



## Comportamiento productivo y cambios morfológicos en vellosidades intestinales del pollo de engorda a 21 días de edad con el uso de paredes celulares del *Saccharomyces cerevisiae*

### Performance parameters and morphological changes in intestinal villi of broilers at 21 days of age by the inclusion of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls

José Arce Menocal\* Ernesto Ávila González\*\* Carlos López Coello\*\*\*

#### Abstract

A research study was conducted to evaluate the effect of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls (ScCw) at 500 g/t and avilamycin as a growth promoter antibiotic (GPA), at 10 ppm, in sorghum + soybean meal diets for broiler chicks, on live production performance at 21 days of age, as well as on length, width, number and area of intestinal villi at 10 and 21 days. A total of 200 one-day-old broiler chicks were allocated in batteries and distributed in a completely randomized design, consisting of a 2 × 2 factorial arrangement with five repetitions of 10 birds each one. The factors were the presence and absence of ScCw and GPA for the productive variables. The intestinal villi data were analyzed as a completely randomized design with repeated measurements at ten or 21 days of age. Results of productive variables showed differences ( $P < 0.05$ ) in body weight (660 vs 683 g) and feed conversion (1.47 vs 1.41 g/g), in favor of birds that consumed the diet with GPA. The addition of ScCw improved ( $P < 0.05$ ) body weight (662 vs 681 g). The greater the age of birds (21 vs 10 days), the greater ( $P < 0.05$ ) the width (264 vs 398  $\mu$ ), number (41.7 vs 45.2 n) and area (26.2 vs 44.5  $10^3 \mu^2$ ) of intestinal villi; the effect of ScCw was manifested at 21 days with a larger area of villi. This partly explains the beneficial effect of these natural products on broiler production.

**Key words:** CELL WALLS, *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, PRODUCTIVE PARAMETERS, INTESTINAL VILLI, BROILER.

#### Resumen

Se desarrolló un trabajo de investigación con el objetivo de evaluar paredes celulares del *Saccharomyces cerevisiae* (PcSc) a 500 g/t y avilamicina como antibiótico promotor de crecimiento (APC) a 10 ppm, en dietas sorgo + soya para pollo de engorda, sobre las variables productivas a los 21 días de edad, así como la longitud, ancho, número y área de las vellosidades intestinales a los diez y 21 días. Se utilizaron 200 pollitos de un día de edad, alojados en baterías y distribuidos mediante un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2 × 2 con cinco repeticiones de diez aves cada uno; los factores fueron: presencia y ausencia de PcSc y APC para las variables productivas. Los datos de las vellosidades intestinales se analizaron mediante un diseño completamente al azar con mediciones repetidas a los diez y 21 días de edad. Los resultados de las variables productivas mostraron diferencias ( $P < 0.05$ ) en peso corporal (660 vs 683 g) y conversión alimenticia (1.47 vs 1.41 g/g), en favor de las aves que consumieron la dieta con APC; las PcSc también mostraron efectos ( $P < 0.05$ ) favorables en el peso corporal (662 vs 681 g). La mayor edad de las aves (21 vs 10 días) fue determinante para demostrar ( $P < 0.05$ ) un aumento en la amplitud (264 vs 398  $\mu$ ), número (41.7 vs 45.2 n) y área de las vellosidades (26.2 vs 44.5  $10^3 \mu^2$ ); el efecto de las PcSc se manifestó a los 21 días en mayor área de vellosidades, ello explica, en parte, el efecto benéfico que poseen estos productos naturales en la producción del pollo de engorda.

**Palabras clave:** PAREDES CELULARES, *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, PARÁMETROS PRODUCTIVOS, VELLOSIDADES INTESTINALES, POLLO DE ENGORDA.

Recibido el 17 de noviembre de 2006 y aceptado el 20 de febrero de 2008.

\*Campo Experimental Uruapan, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ecuador 120, Fraccionamiento Américas, 58270, Morelia, Michoacán, México, Tel. 443-3-152772; correo electrónico: josearce\_55@yahoo.com.mx Correspondencia a la misma dirección.

\*\*Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

\*\*\*Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

## Introduction

Avian enterprises and food producers face each time more legislative pressures to reduce the use of products such as growth promoters, chemically related to antibiotics that are applied for human disease treatment. The European Union recently prohibited the use of some growth promoter antibiotics (GPA) in animal food, due to the fact that they belong to compounds also used in human medicine.<sup>1</sup> This forced nutritionists to look for new additive sources of natural origin that were harmless and with effects similar to GPA on animal production. Probiotic use for avian feeding, such as yeast cell wall (*Saccharomyces cerevisiae*), mainly constituted by polysaccharides (glucan and mannan)<sup>2,3</sup> can be a good option. Advantages of these products are based on specific properties of the digestive tract, including flora modification, decrease of mucosal renewal speed and modulation of the intestinal immune system;<sup>4,5</sup> with direct benefits on growth rate, feed conversion efficiency and bird viability,<sup>6</sup> effects that are similar to those observed using GPA. The joined addition of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls (ScCw) and GPA has proved to induce a stronger response on avian productive behavior.<sup>7,8</sup> It has also been found a synergic effect on antibiotic treatment against bacterial infections.<sup>9</sup> Because of the importance of these components in production systems, it was achieved to purify the active ingredients<sup>10</sup> with results similar to those of ScCw in birds.<sup>11</sup> The objective of the present study was to evaluate ScCw food addition with and without APC on productive variables at 21 days of age, as well as on the morphology of the intestinal villi, in order to understand the influence of these components on broiler production, along with creating more information on their own characteristics and behavior with different types of diets.

The study was done in an avian farm of the Tarimbaro municipality, Mexico, localized at 1 940 masl and 17.7°C of mean annual temperature (-2.4°C minimum and 37.5°C maximum). A total of 200 one-day-old mixed chicken of the Roos lineage were used. Animals were kept in batteries until 21 days of age. Chicken were distributed by a completely randomized design into four treatments, in a 2 × 2 factorial arrangement with ten birds each per treatment. The factors considered were: presence and absence in diet of antibiotic, used as growth promoter (avilamycin 10 ppm), and *Saccharomyces cerevisiae* cell walls in 500 g/t doses.

Birds had free access to food in flour form. The starting diet, based on sorghum + soybean paste, was done to fulfill the nutrimental recommendations by Cuca *et al.*<sup>12</sup> (Table 1). Management program was similar for all treatments, with a natural light program.

## Introducción

Las empresas avícolas y fabricantes de alimento se enfrentarán cada vez más a presiones legislativas para reducir el uso de productos como promotores del crecimiento, relacionados químicamente con los antibióticos que se aplican para el tratamiento de las enfermedades del ser humano. Recientemente, la Unión Europea prohibió el uso de algunos antibióticos promotores de crecimiento (APC) en los alimentos para animales, porque aquéllos pertenecen a compuestos que también son utilizados en medicina humana,<sup>1</sup> con ello se obligó a los nutriólogos a buscar nuevas fuentes de aditivos de origen natural que sean inofensivas y que tengan efectos similares a los APC en la producción pecuaria. El uso de prebióticos en la alimentación de las aves, como las paredes celulares de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), constituidos principalmente por polisacáridos (glucanos y mananos),<sup>2,3</sup> puede ser buena opción. Las ventajas de estos productos se basan en propiedades específicas sobre el aparato digestivo, que incluyen modificación de la flora, reducción en la velocidad de renovación de la mucosa y modulación del sistema inmune intestinal,<sup>4,5</sup> con beneficios directos en la tasa de crecimiento, eficiencia en la conversión alimenticia y en la viabilidad de las aves;<sup>6</sup> efectos similares a los observados con el uso de APC. La adición conjunta de paredes celulares del *Saccharomyces cerevisiae* (PcSc) y APC ha demostrado mayor respuesta en el comportamiento productivo de las aves,<sup>7,8</sup> y se ha encontrado también efecto sinérgico en tratamientos con antibióticos para combatir infecciones bacterianas.<sup>9</sup> Dada la importancia que han tenido estos componentes en los sistemas de producción, se logró purificar los componentes activos,<sup>10</sup> con resultados similares a los PcSc en las aves.<sup>11</sup> El objetivo del presente estudio fue evaluar la adición de las PcSc en el alimento, con y sin APC, sobre las variables productivas a los 21 días de edad, así como la morfología de las vellosidades intestinales, para contribuir a entender la forma de actuar de estos nuevos componentes en la producción del pollo de engorda, y generar más información sobre las características propias de éstos y su comportamiento con diferentes tipos de dietas.

El trabajo se realizó en una granja avícola del municipio de Tarimbaro, Michoacán, México, localizada a 1 940 msnm y temperatura media anual de 17.7°C (mínima de -2.4°C y máxima 37.5°C). Se utilizaron 200 pollitos mixtos de un día de edad, de la estirpe Ross, que se mantuvieron en baterías hasta los 21 días de edad. Se distribuyeron mediante un diseño completamente al azar en cuatro tratamientos en arreglo factorial 2 × 2, con cinco repeticiones de diez aves cada uno para cada tratamiento. Los factores a

Response criteria for the reproductive variables at 21 days of age were: body weight (g), food intake (g) and food conversion (g/g). Three birds of each repetition were euthanized at days ten and 21 of age to obtain histological samples of the duodenal handle. Length width in microns ( $\mu$ ) and number of intestinal villi were assessed, along with the area  $\times 10^3$  in  $\mu^2$

considerar fueron: presencia y ausencia de antibiótico en la dieta, utilizado como promotor de crecimiento (avilamicina, 10 ppm), así como paredes celulares del *Saccharomyces cerevisiae* en dosis de 500 g/t.

El alimento se proporcionó a libre acceso en forma de harina, y la dieta de iniciación con base en sorgo + pasta de soya se elaboró para llenar ampliamente

**Cuadro 1**

COMPOSICIÓN DE LA DIETA EXPERIMENTAL PARA POLLOS  
DE 0 A 21 DÍAS DE EDAD  
COMPOSITION OF THE EXPERIMENTAL DIET FOR BROILERS  
FROM 0 TO 21 DAYS OF AGE

<i>Ingredient</i>	<i>Percentage</i>
Sorghum (8.5%)	54.79
Soy paste (46%)	36.8
Vegetal oil	3.8
Orthophosphate	1.7
Calcium carbonate (38%)	1.4
Common salt	0.33
DL-Methionine 99 %	0.33
Sodium bicarbonate	0.22
Vitamins and minerals*	0.26
Choline chloride (60%)	0.1
L-Lysine HCl	0.23
Antioxidant	0.015
L- Threonine	0.03
Total	<b>100</b>
<i>Nutrimet</i>	<i>Calculated analysis</i>
Protein %	22.00
ME, Kcal/kg	3,024
Lysine %	1.37
Methionine %	0.64
Methionine + cysteine %	1.00
Tryptophan %	0.27
Threonine %	0.84
Available phosphorus %	0.50
Calcium %	1.00
Sodium %	0.20

\*Provides per kg. Vitamin A, 3 000 000 UI; Vitamin D<sub>3</sub>, 750 000 UI; Vitamin E, 6 000 UI; Vitamin K<sub>3</sub>, 1.0 g; Riboflavin, 4 g; B<sub>12</sub>, 0.060 g; Pyridoxine, 3.0 g; Calcium pantothenate, 13.0 g; Niacin, 25 g; Biotin, 0.063 g; Choline chloride, 250 g. Selenium, 0.2 g; cobalt, 0.1 g; Iodine, 0.3 g; Copper, 10 g; Zinc, 50 g; Iron, 100 g; Manganese, 100 g; Excipient as needed to, 1000 g.

obtained from multiplying length, width and number. Variables were analyzed by a completely randomized design with repeated measures. Data obtained from each of the described variables were analyzed according to the design and, when a significant difference was detected ( $P < 0.05$ ), comparison was done with the Tukey test.<sup>13</sup>

There was no interaction between the studied factors (Table 2). Differences ( $P < 0.05$ ) were seen for body weight and food conversion favoring the presence of the antibiotic (avilamycin) in diet as growth promoter. In this sense, higher body weights were obtained with the addition of cell walls ( $P < 0.05$ ). Results from intestinal villi (Table 3) showed differences ( $P < 0.05$ ) among treatments. The use of cell walls increase the length and number of intestinal villi ( $P < 0.05$ ); however, age was also determinant for intestinal evaluations, since the older the bird, the bigger the width, number and area of the villi ( $P < 0.05$ ).

Antibiotics have been used for many years in diet because of their beneficial effect as growth promoters for avian production.<sup>25</sup> However, the tendency to forbid this kind of compounds in animal feeding forces to search for harmless substitutes, such as *Saccharomyces cerevisiae* cell walls that at 500 g/t improves body weight, just as avilamycin did it at 10 ppm. This effect as growth promoter of the cell walls on broilers concurs with the few studies done by other authors<sup>6,7</sup> and can be explained by another important finding, the higher width and number of the intestinal villi, which might have favored nutrient intake by increasing absorption of fatty acids, amino acids and glucose.<sup>14</sup> It has been reported that a better intestinal health leads to an increase of the intestinal villi;<sup>15</sup> and it has also been proved that mannans and glucans present in the cell walls, decrease enteropathogenic bacteria that impede the increase of the beneficial bacterial flora.<sup>16-18</sup>

las recomendaciones de nutrimentos de Cuca *et al.*<sup>12</sup> (Cuadro 1). El programa de manejo fue similar para todos los tratamientos, con un programa de luz natural.

Los criterios de respuesta en las variables productivas a los 21 días de edad fueron: peso corporal (g), consumo de alimento (g) y conversión alimenticia (g/g). A los diez y 21 días de edad se sacrificaron tres aves de cada réplica con el propósito de obtener un corte histológico del asa duodenal, en el cual se midió en micras ( $\mu$ ) la longitud, ancho y número de las vellosidades intestinales, así como el área  $\times 10^3$  de  $\mu^2$  que se obtuvo al multiplicar la longitud, ancho y número. Estas variables se analizaron mediante un diseño completamente al azar con mediciones repetidas. Los datos obtenidos de cada una de las variables descritas se analizaron conforme el diseño empleado, y cuando se presentó diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) se realizó la comparación por la prueba de Tukey.<sup>13</sup>

No hubo interacción entre los factores estudiados (Cuadro 2). Las diferencias ( $P < 0.05$ ) se presentaron en el peso corporal y conversión alimenticia en favor de la presencia del antibiótico (avilamicina) en la dieta, como promotor de crecimiento; asimismo, con la adición de paredes celulares en el alimento se tuvieron mejores pesos corporales ( $P < 0.05$ ). Los resultados de las vellosidades intestinales (Cuadro 3) presentaron diferencias ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos. La utilización de paredes celulares aumentó la longitud y el número de las vellosidades intestinales ( $P < 0.05$ ); sin embargo, la edad del ave también fue determinante en las evaluaciones intestinales, ya que a mayor edad del ave, mayor amplitud, número y área de las vellosidades ( $P < 0.05$ ).

Desde hace muchos años se emplean antibióticos en la dieta por su efecto benéfico como promotores de crecimiento en la producción avícola;<sup>25</sup> sin embargo, la tendencia a prohibir este tipo de compuestos en las

Cuadro 2

EFFECTOS PRINCIPALES A LOS 21 DÍAS DE EDAD EN POLLOS DE ENGORDA  
ALIMENTADOS CON PAREDES CELULARES DEL *Saccharomyces cerevisiae*  
MAIN EFFECTS IN BROILERS FEED WITH *Saccharomyces cerevisiae*  
CELL WALLS AT 21 DAYS OF AGE

Factors	Body weight (g)	Food intake (g)	Food conversion (g/g)
Antibiotic			
Without	660 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	913 $\pm$ 20 <sup>a</sup>	1.47 $\pm$ .04 <sup>b</sup>
With	683 $\pm$ 18 <sup>a</sup>	906 $\pm$ 30 <sup>a</sup>	1.41 $\pm$ .03 <sup>a</sup>
Cell wall			
Without	662 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	903 $\pm$ 27 <sup>a</sup>	1.45 $\pm$ .05 <sup>a</sup>
With	681 $\pm$ 19 <sup>a</sup>	916 $\pm$ 22 <sup>a</sup>	1.43 $\pm$ .04 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Values with different letters are different ( $P < 0.05$ )

Cuadro 3

EFFECTO DE LA EDAD SOBRE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES DEL POLLO DE ENGORDA  
ALIMENTADO CON PAREDES CELULARES DEL *Saccharomyces cerevisiae*  
EFFECT OF AGE ON INTESTINAL VILLI IN BROILERS FEED WITH  
*Saccharomyces cerevisiae* CELL WALLS

Treatments	Without GPA and without ScCw	With GPA and without ScCw	Without GPA and with ScCw	With GPA and with ScCw	Mean
Length $\mu$					
10 days	2293 $\pm$ 336	2342 $\pm$ 108	2393 $\pm$ 136	2700 $\pm$ 328	2432 $\pm$ 288 <sup>a*</sup>
21 days	2220 $\pm$ 261	2381 $\pm$ 530	2711 $\pm$ 103	2542 $\pm$ 548	2463 $\pm$ 430 <sup>a</sup>
Mean	2256 $\pm$ 294 <sup>b*</sup>	2362 $\pm$ 371 <sup>ab</sup>	2552 $\pm$ 201 <sup>ab</sup>	2621 $\pm$ 446 <sup>a</sup>	
Width $\mu$					
10 days	248 $\pm$ 65	287 $\pm$ 22	262 $\pm$ 33	259 $\pm$ 53	264 $\pm$ 47 <sup>a*</sup>
21 days	307 $\pm$ 88	394 $\pm$ 134	470 $\pm$ 132	420 $\pm$ 145	398 $\pm$ 135 <sup>b</sup>
Mean	277 $\pm$ 81 <sup>a*</sup>	340 $\pm$ 108 <sup>a</sup>	366 $\pm$ 142 <sup>a</sup>	340 $\pm$ 134 <sup>a</sup>	
Number n					
10 days	43.3 $\pm$ 7 b <sup>**</sup>	43.4 $\pm$ 4 <sup>b</sup>	42.1 $\pm$ 4 <sup>ab</sup>	37.9 $\pm$ 2 <sup>c</sup>	41.7 $\pm$ 5
21 days	49.3 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	43.1 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	42.3 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	46.2 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	45.2 $\pm$ 3
Mean	46.3 $\pm$ 6	43.3 $\pm$ 3	42.2 $\pm$ 3	42.1 $\pm$ 4	
Area $\times 10^3 \mu^2$					
10 days	23.5 $\pm$ 3.2 <sup>b**</sup>	29.0 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>	26.4 $\pm$ 3.9 <sup>b</sup>	26.1 $\pm$ 3.4 <sup>b</sup>	26.2 $\pm$ 3.6
21 days	33.3 $\pm$ 8.5 <sup>b</sup>	38.9 $\pm$ 11.3 <sup>b</sup>	53.7 $\pm$ 14.3 <sup>a</sup>	51.9 $\pm$ 28.2 <sup>a</sup>	44.5 $\pm$ 17.7
Mean	28.4 $\pm$ 8.0	34.0 $\pm$ 9.3	40.0 $\pm$ 17.3	39.0 $\pm$ 23.6	

<sup>a,b</sup>. Values with different letters are different ( $P < 0.05$ )

<sup>\*\*a,b</sup>. Interaction ( $P < 0.05$ )

The age of the bird determines intestinal villi area, since width, number and area of the villi increase along with the age of the bird. This points out that as the bird develops, the possibilities of nutrient absorption also augment according to its needs. It is concluded that ScCw addition favors intestinal villi development, which partially explains the beneficial effect that these products have on broiler production.

## References

1. Cancho GB, García FMS, Simal GJ. El uso de antibióticos en la alimentación animal: perspectiva actual. *Cienc Tecnol Aliment* 2000; 3: 39-47.
2. Aguilar-Uscanga B, François JM. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Appl Microbiol* 2003; 37: 268-274.
3. Ngyuen TH, Fleet GH, Rogers PL. Composition of the cell walls of several yeast species. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998; 50:206-212.
4. Spring P, Wenk C, Dawson KA, Newman KE. The Effects of Dietary Mannanooligosaccharides on cecal

dietas de los animales obliga a buscar sustituciones inofensivas, como las paredes celulares del *Saccharomyces cerevisiae*, que a 500 g/t mejoran el peso corporal, como lo hizo la avilamicina a 10 ppm. Este efecto promotor de crecimiento de las paredes celulares en el pollo de engorda coincide con los pocos estudios de otros autores<sup>6,7</sup> y puede explicarse por otro hallazgo importante, la mayor longitud y número de las vellosidades intestinales, lo cual pudo haber propiciado mayor aprovechamiento de nutrimentos, al aumentar la absorción de ácidos grasos, aminoácidos y glucosa.<sup>14</sup> Se ha informado que una mejor salud intestinal conduce a un incremento de las vellosidades intestinales;<sup>15</sup> y se ha demostrado que los mananos y glucanos presentes en las paredes celulares, disminuyen las bacterias enteropatógenas que impiden aumentar el dominio de la flora bacteriana benéfica.<sup>16-18</sup>

La edad del ave determina el área de las vellosidades intestinales, ya que a mayor edad hubo incremento en la amplitud, número y área de las vellosidades, ello indica que a medida que el ave se desarrolla, se incrementan las posibilidades de absorción de nutrimentos



- parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of *Salmonella*-challenged broiler chicks. *Poult Sci* 2000;79:205-211.
5. Fernandez F, Hinton M, Van-Gils B. Evaluation of the effect of mannanoligosaccharides on the competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* colonization in broiler chicks. *Avian Pathol* 2000; 29:575-581.
  6. Arce MJ, Ávila GE, López CC, García EA, García GF. Efecto de paredes celulares (*Saccharomyces cerevisiae*) en el alimento de pollo de engorda sobre los parámetros productivos. *Téc Pecú Méx* 2005; 43:155-162.
  7. Hooge DM, Sims MD, Sefton AE, Connolly A, Spring PS. Effect of dietary mannan oligosaccharide, with or without bacitracin or virginiamycin, on live performance of broiler chickens at relatively high stocking density on new litter. *J Appl Poult Res* 2003; 12:461-467.
  8. Parks CW, Grimes JL, Ferket PR, Fairchild AS. The effect of mannanoligosaccharides, bambarmycins, and virginiamycin on performance of large white male market turkeys. *Poult Sci* 2001; 80:718-723.
  9. Lahnborg G, Hedstrom KG, Nord CE. The effect of glucan-a host resistance activator and ampicillin on experimental intrabdominal sepsis. *J Reticuloendothel Soc* 1982; 32:347-353.
  10. Kopecka M. Electron microscopic study of purified polysaccharide components, glucans and mannan of the cell walls in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Basic Microbiol* 1985;25:161-174.
  11. Iji PA, Tivey DR. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. *Worlds Poult Sci* 1998; 54:129-143.
  12. Cuca M G, Ávila E G, Pro A M. Alimentación de las de acuerdo con sus necesidades. Se concluye que la adición de PcSc favorece el desarrollo de las vellosidades intestinales, lo que explica, en parte, el efecto benéfico que poseen estos productos naturales en la producción del pollo de engorda.
- 
- Aves. 8ª ed. Edo. de México (México): Universidad Autónoma de Chapingo. Dirección de Patronato Universitario. Departamento de Zootecnia, 1996.
13. SAS.SAS User's Guide:Statistics, (version 6 ed.). Cary NC, USA:SAS Inst. Inc, 1995.
  14. Hoffmann G, Volver H. Anatomía y fisiología de las aves domésticas. Zaragoza (España): Ed. Acribia, 1969.
  15. Santin E, Maiorka A, Macari M, Greco M, Sánchez JC, Okada TM *et al.* Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *J Appl Poult Res* 2001;10:236-244.
  16. Santin E, Paulillo AC, Maiorka A, Nakaghi LSO, Macari M, Fischer da Silva AV *et al.* Evaluation of the efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Poult Sci* 2003; 2: 341-344.
  17. Oyoyo BA, DeLoach JR, Corrier DE, Norman JO, Ziprin RL, Mollenhauer HH. Prevention of *Salmonella typhimurium* colonization of broilers with D-mannose. *Poult Sci* 1989;68:1357-1360.
  18. Oyoyo BA, Droleskey RE, Norman JO, Mollenhauer HH, Ziprin RL, Corrier DE *et al.* Inhibition by mannose of *in vitro* colonization of chicken small intestine by *Salmonella typhimurium*. *Poult Sci* 1989;68:1351-1356.