**Ekologicky šetrná aditiva ve výživě brojlerových kuřat**

Zábranský, L.

**Úvod**

V oblasti výkrmu brojlerů je hlavním cílem dosažení požadované užitkovosti hejna, co se týče živé hmotnosti, konverze krmiva, uniformity a výtěžnosti masa. Krmivo je hlavní složkou celkových nákladů na výkrm brojlerů. Za účelem podpory optimální užitkovosti je nutné směsi pro brojlery sestavit tak, aby kuřata získala správně vyvážený poměr energie, proteinů a aminokyselin, minerálů, vitamínů a esenciálních mastných kyselin. V chovu drůbeže existuje přímý vztah mezi užitkovostí zvířat a „zdravým“ střevem. Neexistuje jasná definice, která by zahrnovala všechny fyziologické funkce střevního traktu, včetně trávení a vstřebávání živin, metabolismu hostitele a tvorby energie, stabilního mikrobiomu, tvorby hlenové vrstvy, bariérové funkce a slizniční imunitní reakce (Kogut, 2017). Hlavní funkcí střeva je regulace fyziologické homeostázy, která umožňuje hostiteli odolávat. Po celá desetiletí se běžně praktikuje terapeutické používání antibiotik v drůbežích farmách k regulaci rovnováhy ekosystému střeva a ke zvýšení růstu kuřat (Karavolias et al., 2018). Pro eliminaci primárního rizika nepříznivých účinků reziduí chemických léčiv, ale i sekundárního ve formě rezistence vůči antibiotikům je třeba najít řešení ve formě jiných vhodnějších aditiv (Yuan et al., 2019).

**Nutraceutika**

Nutraceutika jsou živiny nebo složky živočišné stravy, které mají nutriční a farmaceutický význam tím, že zabraňují různým onemocněním, mají imunomodulační potenciál a poskytují zdravotní benefity. Konečný výsledek se projeví v navýšení celkové produktivity chovu. Nutraceutika zahrnují řadu živin ze skupiny aminokyselin, minerálů, vitamínů, mastných kyselin, enzymů, prebiotik, probiotik, synbiotik, pigmentů. Do této skupiny patří i léčivé byliny a z nich připravené extrakty, antioxidanty, organické kyseliny, aromata aj. (Alagawany et al., 2020).

**Enzymy**

Enzymy jsou v současnosti běžně využívány v krmivech pro drůbež za účelem zvýšení stravitelnosti složek krmiva. K dispozici jsou enzymy v krmivech, které reagují s uhlovodíky, bílkovinami a minerály vázanými na rostliny. Exogenní enzymy byly navrženy jako alternativy antibiotických růstových stimulátorů. Mechanismus účinku spočívá v posunutí trávení do předního segmentu střeva, čímž dojde k „vyhladovění“ mikrobiomu zadního střeva, zejména hnilobné bakterie. Účinkem enzymů z původně inertních vlákninových komplexů dojde k přeměně na fermentovatelné oligosacharidy s benefitním efektem na pH prostředí. Enzymatickým štěpením se zlepší integrita střevního mucinu, zvýší se rezidence krmiva v žaludku. Výsledkem je snížení zánětlivých reakcí a posílí celková imunita střeva (Cowieson and Kluenter, 2019).

Zařazení fytázy do startéru i pokračovacích směsí (grower) v dávce až 2,000 a 3,000 FTU/kg se zvýšila stravitelnost živin, růstová performace ptáků a osifikace kostí (Walters et al., 2019). Hernandez et al. (2022) v experimentu s kuřaty použil chráněnou i nechráněnou fytázu v dávce 500 FTU a 1000 FTU. Konverze krmiva a přírůstky se zvýšily v porovnání s kontrolní skupinou. Z hlediska životního prostředí se zařazení fytázy projevilo také na snížení koncentrace fosforu ve výkalech zvířat.

Pro zvýšení stravitelnosti bílkovin a aminokyselin, zejména u mladých zvířat, je vhodná suplementace proteázami. Z nutričního hlediska je dále třeba zmínit, že použitím těchto enzymů se zmírní negativní účinky tepelně stabilních inhibitorů trypsinu nebo lektinů. Vhodné je kombinovat proteázy s amylázami a xylanázami (Pirgozliev et al., 2019). Do krmných směsí obsahujících fazole se osvědčil přídavek tanázy enzymu produkovaného některými vláknitými houbami rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* a *Trichoderma*. V pokusech s brojlery po analýze obsahu slepého střeva byl potvrzen stimulační účinek na rozvoj laktobacilů (Ebrahimzadeh et al., 2018).

Celkově můžeme pozitivní účinek enzymů shrnout do několika bodů. Narušením buněčných stěn obsahující antinutriční látky a rozložením komplexů je umožněno pronikání trávicích enzymů k substrátu. Snížení viskozity tráveniny znamená zvýšení dostupnosti dalších živin krmiva, jako jsou aminokyseliny, minerální prvky. Uvolněním neškrobových polysacharidů a jejich štěpením je zajištěn substrát pro benefitní mikroorganismy střeva, které fermentací vytváří těkavé mastné kyseliny. Snížením pH ve střevě se zhorší podmínky pro existenci patogenních mikroorganismů (Hameed, 2021).

**Fytogenické extrakty**

Fytogenní krmné přísady jsou definovány jako „sloučeniny rostlinného původu začleněné do krmiva pro zvířata za účelem zvýšení produktivity hospodářských zvířat zlepšením stravitelnosti, vstřebávání živin a odstraněním patogenů sídlících ve střevech zvířat“. Jedná se o rostliny nebo extrakty z nich získané (Madhupriya et al., 2018; Pirgozliev et al., 2019). Tato skupina zahrnuje řadu sloučenin, jejichž mechanismus účinku se liší. Fungují jako antioxidanty, mají antimikrobiální účinky, stimulují imunitní systém nebo se jedná o růstové stimulátory. Po chemické stránce se jedná hlavně o fenolické kyseliny (gallic, protocatechuic, rosmarinic, gentisic, salicylic, vanillic, syringic, ferulic, caffeic, sinapic, cinnamic) nebo flavonoidy (flavones, flavonols, catechin, quercetin) či terpeny (carnasol, carnosic acid). Množství a účinek je dán druhem rostliny, jejím stářím, způsobem extrakce (Mahfuz et al., 2021). Nejvýznamnější je antioxidační účinek spočívá ve schopnosti esenciálních olejů pohlcovat volné radikály vznikající často v důsledku tepelného či oxidačního stresu. Výsledkem je zlepšení fyziologické performace zvířat, zlepšení konverze krmiva a v neposlední řadě kvality masa.

Antikolické a laxativní účinky byly pozorovány u broilerů po podání 200mg/kg máty (Hameed, 2021).

Několik studií naznačilo, že tymián, skořice, černý pepř, zázvor, červený pepř a oregano v různých koncentracích měl pozitivní vliv na trávení a absorpci živin a na zlepšení morfologie gastrointestinální traktu brojlerů (Salem et al., 2017). Potvrzen byl i pozitivní vliv na příznivý vliv na výkonnost, stravitelnost, imunitu a výtěžnost masa brojlerů použitím dalších fytogenů jako je fermentovaná zrna borovice a jehlice (*Pinus densiflora*), mouky z Pažitky čínské (*Allium tuberosum*), oleje z Kmínu římského (*Cuminum cyminum L*.) nebo olej z čajovníku Kajeputu střídavolistého (*Melaleuca alternifolia*) (Abdelli et al., 2021; Wang et al., 2021).

Řada rostlin a esenciálních olejů mají antiparazitické vlastnosti. Například semena česneku (*Allium sativum*), cibule (*Allium cepa*) a máta (*Mentha spp.*) se ukázaly jako účinné proti gastrointestinálnímu parazitismu. Z hlediska zdravého gastrointestinálního traktu je důležité vybalancovat vztah mezi prospěšnou mikroflórou a patogeny. Velké množství látek obsažených v esenciálních olejích mají antimikrobiální účinky. Inhibiční účinky byly potvrzeny u patogenů jako *S. typhimurium, Salmonella enterica, E. colli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Klebsiella pneumonia* (Abd El-Hack et al., 2022).

Kromě imunomodulačních, antioxidačních a antimikrobiálních účinků mají některé fytogeny i funkci senzorickou. Zlepšením barvy, chutnosti dělají krmivo pro drůbež atraktivnější a přispívají nepřímo ke zlepšení produkce. Příkladem jsou karotenoidy, jejichž zdrojem jsou mrkev, řasa Chlorella a měsíček (Madhupriya et al., 2018).

**Probiotikum**

Probiotikum je definováno jako živý mikrobiální doplněk krmiva, který příznivě ovlivňuje hostitelské zvíře zlepšením jeho střevní mikrobiální rovnováhy. Obecně je zavedení pojmu připisováno laureátovi Nobelovy ceny Élie Metchnikoffovi (Pirgozliev et al., 2019). Probiotika působí především v tenkém střevě. Jde o jediný kmen nebo kombinaci několika kmenů bakterií, či kvasinek. Přípravky povolené pro použití ve výživě zvířat v Evropské unii zahrnují různé kmeny *Enterococcus, Bacillus, Lactobacillus, Pediococcus* nebo *Saccharomyces*. Jednou z dobrých vlastností probiotik je, že snesou manipulaci a skladování, jsou odolné vůči žaludeční kyselosti, mají schopnost přilnout ke střevnímu epitelu a modulovat imunitní systém. Používané dávky probiotik 250 až 750 mg/kg diety pozitivně ovlivňuje střevní prostředí, zvyšuje plochu klků, zvyšuje produkci IgA. Z krevních parametrů se zvyšuje obsah červených krvinek a hemoglobínu (Hameed, 2021). Kvasinky jako krmný doplněk je možné přidávat do krmiv v dávce 5,0-10,0 g/kg krmiva. Řada prací potvrzuje pozitivní účinky kvasinek zařazených do krmné dávky pro drůbež na růst, kvalitu masa. Aplikací kvasinek jako výživového doplňku došlo k významnému zlepšení v přírůstku tělesné hmotnosti (3 až 8 %) a FCR (1,6 až 12 %) u brojlerů v reakci na suplementaci aditiva. Po stránce fyziologické došlo k úpravě krevních parametrů. Zlepšila se hladina hemoglobinu (Hb g/dl) až o 2,59 až 6,62 %, a zároveň snížila hladinu cholesterolu v séru (mg/dl) až o 3,68 až 13,38 % (Bilal et al., 2020).

**Obrázek 1: Jak fungují probiotika?**



*Zdroj: lks-casopis.cz*

1. ***Lactobacillus***

Název rodu *Lactobacillus* pochází od laktátu, který produkují fermentací glukózy a laktózy. Nejčastěji používané probiotické bakterie patří do rodu *Lactobacillus*, které jsou považovány za prospěšné pro zdraví a produkci drůbeže. Komerční probiotické přípravky obsahující laktobacily, ne vždy zajistí tyto očekávané účinky, které mimo jiné mohou být ovlivněny i nevhodným procesem selekce izolátů *Lactobacillus* (Merino et al., 2019). V průběhu evoluce byly bakterie mléčného kvašení hojnými kolonizátory sliznice tenkého střeva, společně se vyskytující ve vztazích s hostitelem. Někteří členové této skupiny vykazují další probiotické vlastnosti, které hostiteli poskytují zdravotní výhody prostřednictvím regulace imunitního systému a dalších fyziologických funkcí. Kmen *Lactobacillus*, se řadí mezi četné mikroorganismy, bylo popsáno, že vykazuje kladné vlastnosti, zahrnující jak antibakteriální účinky na možné patogenní kmeny a imunomodulační účinky korelující s redukcí při infekcích a také zlepšené hojení (Okamoto et al., 2018).

1. ***Bifidobacterium***

*Bifidobacterium* je po *Lactobacillus*, druhé nejčastěji používané probiotikum, izolované z lidského a zvířecího střevního traktu. Použití probiotických přípravků obsahujících tyto bakterie v systémech průmyslové výroby krmiv se stále více rozšiřuje v souladu s požadavky spotřebitelů (Raurich et al., 2019).

1. ***Bacillus***

Tento kmen podporuje obnovu mikroflóry, prevenci a korekci dysbakteriózy a snížení úrovně endogenní intoxikace. Práškové probiotikum na bázi tohoto kmene je velmi účinné a používá se k prevenci bakteriálních onemocnění v gastrointestinálním traktu. Účinek přípravku je podpořen působením těchto bakterií s cílem potlačit výskyt patogenní a podmíněně patogenní střevní mikroflóry, a tím vytvořit příznivé podmínky růstu pro zdravé populace střevní mikroflóry. Integrace probiotických bakterií do doplňkových krmiv stimuluje odolnost tělesného systému vůči virovým a bakteriálním infekcím. *Bacillus cereus*, měly příznivý vliv na strukturu epitelu, morfologii krypt a celkový počet slizničních buněk, včetně buněk vylučujících kyselé a neutrální mukopolysacharidy. Protože však všechny kmeny *Bacillus* nemají stejné probiotické kompetence, je výběr vhodných kmenů *Bacillus* nezbytný pro účinnost probiotických doplňků ve výživě zvířat (Ramlucken et al., 2020).

***d) Streptococcus***

Z rodu *Streptococcus* je jako prospěšný mikroorganismus nejčastěji využíván druh *Streptococcus* *thermophilus* (Miranda et al., 2018). V současné době existuje jen málo studií, které by se tímto kmenem ve výživě brojlerových kuřat zabývaly.

1. ***Pediococcus***

Nejčastěji využívaným kmenem je *Pediococcus pentosaceus*, které by mohl být zahrnut do vícedruhových probiotik, která podporují příznivé účinky kultur jednotlivých kmenů, stejně jako symbiotické reakce. Bakterie rodu *Pediococcus* jsou prezentovány ve tvaru koků (tetrad) a jsou anaerobní, grampozitivní, nesporulované a fakultativní. Dle některých studií jsou *Pediococcus pentosaceus* a *Pediococcus acidilactici,* hlavními druhy používanými v krmných aditivech pro zvířata (Porto et al. 2017).

1. ***Enterococcus***

Kmeny *Enterococcus* se řadí mezi hojné mikroorganismy a bylo zjištěno, že vykazuje příznivé vlastnosti zahrnující jak antibakteriální účinky na možné patogenní kmeny a imunomodulační účinky korelující s redukcí při infekcích, a také zlepšené hojení, tedy má skoro stejné účinky jako *Lactobacillus* (Claudia et al., 2020). Olsen et al. (2022) hodnotili účinky přidání probiotického kmene *Enterococcus faecium* do krmiva brojlerových kuřat, s cílem kontroly kontaminace Salmonelou. Výsledky ukázaly, že použití probiotického kmene v krmivu bylo účinné, na snižování a kontrolu počtu bakterie Salmonely. Navíc se ukázalo, že je to alternativa k nahrazení používání antibiotik pro kontrolu patogenů. Enterokoky byly dlouho přítomny v mnoha fermentovaných produktech, ale jejich aplikace jako probiotika, je stále diskutována, kvůli rodu obsahujícímu druhy a kmeny, které se etiologicky podílejí na onemocněních.

**Prebiotika**

Prebiotika jsou nestravitelné složky krmiva, které příznivě ovlivňují hostitele selektivní stimulací růstu nebo aktivity jednoho nebo několika kmenů bakterií v tlustém střevě. Do této skupiny se zahrnují frukto-oligosacharidy, xylo-oligosacharidy, mannan-oligosacharidy a galakto-oligosacharidy (Hameed, 2021). Mechanizmus účinku zahrnuje blokování receptorové části střeva pro bakteriální adhezi, modulaci imunity, produkci antibakteriálních sloučeniny, zvýšenou exsudaci do lumenu tenkého střeva a změnu morfologie střevní struktury. Efektivnost probiotik spočívá hlavně v tvorbě bariéry proti patogenům, jako jsou *Campylobacter*, *Salmonella* a produkci těkavých mastných kyselin k úpravě pH prostředí (Kim et al., 2019). Mananooligosacharidy mají účinek antigenu, takže jsou schopni ve střevě zvyšovat imunitní odpověď (Teng and Tang, 2018). Zdravé bakterie ve střevě mají schopnost nejen prebiotika fermentovat na kyselinu mléčnou a další kyseliny, ale také produkují bakteriociny, bakteriální látky přímo působící na patogeny. Produkce těchto látek je prospěšná nejen pro potlačení nežádoucí mikroflóry přítomné ve střevě, ale také pro zlepšení integrace epiteliálních buněk střevní mukózy. Zvýší se asimilace natrávených živin, což v důsledku znamená zlepšení produkčních vlastností ptáků (Ben et al., 2017). Pro farmový chov je třeba řešit také teplotní stres ptáků. I z tohoto pohledu byl sledován účinek prebiotik na zdravotní stav brojlerů. Důkazy ze stávajících studií naznačují, že prebiotika mohou zmírňovat negativní účinky tepelného stresu na brojlery tím, že prospívají střevní mikrobiotě, morfologii střev, oxidačnímu stavu, fyziologické reakci na stres a následně růstové výkonnosti brojlerových kuřat. Například bylo prokázáno, že prebiotika podávaná tepelně stresovaným brojlerům v dávce 0,025 % zlepšují příjem krmiva, přírůstek tělesné hmotnosti a účinnost krmiva o 7,5, 9,9 a 2,3 % (Awad et al., 2021).

Řada studií potvrzuje, že přídavek oligosacharidů v dávkách od 0,5 do 0,8 % do krmiva drůbeže mění mikrobiální obsah slepého střeva. Zvyšuje se počet anaerobních bakterií (*Lactobacillus* a *Bifidobacterium*) a snižuje množství *Salmonella, E. coli* a *Clostridium perfringens* (Hameed, 2021).

**Huminové kyseliny**

Huminové kyseliny jsou makromolekulární látky vzniklé rozkladem organické hmoty, jsou nerozpustné v silných kyselinách, ve vodných roztocích s pH > 2. Jsou růstovým promotorem ve výživě brojlerů. Zlepšují konverzi krmiva, zvyšují přírůstky. Huminové látky působí v oblasti střeva. Zásahem do syntézy proteinů a sacharidů potlačují patogenní organismy *Enterobacter cloacac*, *Candida, albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Strpyogenes, Staphylococcus epidermidis*. Úpravou pH prostředí jsou vytvořeny optimální podmínky pro rozvoj žádoucí střevní mikroflóry, čímž se zlepšuje utilizace živin. Huminové kyseliny chrání sliznice žaludku a střeva, vzniká zde ochranný film, který zabraňuje průchodu toxinů do těla. Koncentrace 0,1-0,4 % snižují riziko působení aflatoxinů a jejich reziduí v játrech (Arif et el., 2019). Studie (Elnaggar and El-Kelawy, 2018) potvrzuje pozitivní výsledek suplementace huminových kyselin v množství 0.1 až 0.4 % na stravitelnost krmiva, růst broilerů a kvalitativní ukazatele masa. Množství sledovaných patogenů se snížilo v porovnání s kontrolní skupinou. Narostla i ekonomická účinnost a produkční index. Maguey-González et al. (2022) testoval účinek huminových kyselin metodou *in vitro*. Jako zdroj huminových kyselin byl použit wormcompost. Obsah mikroorganismu *Salmonella Enteritidis* se po přídavku aditiva snížil, na obsah *Clostridium perfringens* a *Bacillus subtilis* neměl přídavek huminových kyselin vliv.

***In ovo* aditivní látky**

V poslední době je výzkum zaměřen na výživu ještě nevylíhnutých kuřat. Cílem je nastartovat optimální vývin kuřete za použití aditivních látek jako zdroje doplňkové energie či posilovače zdravotního stavu jedince.

Okno líhnutí je definováno jako čas, který trvá vylíhnutí kuřat v ideálním inkubačním prostředí, nebo jako čas, který uplyne od vylíhnutí prvního kuřátka do doby, kdy jsou kuřata vyjmuta z líhně. Běžně toto období trvá 36 až 48 hodin (Abousaad et al., 2017). Po vylíhnutí následuje přeprava a naskladnění do hal k výkrmu. Vzhledem k délce období výkrmu je tato doba, kdy kuře nemá možnost příjmu potravy a vody, relativně dlouhá. Hladovění a stres nepříznivě ovlivňuje nejen vývoj svaloviny, ale také celkový zdravotní stav kuřat. Pro posílení imunity a pro podporu embryonálního vývoje je možno aplikovat řadu látek přímo do vajíčka s embryem. Vhodné jsou aminokyseliny jako L-arginin, L-lysin, L-histidin, vitamin C a E, stopové prvky nebo oligodeoxynukleotidy. Sacharidy lze použít ke zvýšení zásob tkáňového glykogenu a kreatin k podpoře růstu svalů (Peebles, 2018).

Jedním z ukazatelů úspěchu drůbežářského průmyslu je produkce kuřat, která zvládají různé podmínky prostředí, jako je tepelný stres nebo oxidativní stres. Kritickou roli při syntéze proteinů a jejich ochraně před oběma hrozbami mají aminokyseliny methionin a cystein. Podle studie Elnesr et al. (2019) *in ovo* injekce sirných aminokyselin v období mezi 10 a18 dnem inkubace přispívá k ochraně tkání nových kuřat před oxidativním poškození a mohou připravit kuřata na specifické environmentální výzvy po vylíhnutí. Posílit odolnost zvířat proti oxidativnímu stresu je možné přídavkem askorbové kyseliny. Injekce v dávce 3 mg / vejce zvyšuje antioxidativní obranu kuřat po vylíhnutí (El-Senousey, et al., 2018). Podle studie Zhang et al. (2019) *in ovo* injekce kyseliny askorbové (3 až 12 mg na vejce) mají trvalé pozitivní účinky na růst po vylíhnutí, vývoj svalů nohou a systémovou antioxidační kapacitu brojlerů. Vyšší injekční dávky kyseliny askorbové (36 mg na vejce) mohou mít také potenciál zlepšit kvalitu masa brojlerů. Z hlediska účinků je důležité vysledovat optimální den aplikace aditiva *in ovo*. Pont et al. (2019) aplikoval glycerol do vajec v 17. a 18. dni inkubace. Glycerolová inokulace v 18. dni zvýšila ukládání glykogenu v játrech, zlepšila užitkovost brojlerů v 7 dnech. Ptáci vykazovali vyšší příjem krmiva a přírůstek tělesné hmotnosti ve srovnání s kontrolní skupinou. Yang et al. (2021) aplikoval metodou *in vivo* polysacharidy z Kozince blanitého, z byliny používané v Číně jako přírodní prostředek pro posílení imunity. Analýza množství IgA+ buněk v mukóze střeva a hladina sérového imunoglobulínu A potvrzuje potenciál zkoumaného aditiva jako podpory střevního vývoje a posílení střevní slizniční imunity brojlerových kuřat v rané fázi po vylíhnutí. Z hlediska výživy je důležitý kontrolovaný obsah minerálních látek, jako je například selen. Selen je pro drůbež esenciální prvek a dávka 20-30 ug do oplodněného vejce prokazatelně zlepšila růst a produkci kuřat (Kwassi et al., 2021).

Citace:

Abd, El-Hack, M. E. et al. (2022). Essential oils and their nanoemulsions as green alternatives to antibiotics in poultry nutrition: a comprehensive review. *Poult. Sci*., 101, 101584.

Abdelli, N. et al. (2021). Phytogenic Feed Additives in Poultry: Achievements, Prospective and Challenges. *Animals*, 11(12): 3471.

Abousaad, K. et al. (2017). Effect of in ovo feeding of dextrin-iodinated casein in broilers: II. Hatch window and growth performance. *Poultry Science*, 96(5): 1478-1484.

Alagawany, M. et al. (2020). Nutritional significance of amino acids, vitamins and minerals as nutraceuticals in poultry production and health - a comprehensive review. *Vet Q.,* 41(1): 1-29.

Arif, M. et al. (2019). Humic acid as a feed additive in poultry diets: A review. *Iranian Journal of Veterinarian Research*, 20: 167-172.

Awad, E. A. (2021). Prebiotics supplementation: an effective approach to mitigate the detrimental effects of heat stress in broiler chickens, *World's Poultry Science Journal*, 77(1): 135-151.

Ben, L. A. et al. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins in poultry and swine production. *Vet Res* 48: 22.

Bilal, R. M. et al. (2021). Prospects of yeast based feed additives in poultry nutrition: Potential effects and applications. *Indian J Anim Sci*., 90: 495-505.

Claudia, D. et al. (2020). In ovo inoculation of an Enterococcus faecium–based product to enhance broiler hatchability, live performance, and intestinal morphology. *Poultry Science*, 99(11): 6163-6172.

Cowieson, A. J and Kluenter, A. M. (2019). Contribution of exogenous enzymes to potentiate the removal of antibiotic growth promoters in poultry production. *Animal Feed Science and Technology*, 250: 81-92.

Dal Pont, G. C. et al. (2019). Glycerol inoculation in eggs of young broiler breeders at different embryonic periods. *Poultry Science*, 98(9): 3989-3993.

Ebrahimzadeh, S. K. et al. (2018). Eﬀects of exogenous tannase enzyme on growth performance,antioxidant status, immune response, gut morphology and intestinalmicroﬂora of chicks fed grape pomace. *S. Afr. J. Anim. Sci*., 48(3): 2-18.

Elnaggar, A. and El-Kelawy, M. (2018). Effect of humic acid supplementation on productive performance, blood constituents, immune response and carcass characteristics of sasso chicken. *Egyptian Journal of Animal Production*, 55(1): 75-84.

Elnesr, S. S. et al. (2019). Effects of in ovo injection of sulfur-containing amino acids on heat shock protein 70, corticosterone hormone, antioxidant indices, and lipid profile of newly hatched broiler chicks exposed to heat stress during incubation. *Poult Sci*., 98(5): 2290-2298.

El-Senousey, H. K. et al. (2018). In ovo injection of ascorbic acid modulates antioxidant defense system and immune gene expression in newly hatched local Chinese yellow broiler chicks. *Poult Sci*., 97(2): 425-429.

Hameed, H. (2021). Feed additives in poultry. Assiut. *Vet. Med. J.,* 67(168): 87-100.

Madhupriya, V. et al. (2018). Phyto feed additives in poultry nutrition – A review. *International Journal of Science and Technology*, 7(3): 815-822.

Hernandez, J. R. et al. (2022). Effect of Phytase Level and Form on Broiler Performance, Tibia Characteristics, and Residual Fecal Phytate Phosphorus in Broilers from 1 to 21 Days of Age. *Animals*, 12, 1952.

Karavolias, J. et al. (2018). Raised without antibiotics: impact on animal welfare and implications for food policy. *Transl Anim Sci.,* 2(4): 337-348.

Kechagia, M. et al. (2013). Health benefit of probiotics: a review. *ISRN Nutrition*, 481651.

Kim, S. A. et al. (2019). Potential for prebiotics as feed additives to limit foodborne Campylobacter establishment in the poultry gastrointestinal tract Front. *Microbiol*., 10: 91.

Kogut, M. (2017). Gut health in poultry. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, *Veterinary Science*, Nutrition and Natural Resources.

Kwassi, T. et al. (2021). Effect of in ovo Injection of Selenium in Isa Brown Fertile Eggs on Hatching Process, Chicks Quality and Post Hatch Growth. *International Journal of Poultry Science*, 20: 152-157.

Maguey-González, J. A. et al. (2022). Effects of humic acids on the recovery of different bacterial strains in an in vitro chicken digestive model, *Research in Veterinary Science*, 145: 21-28.

Mahfuz, S. et al. (2021). Phenolic compounds as natural feed additives in poultry and swine diets: a review. *J Animal Sci Biotechnol* 12, 48.

Merino, L. et al. (2019). Lactobacillus strains inhibit biofilm formation of Salmonella sp. isolates from poultry. *Food Research International*, 123: 258-265.

Miranda-Yuquilema, J. E. et al. (2018). The bioproductive behavior of breeding sows and their offspring fed with probiotic additive. *Rev Ciencias Agrícolas*, 69-81.

Okamoto, A. S. et al. (2018). Bacterial communication between Lactobacillus spp. isolated from poultry in the inhibition of Salmonella Heidelberg—proof of concept. *Poultry Science*, 97(8): 2708-2712.

Olsen, M. et al. (2022). Research Note: The effect of a probiotic E. faecium 669 mitigating Salmonella Enteritidis colonization of broiler chickens by improved gut integrity. Poultry Science, 10(10): 102029.

Peebles, E. D. (2018). In ovo applications in poultry: A review. *Poultry Science*, 97(7): 2322-2338.

Pirgozliev V. et al. 2019). Feed additives in poultry nutrition. *Bulg JAgric Sci*., 25: 8-11.

Porto, M. C. W. et al. (2017). “Pediococcus spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers”. *Biotechnology Advances*, 35(3): 361-374, ISSN: 0734-9750.

Raurich, S. et al. (2019) Optimisation of a droplet digital PCR for strain specific quantification of a probiotic Bifidobacterium animalis strain in poultry feed. *Journal of Microbiological Methods*, 163: 105646.

Ramlucken, U. et al. (2020). Advantages of Bacillus-based probiotics in poultry production. *Livestock Science*, 241: 104215.

Salem, W. M. et al. (2017). Alterations in virulence and antibiotic resistant genes of multidrug-resistant Salmonella serovars isolated from poultry: The bactericidal efficacy of Allium sativum. Microbial Pathogenesis, 108: 91-100.

Teng, K. P. L. et al. (2018). Review: roles of prebiotics in intestinal ecosystem of broilers. *Front.Vet Sci*., 5: 245.

Walters, H. G. et al. (2019). Effects of Increasing Phytase Inclusion Levels on Broiler Performance, Nutrient Digestibility, and Bone Mineralization in Low-Phosphorus Diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(4): 1210-1225.

Wang, J. et al. (2021). Effect of a Phytogenic Feed Additive on Growth Performance, Nutrient Digestion, and Immune Response in Broiler-Fed Diets with Two Different Levels of Crude Protein. *Animals*, 11, 775.

Yang, S. et al. (2021). Effects of in ovo Injection of Astragalus Polysaccharide on the Intestinal Development and Mucosal Immunity in Broiler Chickens. *Front. Vet. Sci*., 8: 738816.

Yuan, L. et al. (2019). Antibiotic adjuvants: an alternative approach to overcome multi-drug resistant Gram-negative bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 45(3): 301-314.

Zhang, H. et a. (2019). Effects of in ovo injection of L-ascorbic acid on growth performance, carcass composition, plasma antioxidant capacity, and meat quality in broiler chickens1,2,3. *Poult Sci*., 98(9): 3617-3625.