: las pruebas de actividad antimicrobiana se realizaron sobre placas de Petri de 60 mm de diámetro con 10 mL de agar Mueller Hinton a la que se le adicionaron 100 µL de extracto por placa obteniendo una concentración

del extracto en la placa de 1/100. Cada placa se sembró con una suspensión bacteriana del agente etiológico en solución fisiológica estéril correspondiente al 0,5 en la escala de Mc Farland. Además se sembraron dos placas control negativo sin extracto para verificar crecimiento y dos placas control positivo con disco de antibiótico para verificar inhibición del crecimiento. Se utilizó como antibiótico control norfloxacin para el caso de *E. coli*, y gentamicina para *Salmonella gallinarum gallinarum*. Se incubó en estufa a 37°C durante 24 horas y se realizó la lectura de la presencia o no de crecimiento bacteriano en las placas con extracto y control negativo y el halo de inhibición en las placas con disco de antibiótico control positivo. En las placas en que se observó inhibición del crecimiento se realizó una ansada y tinción a fin de verificar la ausencia de crecimiento bacteriano. Se realizaron cuatro repeticiones de cada extracto.

Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales contra *Clostridium perfringens*: las pruebas de actividad antimicrobiana se realizarán sobre placas de Petri de 60 mm de diámetro con 10 mL medio agar sangre a la que se le adicionaron 100 µL de extracto por placa obteniendo una concentración del extracto en la placa de 1/100. Cada placa se sembró con una suspensión bacteriana del agente etiológico en solución fisiológica estéril correspondiente al 0,5 en la escala de Mc Farland. Además, se sembraron dos placas control negativo sin extracto para verificar crecimiento y dos placas control positivo con disco de antibiótico para verificar inhibición del crecimiento. Se utilizó como antibiótico control lincomicina. Se incubó en estufa en anaerobiosis a 37°C durante 24 horas y se realizó la lectura de la presencia o no de crecimiento bacteriano en las placas con extracto y control y el halo de inhibición en las placas con disco de antibiótico control. En las placas en que se observó inhibición del crecimiento se realizó una ansada y tinción a fin de verificar la ausencia de crecimiento bacteriano. Se realizaron cuatro repeticiones de cada extracto.

Concentración inhibitoria mínima (CIM): se realizó en placas de 60 mm con 9 mL del medio de cultivo correspondiente y 1 mL de cada dilución del extracto vegetal correspondiente a las diluciones 1/10, 1/20, 1/40 y 1/80. Posteriormente se procedió a la siembra de la misma manera descrita en la evaluación de la actividad antimicrobiana.

RESULTADOS

Los resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana se muestran en la tabla 1.

	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella gallinarum gallinarum</i>
<i>Prosopis alpataco</i>	Inhibición total de crecimiento	Crecimiento normal	Crecimiento normal
<i>Prosopis flexuosa var. flexuosa</i>	Inhibición total de crecimiento	Crecimiento normal	Inhibición total de crecimiento
<i>Prosopis flexuosa var. depressa</i>	Crecimiento normal	Crecimiento normal	Crecimiento normal

<i>Prosopis strombulifera</i>	Inhibición total de crecimiento	Crecimiento normal	Inhibición total de crecimiento
-------------------------------	---------------------------------	--------------------	---------------------------------

Tabla 1: Evaluación de la actividad antimicrobiana

En el caso de los extractos que inhibieron el crecimiento bacteriano se realizó la CIM, obteniéndose inhibición completa hasta una dilución de 1/20 en el caso de *Prosopis strombulifera* frente a *Clostridium perfringens*, en tanto que *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* y *Prosopis alpataco* no lograron inhibición en las diluciones. Para *Salmonella gallinarum gallinarum* se logró inhibición del crecimiento hasta una dilución de 1/10 con *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* y hasta 1/20 con *Prosopis strombulifera*.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos son coincidentes en algunos aspectos con los encontrados en la bibliografía (Huberman et al. 2021; Ruiz et al., 2019; Corzo et al., 2009) y muestran mejores resultados en cuanto a la inhibición del crecimiento de *S. gallinarum gallinarum* y *C. perfringens* que para *E. coli*. Tal como sugieren Xue et al. (2020), se podrían ensayar combinaciones de diferentes especies de *Prosopis* o de *Prosopis* con otras especies vegetales, especialmente con extracto o aceite esencial de alguna aromática, para incorporar diferentes principios activos y lograr un efecto aditivo.

De acuerdo a los diferentes estudios publicados, *E. coli* no parece ser inhibida en su crecimiento por extractos derivados de especies de *Prosopis* (Ruiz et. al, 2019), ni por otras formas de extracción ensayadas por Corzo et.al (2009). Correa (2021) encuentra efecto inhibitorio de *prosopis alba* sobre *E. coli*, en un extracto acuoso de frutos, por lo que se puede plantear evaluar extractos de frutos, dado que en el ensayo aquí descrito no se utilizaron frutos. El efecto de inhibición obtenido por este autor proviene de un extracto acuoso, es decir con un solvente más polar que el metanol. Esto también podría ser la causa de extracción de otros grupos químicos responsables del efecto de inhibición. A partir de aquí se podrían plantear dos nuevas hipótesis: el efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *E.coli* se debe a grupos químicos que están presentes en las flores y no en el resto de las partes aéreas, o bien el efecto se debe a grupos químicos que se encuentran en el extracto acuoso, pero no en el metanólico.

En base a estas consideraciones se plantea la posibilidad de ensayar la extracción con solventes de distinta polaridad, e identificar grupos de compuestos responsables del efecto obtenido en cada extracción. El efecto obtenido que describen Ruiz et al. (2019). se expresa con extractos obtenidos con menos polares que el metanol, y el descrito por Correa (2021) en un extracto con solvente más polar. También sería conveniente identificar los grupos químicos responsables del efecto inhibitorio en próximos trabajos.

CONCLUSIONES

Los extractos de *Prosopis* han demostrado inhibición del crecimiento bacteriano en el caso de *Salmonella gallinarum gallinarum* y *Clostridium perfringens*, en tanto que no han inhibido el crecimiento de *E. coli*. Se plantea la posibilidad de ensayar extracciones

de frutos y con solventes diferentes, también combinaciones de los extractos para comprobar la existencia de efectos aditivos o efecto sobre *E. coli*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abd El-Ghany, W.A. (2020). Phytobiotics in Poultry Industry as Growth Promoters, Antimicrobials and Immunomodulators - A Review. *J. World Poultry Res.*, 10(4): 571-579. DOI: <https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2020.65>

Ardoino, S. M., Boeris, M. A., Baruta, D., & Toso, R. E. (2012). Comparación del efecto antimicrobiano de partes aéreas y corteza de *Prosopis flexuosa* var. *depressa* sobre *Brucella canis*. *Ciencia Veterinaria*, 14(1), 7-13. Recuperado a partir de <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1834>

Bona, T.D.M.M; Larissa Pickler, L.; Miglino, L.B.; Kuritza, L.N.; Vasconcelos, S.P., Santin, E. (2012) Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. *Pesq. Vet. Bras.* Vol. 32(5):411-418. DOI: 10.1590/S0100-736X2012000500009

CAPIA. (2022) Estadísticas anuales 2021. <https://docs.google.com/spreadsheets/d/1LXmkHls6xwSgcZe5RdEegyKcWu90RY6-/edit?usp=sharing&oid=109105502003866536851&rtpof=true&sd=true>

Cepero Briz, R. (2005) Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la unión europea: causas y consecuencias. Ponencia presentada en XII Congreso Bienal Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Avícola (AMENA)

Correa Arellano, C.E. (2021) Efecto antibacteriano de la algarrobina de *Prosopis pallida* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar al grado académico de Doctor en bioquímica y nutrición. Repositorio Académico UPSM. dc.identificer.uri: <https://hdl.handle.net/20.500.12727/8778>

Corzo, A. G.; E. Bravo; F. Serrano; M. A. Vattuone (2009). Actividad antibacteriana de extractos de hojas de *Prosopis alba*, Griseb, frente a cepas patógenas humanas y fitopatógenas. *Revista de Ciencias Forestales - Quebracho* Vol.17(1,2):106-114.

Deminicis, R. G. Da S.; Meneghetti, C.; Oliveira, E. B. De; Garcia Júnior, A. A. P. .; Farias Filho, R. V. .; Deminicis, B. B. (2021) Revisão sistemática do uso de fitobióticos na nutrição de frangos de corte. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Lages, v. 20, n. 1, p. 098 - 106. DOI: 10.5965/223811712012021098. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/18816>.

Denli, M.; Demirel, R (2018). Replacement of antibiotics in poultry diets. *CAB Reviews* 13, No. 035.: 1-9. doi: 10.1079/PAVSNNR201813035

FAO. (2021) *Food Outlook - Biannual Report on Global Food Markets*. Food Outlook, November 2021. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb7491en> ISSN 1560-8182 [online]

Gonçalves Koiyama, N.T.; Pires Rosa, A.; Sangoi Padilha, M.T.; Schröder Boemo, L.; Scher, A.; da Silva Melo, A.M.; de Oliveira Fernandes, M. (2014). Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. *Pesq. agropec. bras.*, v.49, n.3, p.225-231. DOI: 10.1590/S0100-204X2014000300009

Grillo Pātiño, M.; Livia Valladolid, N.E. (2018). Efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida* (algarrobo), *Plantago major* (llantén) y *Ruta graveolens* (ruda) sobre *Porphyromonas gingivalis* ATCC33277. Tesis. Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas. URI <https://hdl.handle.net/20.500.12692/26356>

Hammer KA, Carson CF, Riley TV. (1996). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol.* 86(6):985-90. doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x. PMID: 10438227.

Huberman, Y. D.; Malena, R. C.; Lomónaco, J.; Nievas, P.A. (2021). Evaluación de la eficiencia in vitro de extractos vegetales polifenoles sobre el crecimiento de *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *S. gallinarum* y *Escherichia coli* aisladas de aves. Pertenece al libro: I Congreso de Microbiología Veterinaria. Libro de resúmenes <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/122095> <https://doi.org/10.35537/10915/122095>

Liu SD, Song MH, Yun W, Lee JH, Kim HB, Cho JH. 2019. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. *Poult Sci.* 1;98(5):2026-2033. doi: 10.3382/ps/pey575. PMID: 30590708.

- López, A., Parra, J.E., Chávez, L.A. (2016) Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. Archivos de Zootecnia 65(249):51-58. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49544737008>
- MAGyP. (2022). Indicadores del sector avícola: carne aviar. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/estadistica/carne/_archivos//000001_Indicadores%20Mensuales/000000_Indicadores%20de%20%200ferta%20y%20Demanda%202016-2022.pdf Consultado: 15-7-2022
- 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. 90:813-823 <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2010-3646>
- Peralta, M.F., Nilson A., Miazso, R.D. (2019) Nutrición aviar: alternativas naturales para optimizar la funcionalidad gastrointestinal. Revista Científica FAV-UNRC Ab Intus 4 (2): 103-109
- Prosdócimo, F; Sosa, N.; Batallé, M.; Barrios, H.; De Franceschi, M (2010). Determinación in vitro del efecto antibacteriano de un extracto obtenido de quebracho colorado, *Schinopsis lorentzii*. InVet, 12(2),139-143.[fecha de Consulta 7 de Agosto de 2022]. ISSN: 1514-6634. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179119233003>
- Ruiz, S.C.; García, E. M.; Nediani, T.; Zimerman, M.; Nazareno, M. A.; Martínez, S. L. (2019). Potencial antioxidante y Actividad antimicrobiana de extractos de hojas de Mistol (*Zizyphuz mistol*), Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) y Tusca (*Acacia aroma*) procedentes de Santiago del Estero, Argentina. Revista del Foro de la Alimentación, la Nutrición y la Salud 1 (1) : 10-19. <http://fanus.com.ar/rfanus/2019-01.pdf>
- Ullah A, Munir S, Badshah SL, Khan N, Ghani L, Poulson BG, Emwas AH, Jaremko M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*. 11;25(22):5243. doi: 10.3390/molecules25225243. PMID: 33187049; PMCID: PMC7697716.
- Wang T, Liu Y, Li X, Xu Q, Feng Y, Yang S. (2018) Isoflavones from green vegetable soya beans and their antimicrobial and antioxidant activities. *J Sci Food Agric*. 98(5):2043-2047. doi: 10.1002/jsfa.8663. Epub 2017 Oct 24. PMID: 28885710.
- Wierup M. (1999) Los métodos preventivos reemplazan a los antibióticos promotores del crecimiento: 10 años de experiencia en Suecia. *Enf Infec Microbiol*. 19(1):18-22.
- Xue F, Shi L, Li Y, Ni A, Ma H, Sun Y, Chen J. (2020) Effects of replacing dietary Aureomycin with a combination of plant essential oils on production performance and gastrointestinal health of broilers. *Poult Sci*. 99(9):4521-4529. doi: 10.1016/j.psj.2020.05.030. Epub 2020 Jun 24. PMID: 32867996; PMCID: PMC7598001.