

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
ESCUELA DE POSGRADO
DOCTORADO EN NUTRICIÓN**



**“META-ANÁLISIS DE ESTUDIOS EN HISTOMORFOMETRÍA
INTESTINAL, ENERGÍA METABOLIZABLE Y
COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO EN
POLLOS DE CARNE”**

Presentada por:

DIEGO ANDRÉS MARTÍNEZ PATIÑO-PATRONI

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR
DOCTORIS PHILOSOPHIAE EN NUTRICIÓN**

Lima - Perú

2021

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
DOCTORADO EN NUTRICIÓN**

**“META-ANÁLISIS DE ESTUDIOS EN HISTOMORFOMETRÍA
INTESTINAL, ENERGÍA METABOLIZABLE Y
COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO EN POLLOS DE CARNE”**

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR
Doctoris Philosophiae

Presentada por:
DIEGO ANDRÉS MARTÍNEZ PATIÑO-PATRONI

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra. María Elena Villanueva Espinoza
PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Vilchez Perales
ASESOR

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco
MIEMBRO

Ph.D. Gustavo Gutiérrez Reynoso
MIEMBRO

Ph.D. César Miguel Gavidia Chucán
MIEMBRO EXTERNO

Dedicatoria

A Dios, por tantas e inmerecidas bendiciones y gracias recibidas, por su amor y paciencia, por el milagro de la vida de Emilia e Irena, y sobre todo por Carol Ponce de León –mi bella esposa–, cuyo ejemplo, esfuerzo, sacrificio y paciencia constantes hicieron posibles mis estudios doctorales, este trabajo de tesis y mi actual labor profesional. A la Santísima Virgen María, por siempre escucharnos e interceder por todo esto.

“¿Cómo te atreves a emplear ese chispazo del entendimiento divino,
que es tu razón, en otra cosa que no sea dar gloria a tu Señor?”

“Pon un motivo sobrenatural a tu ordinaria labor profesional,
y habrás santificado el trabajo.”

“Si has de servir a Dios con tu inteligencia,
para ti estudiar es una obligación grave.”

Camino, San Josemaría Escrivá.

Agradecimientos

A Dios y a María por poner los medios para concluir este trabajo y a todas las personas que desde aquí y desde allá han orado e intercedido por ello.

Al Dr. Carlos Vílchez, mi asesor, por su confianza, ejemplo, guía y apoyo constante durante estos años.

A los miembros de mi comité de tesis: Dra. Maria Elena Villanueva, Dr. Víctor Guevara, Dr. Gustavo Gutiérrez y Dr. César Gavidia, por sus consejos y entusiasmo.

A Carol Ponce de León, MBA, por su participación activa en este trabajo y por el incontable número de horas generosamente destinadas a lograrlo.

A las muchas personas que generosamente aportaron ideas, cuestionamientos, retroalimentación y escepticismo.

A la Asociación de Ciencia Avícola (*Poultry Science Association*, Estados Unidos de América) por haber otorgado el Diploma de Excelencia tras presentar la tercera evaluación de esta tesis y ganar la competencia internacional de estudiantes en la categoría Nutrición (reunión anual 2019; Montreal, Canadá).

A los profesores de mi querida Facultad de Zootecnia por sus consejos.

A mis compañeros de estudio por su amistad y apoyo.

A mi familia por su apoyo y cariño.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA:	5
2.1	Histología intestinal y potencial de absorción de nutrientes	5
2.2	Uso de aditivos fitogénicos conteniendo carvacrol en nutrición avícola	6
2.3	Fitasas en nutrición de aves	8
2.3.1	Fitato	8
2.3.2	Fitasas	10
2.4	Meta-análisis	11
2.4.1	Generalidades	11
2.4.2	Tamaño del efecto	12
2.4.3	Sesgo de publicación	12
2.4.4	Heterogeneidad	13
2.4.5	Meta-regresión	16
2.4.6	Antecedentes en nutrición avícola	18
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1	EVALUACIÓN N° 1: META-ANÁLISIS DEL USO DE UN ADITIVO FITOGÉNICO AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDE	19
3.1.1	Origen de la data	19
3.1.2	Experimentos	19
3.1.3	Análisis de datos	21
3.1.3.1	Análisis independientes por experimento	21
3.1.3.2	Meta-análisis	22
3.1.3.3	Programas y recursos informáticos empleados	24
3.2	EVALUACIÓN N° 2: META-ANÁLISIS DE ESTUDIOS SOBRE EL USO DE FITASAS E HISTOMORFOMETRÍA INTESTINAL EN POLLOS DE ENGORDE	24

3.2.1	Meta-análisis realizados	24
3.2.2	Origen y organización de la data	26
3.2.3	Análisis de la data	27
3.2.3.1	Determinación de los tamaños de los efectos globales	27
3.2.3.2	Evaluación de variables moderadoras	29
3.2.4	Programas y recursos informáticos empleados	31
3.3	EVALUACIÓN N° 3: RELACIONES CUANTITATIVAS ENTRE HISTOLOGÍA INTESTINAL, ENERGÍA METABOLIZABLE APARENTE Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDE	31
3.3.1	Estrategia general	31
3.3.2	Origen y organización de la data	31
3.3.3	Proceso de análisis de la data	33
3.3.3.1	Comprobación de la validez de la data mediante meta-análisis	33
3.3.3.2	Análisis general mediante meta-regresión	37
3.3.4	Programas y recursos informáticos empleados	40
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1	EVALUACIÓN N° 1: META-ANÁLISIS DEL USO DE UN ADITIVO FITOGÉNICO AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDE	41
4.2	EVALUACIÓN N° 2: META-ANÁLISIS DE ESTUDIOS SOBRE EL USO DE FITASAS E HISTOMORFOMETRÍA INTESTINAL EN POLLOS DE ENGORDE	50
4.2.1	Data empleada y características generales	50
4.2.2	Efecto de la reducción de fósforo	51
4.2.3	Efecto del uso de fitasas <i>matrizadas</i>	54
4.2.4	Efecto del uso de fitasas <i>on top</i>	55
4.2.5	Implicancias	56

4.3	EVALUACIÓN N° 3: RELACIONES CUANTITATIVAS ENTRE HISTOLOGÍA INTESTINAL, ENERGÍA METABOLIZABLE APARENTE Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDE	57
4.3.1	Estrategia general y data recopilada	57
4.3.2	Comprobación de la validez de la data mediante meta-análisis	58
4.3.3	Análisis general mediante meta-regresión	64
4.3.3.1	Ajuste de modelos mixtos simples	64
4.3.3.2	Ajuste de modelos mixtos múltiples	66
4.4	DISCUSIÓN GENERAL	81
V.	CONCLUSIONES	86
VI.	RECOMENDACIONES	88
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
VIII.	ANEXOS	124

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Características de nueve experimentos realizados para determinar el efecto de un aditivo fitogénico sobre el comportamiento productivo de pollos de engorde	20
Cuadro 2.	Meta-análisis realizados para estudiar el efecto de las fitasas sobre las características histológicas del intestino de pollos	25
Cuadro 3.	Estrategias empleadas para determinar las relaciones entre histología intestinal, energía metabolizable aparente y comportamiento productivo de pollos de engorde	34
Cuadro 4.	VARIABLES empleadas para determinar las relaciones entre histología intestinal, energía metabolizable aparente y comportamiento productivo de pollos de engorde	35
Cuadro 5.	Comportamiento productivo de pollos de 42 días de edad alimentados con un aditivo fitogénico en nueve experimentos	42
Cuadro 6.	Meta-análisis del comportamiento productivo de pollos de engorde alimentados con un aditivo fitogénico	43
Cuadro 7.	Tamaños de los efectos globales del uso de fitasas sobre las características histológicas del intestino de pollos de engorde	52
Cuadro 8.	VARIABLES moderadoras de los efectos del uso de fitasas sobre las características histológicas del intestino de pollos	53
Cuadro 9.	Validez de la data usada para establecer relaciones entre histología intestinal, energía metabolizable y productividad en pollos de engorde	63
Cuadro 10.	VARIABLES moderadoras de los efectos en la energía metabolizable aparente, ganancia de peso corporal y conversión alimentaria de pollos	65
Cuadro 11.	Modelos que describen las relaciones entre histología intestinal, energía metabolizable y comportamiento productivo de pollos de engorde	76
Cuadro 12.	Estrategia empleada para el diseño general del estudio y su justificación	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el peso corporal de pollos de engorde de 42 días de edad	44
Figura 2.	Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el peso corporal de pollos de engorde de 42 días de edad	44
Figura 3.	Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el consumo de alimento de pollos de engorde de 42 días de edad	45
Figura 4.	Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el consumo de alimento de pollos de engorde de 42 días de edad	45
Figura 5.	Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre la conversión alimentaria de pollos de 42 días de edad	46
Figura 6.	Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre la conversión alimentaria de pollos de 42 días de edad	46
Figura 7.	Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre la mortalidad de pollos de engorde de 42 días de edad	47
Figura 8.	Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre la mortalidad de pollos de engorde de 42 días de edad	47
Figura 9.	Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el índice de eficiencia productiva de pollos de 42 días de edad	48
Figura 10.	Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el índice de eficiencia productiva de pollos de 42 días de edad	48

Figura 11.	Tamaños de los efectos en la energía metabolizable aparente	59
Figura 12.	Tamaños de los efectos en la ganancia de peso corporal	60
Figura 13.	Tamaños de los efectos en la conversión alimentaria	61
Figura 14.	Diagramas de embudo de los tamaños de los efectos en el valor observado de la energía metabolizable aparente del alimento, en la ganancia de peso y en la conversión alimentaria	62
Figura 15.	Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la altura de las vellosidades en el duodeno	67
Figura 16.	Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la altura de las vellosidades en el íleon	67
Figura 17.	Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la altura promedio de las vellosidades intestinales	68
Figura 18.	Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta en el duodeno	68
Figura 19.	Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta en el íleon	69
Figura 20.	Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta en el intestino	69
Figura 21.	Efecto en la ganancia de peso corporal en función al cambio en el valor observado de energía metabolizable aparente	70
Figura 22.	Efecto en la ganancia de peso corporal en función al cambio en la profundidad de las criptas del yeyuno	70
Figura 23.	Efecto en la ganancia de peso corporal en función al cambio en la relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta en el íleon	71
Figura 24.	Efecto en la ganancia de peso en función al cambio en la relación promedio entre la altura de vellosidad y profundidad de cripta en el intestino	71

Figura 25.	Efecto en la conversión alimentaria en función al cambio en la ganancia de peso corporal	72
Figura 26.	Efecto en la conversión alimentaria en función al cambio en el valor observado de energía metabolizable aparente	72
Figura 27.	Efecto en la conversión alimentaria en función al cambio en la altura de las vellosidades intestinales del duodeno	73
Figura 28.	Matriz de correlaciones entre las variables empleadas para determinar las relaciones entre histología intestinal, absorción de nutrientes y comportamiento productivo de pollos de engorde	74

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Efecto de un aditivo fitogénico sobre el peso corporal, consumo de alimento y conversión alimentaria de pollos de engorde	124
Anexo 2.	Efecto de un aditivo fitogénico sobre la mortalidad e índice de eficiencia productiva de pollos de engorde	125
Anexo 3.	Resumen de estadísticas de las variables empleadas en las meta-regresiones del efecto de la reducción de fósforo sobre la histología intestinal (Evaluación N° 2)	126
Anexo 4.	Resumen de estadísticas de las variables empleadas en las meta-regresiones del efecto de las fitasas <i>matrizadas</i> sobre la histología intestinal (Evaluación N° 2)	127
Anexo 5.	Resumen de estadísticas de las variables empleadas en las meta-regresiones del efecto de las fitasas <i>on top</i> sobre la histología intestinal (Evaluación N° 2)	128
Anexo 6.	Resumen de estadísticas de las variables empleadas en la Evaluación N° 3	129
Anexo 7.	Ploteo de cuantiles normales e histograma de distribución de los residuos del modelo aleatorio para energía metabolizable aparente del alimento (Evaluación N° 3)	130
Anexo 8.	Ploteo de cuantiles normales e histograma de distribución de los residuos del modelo aleatorio para ganancia de peso corporal (Evaluación N° 3)	130
Anexo 9.	Ploteo de cuantiles normales e histograma de distribución de los residuos del modelo aleatorio para conversión alimentaria (Evaluación N° 3)	131

ABREVIATURAS

aVE	Altura de la vellosidad intestinal
Ca	Calcio
Ca/PD	Relación calcio / fósforo disponible
CAL	Conversión alimentaria (g/g)
CI	Cripta(s) intestinal(es) de Lieberkühn
dA	Conjunto de tamaños de los efectos que incluye, además de los obtenidos de los estudios incluidos en el meta-análisis, los estimados como faltantes
dO	Conjunto de tamaños de los efectos obtenidos a partir de la data reportada en los estudios incluidos en el meta-análisis
DU	Duodeno
EMA	Valor de energía metabolizable aparente del alimento, y que fue determinado en el experimento incluido en el meta-análisis
FTU	Unidad fitasa
GPC	Ganancia de peso corporal (g/ave/día)
IC _{95%}	Intervalo de confianza al 95%
IL	Íleon
IP _{95%}	Intervalo de predicción al 95%
P	Fósforo
pCR	Profundidad de la cripta de Lieberkühn
PD	Fósforo disponible
PR	Refiere el promedio del duodeno, yeyuno e íleon
pR ²	Pseudo R ² (poder predictivo del modelo): indica el porcentaje de heterogeneidad entre estudios que es explicable por las variables moderadoras incluidas en el modelo
RVC	Relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta
T _E	Tamaño del efecto global
YE	Yeyuno
Δ	Tasa de cambio en la variable presentada a continuación de dicho símbolo

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar los efectos de un aditivo fitogénico sobre la conversión alimentaria en condiciones de campo y de las fitasas sobre las características histológicas del intestino, así como la relación entre estas características, el valor de la energía metabolizable aparente del alimento y el comportamiento productivo, empleando técnicas de meta-análisis. En la evaluación del aditivo fitogénico no se detectó efectos significativos ($P > 0.10$) en el comportamiento productivo al analizar cada uno de los nueve experimentos independientes realizados en condiciones de campo, pero sí en la conversión alimentaria ($P < 0.05$) al integrar la data y aplicar meta-análisis. La evaluación sobre el efecto de las fitasas mostró que la reducción en el contenido de fósforo afecta negativamente la altura de las vellosidades y la relación vellosidad/cripta ($P < 0.02$), que el incremento en la dosis de fitasa *matrizada* favorece la relación vellosidad/cripta ($P < 0.03$), y que cuando las fitasas se usan *on top* se reduce la profundidad de las criptas ($P < 0.05$), siendo mayor el efecto cuanto menor la edad ($P < 0.02$), se incrementa la relación vellosidad/cripta ($P < 0.01$) y, en estas circunstancias, la relación Ca/PD influye en la altura de las vellosidades ($P < 0.05$). Finalmente, en una tercera evaluación se determinó relaciones cuantitativas entre las variables histológicas, la energía metabolizable aparente, la ganancia de peso corporal y la conversión alimentaria mediante modelos matemáticos basados en meta-regresión, empleando una nueva técnica de meta-análisis. En conclusión, la aplicación de meta-análisis permitió incrementar el poder estadístico, comprender mejor la forma en que aditivos nutricionales como las fitasas influyen en la respuesta biológica de los pollos de carne, validar supuestos fisiológicos como las relaciones entre histología intestinal y comportamiento productivo, y desarrollar modelos matemáticos permitentes para describir dichas relaciones.

Palabras clave: pollos, meta-análisis, meta-regresión, fitogénico, fitasa, histología, absorción.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the effects of a phytogenic additive on feed conversion ratio under field conditions and of phytases on the histological characteristics of the intestine, as well as the relationship between these characteristics, the value of the apparent metabolizable energy of the feed and the productive performance, using meta-analysis techniques. In the evaluation of the phytogenic feed additive, no significant effects ($P > 0.10$) were detected in the productive performance when analyzing each of the nine independent experiments conducted under field conditions, but there was in the feed conversion ratio ($P < 0.05$) when the data was integrated and meta-analysis was applied. The evaluation of the effect of phytases showed that the reduction in the phosphorus content negatively affects the height of the villi and the villi/crypt ratio ($P < 0.02$), that the increase in the dose of matrixed phytase favors the villi/crypt ratio ($P < 0.03$), and that when phytases are used on top the depth of the crypts is reduced ($P < 0.05$), being the effect greater the younger the age ($P < 0.02$), the villi/crypt ratio increases ($P < 0.01$) and, in these circumstances, the Ca/PD ratio influences the height of the villi ($P < 0.05$). Finally, in a third evaluation, quantitative relationships between histological variables, apparent metabolizable energy, body weight gain and feed conversion ratio were determined by means of mathematical models based on meta-regression, using a new meta-analysis technique. In conclusion, the application of meta-analysis allowed to increase the statistical power, better understand the way in which nutritional additives such as phytases influence the biological response of broilers, validate physiological assumptions such as the relationships between intestinal histology and productive performance, and develop mathematical models to describe such relationships.

Keywords: broilers, meta-analysis, meta-regression, phytogenic, phytase, histology, absorption.

I. INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de toda actividad económica es lograr la mayor rentabilidad posible (Chuy *et al.* 2005; Inca *et al.* 2016, 2020), y en la producción de pollos de engorde esta depende principalmente del costo de alimento y de la conversión alimentaria. Por ello, la conversión alimentaria es habitualmente una importante variable de respuesta en los experimentos en nutrición avícola, sean estos sofisticados como los de metabolismo aviar (Beitia *et al.* 2020a; Maharjan *et al.* 2020b, 2020c, 2020d, 2021a) o de baja complejidad como los que habitualmente se realizan en la industria para evaluar intervenciones en nutrición y alimentación (Martinez y Rueda 2014; Martinez y Vilchez 2016d), determinar requerimientos (Weil *et al.* 2019, 2020a, 2020b, 2020c, 2021) y planos nutricionales (Uculmana *et al.* 2015b; Uculmana *et al.* 2018; Maharjan *et al.* 2021b), implementación de estrategias de alimentación (Ponce de Leon *et al.* 2014; Beitia *et al.* 2019, 2020b; Suesuttajit *et al.* 2020a, 2020b), uso de niveles supra nutricionales de nutrientes para modular respuestas fisiológicas (Martinez *et al.* 2017c), valoración de ingredientes dietarios (Hilton *et al.* 2019; Martinez *et al.* 2020a; Suesuttajit *et al.* 2021), aditivos nutricionales (Peceros *et al.* 2015; Martinez *et al.* 2016; Martinez y Prado 2016; Martinez y Vilchez 2016g; Uculmana *et al.* 2016a, 2016b) o no nutricionales (Martinez y Vilchez 2015b, 2015c), desarrollo de metodologías de investigación (Uculmana *et al.* 2015a; Martinez *et al.* 2020b), e incluso prácticas de manejo (Martinez *et al.* 2018) y estrategias de control sanitario (Chacon *et al.* 2007; Piantino *et al.* 2007, 2009a, 2009b).

Al respecto, el principal aspecto limitante que enfrenta la industria –y muchas veces también la academia– es que, si bien dichas intervenciones generalmente se justifican económicamente con una mejora en la conversión alimentaria menor al 2%, diseñar experimentos que ofrezcan tal sensibilidad estadística no solo resulta complejo (Martinez *et al.* 2003; Demétrio *et al.* 2013) sino que, además, rara vez ocurre. Por

esta razón, se propone el meta-análisis de diferentes estudios independientes como estrategia para incrementar el poder estadístico (Cohn y Becker 2003) y, en consecuencia, favorecer la toma de decisiones (Martinez 2016d).

En las evaluaciones se incluyen, además, indicadores de la capacidad de absorción de nutrientes como las características histomorfométricas de la mucosa intestinal (Martinez y Vilchez 2016c; Martinez *et al.* 2017a, 2017b) o el valor observado de energía metabolizable aparente del alimento, sobre todo si se prevé un impacto favorable en la salud intestinal (Maharjan *et al.* 2020a).

Al respecto, se considera positivo una mayor altura de las vellosidades intestinales (**aVE**) pues mayor superficie implicaría mayor capacidad de absorción de nutrientes y ganancia de peso corporal (Martinez y Vilchez 2016e, 2016f). Asimismo, ya que es en las criptas de Lieberkühn donde proliferan las células que recubren las vellosidades, se considera negativo una menor relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas (Martinez y Vilchez 2015d, 2016a, 2016b), ya que estaría directamente correlacionada con una menor eficiencia alimentaria, pues a mayor profundidad de las criptas (**pCR**), mayor actividad proliferativa (Martinez y Vilchez 2014; 2015a) y mayor gasto nutricional para el mantenimiento de la mucosa intestinal (Moran 1985; Yamauchi 2002; Martinez y Vilchez 2013). Sin embargo, los profesionales de responsables de las evaluaciones se suelen preguntar cuánto mayor digestibilidad, energía metabolizable y ganancia de peso se debería esperar cuando la altura de las vellosidades intestinales es mayor en cierta magnitud, y cuánto menor se espera que sea la conversión alimentaria cuando la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta se incrementa en un porcentaje dado. No obstante, esta asociación cuantitativa no se ha reportado en la literatura, aún es un supuesto, e incluso se le refiriere como una coincidencia (Choct 2009).

En este contexto, si bien la industria avícola y sus aliadas destinan importantes recursos a la investigación, la información habitualmente obtenida es empleada de forma sub-óptima no solo porque la información disponible en la literatura especializada no es explotada en su totalidad, sino también porque las evaluaciones

realizadas en condiciones de campo incluso carecen de la suficiente sensibilidad estadística. Al respecto, si bien las técnicas de meta-análisis, que permiten integrar data proveniente de diferentes experimentos, se encuentran poco difundidas entre la comunidad científica avícola y sus aplicaciones prácticas son poco conocidas por la industria, estas presentan importantes aplicaciones para incrementar el entendimiento de los procesos que influyen en la eficiencia alimentaria y económica de las aves y así favorecer el diseño de estrategias de alimentación y nutrición.

Integrar la abundante información disponible para encontrar patrones existentes, que usualmente no son detectables en experimentos específicos, representa una importante oportunidad de mejora. Así, un área de interés se orienta a optimizar las estrategias y tecnologías disponibles para potenciar la digestibilidad de los nutrientes y minimizar el impacto de los factores anti-nutricionales sobre la salud intestinal, pues ambos se encuentran estrechamente vinculados con el gasto nutricional de mantenimiento y la conversión alimentaria. Al respecto, el uso de fitasas (EC 3.1.3.8 y EC 3.1.3.26) en la alimentación de aves incrementa la disponibilidad del fósforo de los alimentos de origen vegetal (Singh 2008) y mitiga la acción anti-nutricional de los fitatos (Dersjant-Li *et al.* 2015). Si bien su uso es una práctica extensiva, se conoce poco sobre su efecto en la histología intestinal y, consecuentemente, en aquellos procesos que, como la absorción de nutrientes y el gasto nutricional de mantenimiento, representan la base fisiológica de la conversión alimentaria.

Es de interés, por consiguiente, presentar las aplicaciones prácticas que las técnicas de meta-análisis tienen en la investigación en alimentación y nutrición de pollos de engorde para (1) favorecer la obtención de información con valor añadido en condiciones de campo respecto a la conversión alimentaria, para (2) ampliar el entendimiento del efecto que las intervenciones en la dieta tienen sobre las características histológicas del intestino y, en consecuencia, potencialmente sobre la eficiencia alimentaria de las aves, e incluso para (3) establecer la relación que existe entre las variables histológicas del intestino, el valor observado de energía metabolizable del alimento –como indicador de absorción de nutrientes para proveer energía–, y el comportamiento productivo.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar los efectos de un aditivo fitogénico sobre la conversión alimentaria en condiciones de campo y de las fitasas sobre las características histomorfométricas de la mucosa intestinal, así como la relación entre estas variables de respuesta, la energía metabolizable aparente y el comportamiento productivo de pollos de engorde, empleando para ello diversas técnicas de meta-análisis.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 HISTOLOGÍA INTESTINAL Y POTENCIAL DE ABSORCIÓN DE NUTRIENTES

En términos generales, valores mayores de la altura de la vellosidad y de la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta son considerados indicadores de una mucosa intestinal bien diferenciada, y se considera que vellosidades cortas en relación a la profundidad de la cripta tienen menos células con capacidad de absorción de nutrientes y más células con función secretoria (Martínez 2012). Asimismo, incrementos en la profundidad de la cripta como resultado de la acción de estresores puede afectar la permeabilidad y actividad secretoria de la mucosa intestinal y favorecer desordenes entéricos (Jeurissen *et al.* 2002) como suele observarse en condiciones de campo.

Al respecto, Hayakawa *et al.* (2014) observaron una relación lineal ($R^2 = 0.98$) inversamente proporcional entre la conversión alimentaria y la altura de la vellosidad en el yeyuno, siendo la conversión menor en 0.22 g/g por cada unidad (μm) de incremento en la altura de la vellosidad. Sin embargo, para determinar la altura “óptima” de la vellosidad intestinal se debe considerar la ventaja de la absorción de nutrientes versus el costo del mantenimiento de la altura de la misma (Moran 1985). Es importante considerar que la mucosa intestinal es un tejido altamente dinámico, y se considera que la elongación de la vellosidad intestinal ocurre cuando el ave tiene libre acceso al alimento, aún con la misma dieta, pero enfrenta un incremento en la demanda energética. De igual forma, si el requerimiento nutricional se mantiene, pero se reduce la disponibilidad de nutrientes en la luz intestinal entonces la vellosidad crecerá como un efecto compensatorio (Moran 1985).

Otro posible factor responsable de la elongación de la vellosidad es la microbiota intestinal. Así, se ha reportado (Cook y Bird 1973; Forder *et al.* 2007) que, en comparación a las aves libres de gérmenes, las aves convencionales tienen vellosidades y criptas más largas, y una más rápida migración celular desde la cripta hasta el ápice de la vellosidad. En consecuencia, por esta razón el uso de promotores de crecimiento antimicrobianos ha mostrado reducir la altura de las vellosidades y las criptas, así como el largo y peso total del intestino (Miles *et al.* 2006). Por esta razón, resulta lógico que procesos entéricos como aquellos producidos por coccidias puedan incrementar la velocidad de recambio de enterocitos (Humphrey y Turk 1974) e incrementar la altura de las vellosidades (Fernando y McCraw 1973; Moran 1985). Finalmente, debe tenerse presente que las longitudes de las vellosidades y las criptas y su relación influirá, en gran medida, en la disponibilidad de nutrientes remanentes para ganancia de peso y producción luego de satisfacer los requerimientos de mantenimiento del tejido intestinal. Así, considerando que aproximadamente 12% de la proteína sintetizada *de novo* es utilizada en el tracto gastro intestinal, cualquier factor que incremente el recambio celular, como la presencia de toxinas asociada a reducciones en la longitud de las vellosidades y elongación de las criptas, incrementará el requerimiento de energía del ave (Choct 2009).

2.2 USO DE ADITIVOS FITOGÉNICOS CONTENIENDO CARVACROL EN NUTRICIÓN AVÍCOLA

De acuerdo a la legislación de la Unión Europea (EC 1831/2003), los aditivos alimentarios de tipo fitogénicos, comúnmente llamados aditivos fitogénicos, son categorizados como compuestos sensoriales y aromatizantes, consisten principalmente en extractos de plantas (aceites esenciales, oleorresinas y flavonoides) y sus principios activos (European Commission 2003) y se incorporan en la alimentación animal para mejorar la productividad animal. Las numerosas propiedades benéficas de los aditivos fitogénicos se desarrollan a través de mecanismos que incluyen la mejora de la digestibilidad de los nutrientes, la absorción de los mismos y la eliminación de microorganismos patógenos en el tracto gastrointestinal y se derivan predominantemente de sus moléculas bioactivas incluyendo carvacrol, timol, capsaicina, cineol, entre otras (Mountzouris *et al.* 2010).

Al respecto, el carvacrol es un derivado fenólico abundante principalmente en el orégano, que se obtiene al extraer su aceite esencial (AEO) formando una solución aromática e hidrofóbica (Martinez 2016a) en que algunos de los principales metabolitos secundarios son, además, otro fenol como el timol, y los hidrocarburos monoterpenoides ρ -cimeno y γ -terpineno (Russo et al, 1998; Martinez 2016c).

Así, se ha reportado efectos favorables a nivel de la mucosa intestinal en diferentes estudios, observándose 13% mayor altura de vellosidades y 35% menor profundidad de criptas en pollos desafiados con *Eimeria acervulina* y alimentados con carvacrol y timol (Greathead y Kamel 2006) y vellosidades 10% más largas y 28% mayor área superficial de absorción en pollos alimentados con aceite esencial de salvia, tomillo y romero García et al (2007), postulándose que dicho efecto se basa en el incremento de la tasa de renovación celular de la mucosa intestinal (Bruerton 2002).

Por otro lado, respecto a la actividad enzimática endógena en aves alimentados con derivados fitogénicos, se ha reportado incrementos en la actividad enzimática de la quimotripsina (Lee et al. 2004; Basmacioglu Malayoglu et al. 2010), tripsina (Lee et al. 2004; Jang et al. 2007), maltasa intestinal y α -amilasa (Jang et al. 2007) y lipasa pancreáticas (Lee et al. 2004; Jamroz et al. 2005), en algunos casos asociado a incrementos en la digestibilidad de la proteína dietaria (Basmacioglu Malayoglu et al. 2010) y a incrementos en el peso del músculo de la pechuga (Jamroz et al. 2005). En relación a su acción antioxidante, la actividad del AEO, atribuible principalmente al carvacrol y timol (Deighton et al. 1993), es similar a la del α -Tocoferol y BHT en términos de su capacidad para inhibir la peroxidación de lípidos, protegiendo al ADN del daño oxidativo (Martínez-Tomé et al. 2001; Faleiro et al. 2005).

Adicionalmente, el carvacrol ejerce acción antimicrobiana (Martinez 2016b) desnaturalizando y coagulando las proteínas de la membrana celular de la bacteria, incrementando su permeabilidad y produciendo pérdida de material celular y muerte (Lee et al. 2004). Alcanza el espacio intracelular de bacterias Gram-negativas a través de porinas de la membrana celular (Helander et al. 1998) por ser lipofílico.

En relación a la microbiota intestinal, se ha reportado menor proporción de géneros como *Clostridium spp.* (Betancourt *et al.* 2011) y *Aeromonas spp.* (Yew 2008) y más de *Lactobacillus spp.* (Yew 2008; Betancourt *et al.* 2011) en pollos de engorde suplementados con AEO. Asimismo, la acción del AEO incrementando la tasa de renovación celular de la mucosa intestinal (Levkut *et al.* 2011) y, consecuente, previniendo el ataque de coccidia al mantener una población más saludable de enterocitos (Bruerton 2002) se ve respaldada por la acción antimicrobiana del AEO contra *C. perfringens* (Lee *et al.* 2004), patógeno ubicuo que en ciertas condiciones exagera y predispone la coccidiosis en las aves (McDougald *et al.* 2008). Otras áreas de investigación actual incluyen la posible influencia de derivados fitogénicos sobre la abundancia de células intestinales productoras de serotonina (Simsek *et al.* 2012) y la relación entre este péptido con la posible modulación de patógenos entéricos como *Campylobacter jejuni* (Lyte *et al.* 2021).

2.3 FITASAS EN NUTRICIÓN DE AVES

2.3.1 Fitato

El ácido fítico –o ácido myo-inositol hexa fosfórico– es la forma de almacenamiento primario del fósforo en las plantas (Woyengo *et al.* 2009), contiene 28.2% de fósforo (Selle *et al.* 2000) y en semillas maduras 50 a 80% del contenido total de fósforo puede estar ligado al fitato (Lott 1984). Si bien el fitato cumple un rol importante en la fisiología vegetal, cuando los ingredientes vegetales son suministrados a las aves se convierte en un anti-nutriente que limita la efectividad de las funciones digestivas del animal (Dersjant-Li *et al.* 2015). Al respecto, si bien las aves tienen una producción de fitasa endógena que debería ser suficiente para hidrolizar el fitato de los ingredientes de origen vegetal y liberar alrededor del 70% del fósforo fítico, los minerales contenidos en las dietas tradicionales de las aves causan que esta hidrólisis se reduzca a cerca del 25% (Tamim *et al.* 2004).

La limitada capacidad del ave para utilizar el fósforo fítico genera la necesidad de suplementar fósforo en las dietas de las aves, representando un importante componente del costo del alimento (Singh 2008). Esta necesidad y el interés por

reducir la eliminación de fósforo al ambiente fue lo originó el uso de fitasas en la nutrición animal para incrementar la disponibilidad del fósforo de ingredientes vegetales de la dieta. Sin embargo, a través de los años se ha demostrado los efectos anti-nutricionales de fitato y su impacto negativo sobre la salud intestinal y productividad de las aves (Onyango *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2020).

Asimismo, debido a la falta de hidrólisis de la molécula de fitato, el fósforo ligado al fitato y otros minerales y proteínas están esencialmente no disponibles para la digestión, lo que reduce la digestibilidad y utilización de estos nutrientes por el ave (Ravindran *et al.* 2006; Uculmana *et al.* 2018).

El ácido fítico contiene seis grupos fosfato, cada uno con dos protones disociados, resultando potencialmente doce cargas negativas en la molécula (Woyengo *et al.* 2009). Debido a que sus valores de pKa varían entre 1.5 y 10, seis de sus protones pueden disociarse en pH ácido, tres en pH neutro y tres en pH básico, permitiendo que el ácido fítico se ligue a moléculas positivamente cargadas en diversidad de pH (Crea *et al.* 2008). Si bien en pH bajo se incrementa la solubilidad de los complejos fitatos, durante el inicio de la digestión, el pH del buche no es lo suficientemente bajo para permitir la disociación de los cationes del ácido fítico. Conforme el pH se reduce en el proventrículo, la solubilidad se incrementa y el ácido fítico se disocia de cationes; sin embargo, en pH por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas en solución, los grupos amino en los aminoácidos básicos y proteínas pueden estar positivamente cargados y unirse al ácido fítico. Una vez ligadas, la actividad de varias enzimas endógenas se inhibe, iniciando un mecanismo de retroalimentación que incrementa la producción de enzimas digestivas y HCl. Conforme los nutrientes ingresan al duodeno, la acción buffer incrementa el pH permitiendo la formación de complejos minerales con el fitato (Angel *et al.* 2002; Cowieson *et al.* 2004).

Además del efecto negativo del fitato ligando minerales, esta molécula reduce la digestibilidad de la proteína (Cowieson *et al.* 2006a). Diferentes teorías se han propuesto para explicar este efecto, como la unión a través de los grupos amino de la arginina, histidina y lisina para formar complejos fitato-proteína en medio ácido (Selle *et al.* 2000), la formación de complejos ternarios proteína-mineral-fitato en pH

cercanos a la neutralidad (Selle *et al.* 2000) y la posible alteración de la termodinamia de la matriz acuosa, resultando en agregación proteína-proteína, particularmente con proteínas hidrofóbicas (Cowieson y Cowieson 2011), reduciendo la disponibilidad neta de aminoácidos (Onyango *et al.* 2009).

A pesar de la reducción global en la digestibilidad de la proteína, es claro que el fitato no afecta la digestibilidad de todos los aminoácidos por igual. Ravindran *et al.* (2006) reportó que la digestibilidad de la serina, prolina, isoleucina, cisteína y triptófano no fue afectada y Cowieson *et al.* (2006) que los más afectados fueron alanina, serina, ácido aspártico y treonina. Debido a estas diferencias, se cree que de alguna forma el fitato altera la secreción de proteína endógena (Onyango *et al.* 2009), rica en metionina, cisteína, treonina y serina (Cowieson *et al.* 2006b), incluyendo la renovación celular y la secreción de mucina (Cowieson *et al.* 2004). Así, ya que solo 70-80% de toda la sección proteica endógena es reabsorbida y utilizada por el ave (Nyachoti *et al.* 1997), cualquier incremento en la producción y secreción de proteína redundará en una menor digestibilidad aparente e incrementará el requerimiento energético de mantenimiento del ave, reduciendo su eficiencia alimentaria.

2.3.2 Fitasas

La fitasa (myo-inositol hexafosfato hidrolasa) es una enzima capaz de degradar el ácido fítico catalizando la hidrólisis progresiva de sus enlaces éster fosfato produciendo desde myo-inositol pentafofosfato (IP5) hasta myo-inositol monofosfato (IP1) y finalmente inositol (Selle *et al.* 2000). Así, se considera que una unidad fitasa (FTU) es la cantidad de enzima que libera 1 mmol de fósforo inorgánico por minuto a partir de una solución de fitato sódico 0.00015 mol/L a un pH de 5.54 y a 37 °C (Ravindran *et al.* 2000).

El beneficio de las fitasas incrementando la disponibilidad del fósforo fítico ha sido ampliamente documentada (Singh 2008; Wealleans *et al.* 2016); sin embargo, diversos beneficios “extra-fosfóricos” han sido documentados. Así, la adición de fitasas en dietas deficientes en fósforo, calcio y/o energía ha mostrado mejorar el peso corporal y la conversión alimentaria (Namkung y Leeson 1999; Cowieson *et al.*

2006b), así como incrementar la retención de minerales y la metabolicidad de materia seca y/o energía metabolizable aparente (Namkung y Leeson 1999; Ravindran *et al.* 2000; Cowieson *et al.* 2006b) y la digestibilidad aparente de aminoácidos (Ravindran *et al.* 1999; Namkung y Leeson 1999; Ravindran *et al.* 2000; Cowieson *et al.* 2006a), reducir la excreción de minerales endógenos y aminoácidos (Cowieson *et al.* 2009; Pirgozliev *et al.* 2011). Finalmente, se ha planteado también la acción favorable del inositol resultante, como producto final de la acción de las fitasas en altas dosis (“super dosis”), sobre el transporte de nutrientes y la deposición proteica (Cowieson *et al.* 2014).

Las fitasas se emplean en la formulación de dietas en dos posibles formas: sin asignarles valor nutricional alguno (uso “*on top*”), o asignándoles un valor nutricional equivalente a la cantidad de nutrientes que se espera libere por su acción en el tracto gastrointestinal (uso “*matrizado*”) (Singh 2008).

2.4 META-ANÁLISIS

2.4.1 Generalidades

Meta-análisis se refiere a un “análisis de análisis” (Glass 1976) y resulta apropiado para analizar los resultados de múltiples estudios. Desde que Glass acuñara el término a fines de la década de 1970, el uso y aplicación de meta-análisis ha proliferado y ha sido aplicado en numerosos campos, como la psicología, las leyes, la administración, educación, medicina y epidemiología. En los diferentes campos, el meta-análisis ha sido empleado para determinar la fortaleza de la relación entre dos variables, la eficacia de tratamientos o intervenciones, la precisión de teorías, la validez de técnicas, procesos e instrumentos de medición y la presencia de efectos moderadores de la respuesta (Chan y Arvey 2012).

Algunos atributos del meta-análisis son: (1) Incrementar el poder estadístico, es decir la probabilidad de detectar un efecto real como estadísticamente significativo si existe. Al respecto, muchos estudios individuales pueden ser demasiado pequeños para detectar efectos pequeños, pero cuando se combinan varios, existe una mayor

probabilidad de detectar un efecto. (2) Mejorar la precisión, es decir que la estimación del efecto de una intervención puede mejorarse cuando se basa en más información. (3) Responder a preguntas no planteadas por los estudios individuales, pues los estudios primarios a menudo involucran un tipo específico de individuos e intervenciones explícitamente definidas y, en consecuencia, una selección de estudios en los cuales estas características difieren puede permitir la investigación de la consistencia de efecto y, si es relevante, permiten investigar las razones de las diferencias en las estimaciones del efecto. (4) Resolver controversias derivadas de estudios aparentemente conflictivos o generar nuevas hipótesis, pues el análisis estadístico de los resultados permite evaluar formalmente el grado de conflicto y explorar y cuantificar las razones de los diferentes resultados (Deeks *et al.* 2011).

2.4.2 Tamaño del efecto

El tamaño del efecto es un estimador estandarizado no escalar de la relación entre una exposición y un efecto (Greenwald *et al.* 1996). Generalmente este término se aplica a medidas de la diferencia en el resultado entre tratamientos, de tal manera que el riesgo relativo, la probabilidad relativa, la diferencia de riesgos y la diferencia de medias son “tamaños del efecto”. Sin embargo, el tamaño del efecto también puede ser una medida la desviación estándar, el coeficiente de correlación, una probabilidad, entre otros (Hox y de Lewuw 2003).

Cuando el tamaño del efecto se origina por la comparación de dos tratamientos es posible ilustrar la distribución de los tamaños de los efectos empleando un Diagrama de Bosque, que ilustra el tamaño del efecto estimado para cada estudio, su correspondiente intervalo de confianza al 95%, el tamaño del efecto global con su correspondiente intervalo de confianza al 95% y el peso relativo asignado a cada estudio (Viechtbauer 2010).

2.4.3 Sesgo de publicación

Sesgo de publicación es el término empleado para referir lo que ocurre cuando la investigación que se encuentra publicada en la literatura es sistemáticamente no

representativa de la población completa de estudios realizados. Esto ocurre, en algunos casos cuando los resultados que el investigador encuentra no concuerdan con la información conocida sobre la materia hasta el momento y decide no publicar dicha información (Higgins y Altman 2011).

Para evaluar la existencia de sesgos se emplea el gráfico de embudo, que ilustra la relación entre el tamaño de efecto en el eje de ordenadas y el tamaño del estudio en el eje de abscisas, el cual puede ser estar expresado en términos del error estándar del tamaño del efecto, de su inversa, del tamaño de la muestra o el número de efectos observados. Se dibuja una línea vertical que pasa por el valor ponderado global y si no hay sesgo de publicación aparece la forma de un embudo típico mostrando simetría en relación a la línea vertical (Egger *et al.* 1997).

Asimismo, respecto al gráfico de embudo, es posible aplicar la prueba de Corte y Relleno que estima los valores de los tamaños de los efectos faltantes en el diagrama de embudo para lograr que la distribución sea simétrica y, considerando estos nuevos valores, determinar el nuevo tamaño del efecto y su intervalo de confianza. Luego, al comparar ambos tamaños de los efectos y sus respectivos intervalos de confianza el sesgo es considerado relevante si los intervalos de confianza no están superpuestos, al menos parcialmente (Duval 2005).

Finalmente, la prueba de Egger permite evaluar una prueba de hipótesis sobre la significancia estadística de la existencia de sesgo de publicación, y consiste en una regresión lineal simple de la magnitud del efecto dividida por su error estándar sobre el inverso del error estándar en la que se prueba si la ordenada en el origen es estadísticamente significativa (Egger *et al.* 1997).

2.4.4 Heterogeneidad

La heterogeneidad en meta-análisis refiere la variabilidad que existe entre los diferentes estudios considerados en el análisis. Estas diferencias pueden ser originadas por las características de los individuos sujetos de investigación, de cualquier aspecto de la metodología empleada e incluso por el azar (Viechtbauer

2010). Así, cuando se realizan meta-análisis en nutrición avícola para determinar el tamaño del efecto de la suplementación de un aditivo nutricional, la heterogeneidad puede ser consecuencia de diferentes dosis del aditivo, periodos de suplementación, edades y línea genética de las aves, características de la dieta, condiciones de crianza, entre otros (Rosen 2010).

Para estimar la heterogeneidad es posible emplear un modelo fijo o uno aleatorio. La principal diferencia entre ambos es que el modelo aleatorio considera que los estudios incluidos en el análisis son una muestra aleatoria de la población total de estudios que incluye a los empleados en el análisis, otros realizados pero no incluidos y aquellos podrán realizarse en el futuro y, en consecuencia, trata la heterogeneidad como completamente aleatoria y provee una inferencia sobre el efecto medio en la población total; mientras que el modelo fijo ofrece conclusiones únicamente respecto al conjunto de estudios incluidos en el análisis (Viechtbauer 2010).

Como indicadores de heterogeneidad se cuenta con el *estadístico* Q, la probabilidad asociada a este *estadístico*, los *estadísticos* τ^2 , τ , I^2 y H^2 , y el intervalo de predicción, los que se describen a continuación (Viechtbauer 2010).

El *estadístico* Q es la suma ponderada de las diferencias al cuadrado entre los efectos observados y el efecto promedio ponderado, y si bien solo es una medida de la variación respecto al promedio y no una medida de heterogeneidad en sí mismo, al ser comparado con la variación que se observaría si todos los estudios fueran estudios de una muestra probabilística de la misma población, es posible calcular la heterogeneidad. En los meta-análisis esta diferencia se calcula para realizar una prueba de significancia respecto a dicha diferencia y para calcular otros indicadores de heterogeneidad. Así, la probabilidad no refleja la magnitud de la heterogeneidad sino únicamente la probabilidad de su existencia. Entonces, como en cualquier prueba de significancia, un valor alto de probabilidad no puede ser empleado como indicador de homogeneidad (Borenstein *et al.* 2009a).

Por otro lado, tanto τ^2 como τ son medidas de la dispersión de los verdaderos tamaños de los efectos entre estudios, siendo τ^2 la varianza de los verdaderos

efectos. Así, cuando se trata de modelos aleatorios τ^2 refiere la cantidad de variabilidad existente entre los verdaderos efectos. Sin embargo, cuando se trata de modelos mixtos, τ^2 indica la cantidad de heterogeneidad residual no explicada por las variables moderadoras (Viechtbauer 2010). En ambos casos τ^2 y τ están expresadas en las mismas unidades que el tamaño del efecto, pero τ^2 en términos cuadráticos. Al respecto, considerando la interpretación propuesta por Borenstein *et al.* (2009a), si se tuviera una cantidad infinitamente grande de estudios y cada estudio tuviera un número infinitamente grande de repeticiones, de forma tal que el estimado en cada caso fuere en realidad el verdadero tamaño del efecto, y se calculara la varianza entre dichos efectos, τ^2 sería dicha varianza. Consecuentemente, τ es la desviación estándar de los verdaderos tamaños de los efectos.

El *estadístico* I^2 , por su parte, estima en porcentaje cuánto de la variabilidad total en los estimados de los tamaños de los efectos (que está compuesta por heterogeneidad y variabilidad de muestreo) puede ser atribuido a heterogeneidad entre los verdaderos efectos (si $\tau^2 = 0$, entonces $I^2 = 0\%$) (Viechtbauer 2010). El valor de I^2 varía entre 0 y 100% y es independiente del tamaño de efecto específico, por lo que tiene el mismo significado en meta-análisis donde el tamaño del efecto puede ser una diferencia de medias. Asimismo, el valor de I^2 no está afectado por el número de estudios en el meta-análisis, lo que permite comparar diferentes análisis aún si el número de estudios difiere. El valor de I^2 indica cuánto de la variabilidad observada permanecería si el error de muestreo (intra-experimental) fuese cero. En consecuencia, si I^2 fuese cercano a cero, entonces la mayor parte de la dispersión en el diagrama de bosque desaparecería si de alguna forma se pudiera remover el error de muestreo, mientras que, si I^2 fuese cercano a 100, entonces la mayor parte de la dispersión observada permanecería. Por lo tanto, es inapropiado considerar valores de I^2 de 25, 50 o 75% como indicadores de “baja”, “media” o “alta” heterogeneidad, respectivamente (Borenstein *et al.* 2017).

Finalmente, H^2 es el producto de dividir la variabilidad total resultante observada entre la variabilidad de muestreo (si $\tau^2 = 0$, entonces $H^2 = 1$) (Viechtbauer 2010) y describe el incremento en el valor observado del *estadístico* Q en comparación a lo que se podría esperar en ausencia de heterogeneidad (Higgins y Thompson 2002).

De forma complementaria, se emplea el intervalo de predicción al 95% como indicador de heterogeneidad, pues este refleja el rango dentro del cual, con un 95% de probabilidad, se encontrará el tamaño del efecto de un nuevo estudio, asumiendo que los verdaderos efectos se encuentren normalmente distribuidos entre estudios. Así, ya que el intervalo de predicción es estimado en base a los tamaños de los efectos observados en los estudios incluidos en el meta-análisis, el intervalo de predicción corresponde aproximadamente –dependiendo de si la varianza de muestreo es grande o pequeña– con el rango de los tamaños de los efectos que están siendo analizados y que son presentados en el diagrama de bosque (Borenstein *et al.* 2009b). De esta forma, la precisión de este intervalo puede ser satisfactoria como herramienta de predicción solo si no existe un sesgo de selección relevante en el conjunto de estudios incluidos en el meta-análisis. En consecuencia, si se detecta o prevé la existencia de sesgo de selección, entonces es recomendable emplear el intervalo de predicción como una descripción del rango de tamaños de efectos observados y no como una predicción propiamente dicha del rango en que se encontraría el tamaño del efecto de un nuevo estudio (IntHout *et al.* 2016).

Aquellos factores responsables de la heterogeneidad entre estudios reciben el nombre de variables moderadoras, pues influyen en el tamaño del efecto observado entre estudios. Así, la influencia de estas variables puede ser evaluada, cuantificada e incluso modelada para lo cual se emplean modelos mixtos (Viechtbauer 2010).

2.4.5 Meta-regresión

La meta-regresión es un conjunto de métodos estadísticos, que incluyen regresión lineal o no lineal, ponderada o no ponderada, para valorar la heterogeneidad empleando modelos mixtos, en los que la magnitud del efecto se enfrenta a una o más covariables (Thompson y Sharp 1999).

Dentro del contexto de los meta-análisis realizados empleando modelos mixtos, el indicador pseudo- R^2 (pR^2) refiere cuánto de la heterogeneidad entre estudios,

determinada mediante un modelo de efectos aleatorios, es explicada por las variables moderadoras incluidas en el modelo mixto (Borenstein *et al.* 2009d).

En el proceso de modelación mediante meta-regresión, al igual que en el análisis de regresión clásico, es necesario considerar la existencia de multicolinealidad al seleccionar las variables para el modelo, pues al existir una relación cuasi lineal entre las variables moderadoras implicadas se genera inestabilidad en los estimados de las pendientes del modelo y el error asociado se incrementa. Así, si el estimado del parámetro es significativo pero la regresión en su conjunto no lo es, entonces es altamente aparente la presencia de colinealidad (Kaps y Lamberson 2009). Al respecto, si el objetivo del modelo es únicamente predecir respuesta entonces la existencia de colinealidad no es crítica porque cuanto mayor el valor de pR^2 , mejor la predicción; sin embargo, si el objetivo es, además, estimar con precisión los parámetros de la regresión, entonces la colinealidad sí es un problema porque conlleva a elevados errores estándares en dichos estimados (Gujarati 2003).

Los criterios comúnmente empleados para determinar colinealidad son (1) la correlación entre las variables (coeficientes ≤ 0.3 se consideran apropiados para el análisis; Ishihara *et al.* 2017), (2) el factor de inflación de la varianza (*Variance Inflation Factor*; VIF) (variables con VIF > 10 deben ser excluidas del análisis; Ishihara *et al.* 2017; Kaps y Lamberson 2009; Gujarati 2003; Quinn y Keough 2002), (3) el valor de tolerancia (*Tolerance Value*; TV), que es la inversa del VIF (TV < 0.1 equivale a VIF = 10 y sugiere fuerte colinealidad; Gujarati 2003), (4) índice de condición (*Condition Index*; CI) (CI > 30 indica colinealidad que requiere atención; Quinn y Keough 2002), y (5) el eigenvalor (valores < 0.05 indican problemas de colinealidad; Quinn y Keough 2002).

Así, cuando se determina la existencia de colinealidad, las posibles opciones son eliminar variables predictoras, comenzando por aquella cuya relación con la variable de respuesta es más débil (Quinn y Keough 2002) o emplear una variable derivada que incluya a aquellas que están correlacionadas. Es importante considerar que, si se determina que existe colinealidad, entonces la presencia de dicha variable podría no ser relevante en la construcción del modelo final. Entonces, se debe decidir qué tan

fuerte es el compromiso con la teoría subyacente a fin de determinar si es conveniente eliminar tal variable o combinarla en una variable derivada para mantener su influencia controlando la colinealidad (Greene 2003).

2.4.6 Antecedentes en nutrición avícola

En nutrición avícola, las técnicas de meta-análisis se han empleado, entre otros, para estudiar los requerimientos de treonina de los pollos (Barkley y Wallis 2001), para comparar la eficiencia relativa de la metionina hidroxianáloga con la DL-metionina en pollos (Sauer *et al.* 2008), para estudiar la influencia del uso de fitasas y del nivel de calcio dietario sobre utilización del fósforo de la dieta en pollos (Le'tourneau-Montminy *et al.* 2010) y del ácido linoleico conjugado sobre el perfil de ácidos grasos en la carne de pollos (Cho *et al.* 2013), para determinar el efecto de la suplementación de fitasas sobre la retención de fósforo en pollos y gallinas (Bougouin *et al.* 2014), y del desafío bacteriano sobre el consumo de alimento y comportamiento productivo (Remus *et al.* 2014), para generalizar conclusiones respecto a la eficacia de aditivos al alimento (Weber *et al.* 2012), para determinar el efecto de la suplementación de glutamina (Quisirumbai-Gaibor *et al.* 2019) y para determinar el efecto del ácido cítrico asociado al uso de fitasas sobre la mineralización ósea (Vieira *et al.* 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 EVALUACIÓN 1: META-ANÁLISIS DEL USO DE UN ADITIVO FITOGÉNICO AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDE

3.1.1 Origen de la data

La data empleada en el presente análisis (Anexos 1 y 2) corresponde a los resultados observados en nueve experimentos (EX1 a EX9) realizados por la empresa LIAN Desarrollo y Servicio S.A.C. empleando un producto fitogénico comercial codificado como PHE780, diseñado para ser administrado en el alimento balanceado y contener aceites esenciales de plantas aromáticas en cantidad suficiente para aportar, entre otros, no menos de 45 g de carvacrol por kg de producto.

3.1.2 Experimentos

Nueve experimentos independientes (Cuadro 1) fueron realizados con pollos de engorde machos de la línea genética Cobb 500, de 1 a 42 días, alimentados con dietas maíz-soya, peletizadas y formuladas de acuerdo con los requerimientos nutricionales de la línea genética (Cobb-Vantress 2015).

En todos los experimentos se empleó los siguientes tratamientos:

- T1: dieta control no suplementada con el producto.
- T2: dieta del T1 suplementada con 0.05% del producto de 1 a 42 días.

Cuadro 1: Características de nueve experimentos realizados para determinar el efecto de un aditivo fitogénico sobre el comportamiento productivo de pollos de engorde

Criterio	Experimentos								
	EX1	EX2	EX3	EX4	EX5	EX6	EX7	EX8	EX9
Motivo del experimento	Decisión de compra	Decisión de compra	Documentar resultados	Decisión de compra	Proyecto de investigación	Documentar resultados	Decisión de compra	Decisión de compra	Decisión de compra
Variable prioritaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria
Línea genética	Cobb 500	Cobb 500	Cobb 500	Cobb 500	Cobb 500	Cobb 500	Cobb 500	Cobb 500	Cobb 500
Sexo	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos
Tratamientos	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Repeticiones	3	5	4	3	6	4	2	3	2
U.E. ¹	Galpón	Corral	Galpón	Galpón	Jaula	Galpón	Galpón	Galpón	Galpón
Aves por U.E. ¹	14,000	40	17,000	12,000	8	15,000	17,000	16,000	11,500
Aves, total	84,000	400	136,000	72,000	96	120,000	68,000	96,000	46,000

¹ Unidad experimental.

Seis de los nueve experimentos se realizaron como parte de procesos de toma de decisiones de compra en empresas avícolas productoras (cinco en granjas comerciales y una en granja experimental con corrales en piso), dos para documentar resultados en condiciones de campo y una como parte de un proyecto de investigación en jaulas experimentales (Cuadro 1). En todos los casos, los tratamientos se asignaron a las unidades experimentales al azar (Diseño Completo al Azar) y se evaluó el peso final, consumo de alimento, conversión alimentaria, mortalidad y eficiencia: Índice de eficiencia productiva = [peso corporal (kg) × supervivencia (%) × 100] ÷ [conversión alimentaria × edad].

3.1.3 Análisis de datos

El análisis de datos se llevó a cabo en dos etapas: primero, se analizó los resultados de cada experimento de forma independiente y luego se realizó los meta-análisis.

3.1.3.1 Análisis independientes por experimento

La distribución normal de los datos se determinó mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Adler 2010) y la presencia de valores anómalos mediante la prueba de Grubbs (Grubbs 1969). La data fue analizada empleando un Diseño Completo al Azar y se realizó el análisis de varianza. Las variables con distribución no normal fueron analizadas empleando la prueba de Kruskal-Wallis (McDonald 2009).

El modelo aditivo lineal empleado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}; \quad i = 1, \dots, t; \quad j = 1, \dots, r$$

siendo que $\varepsilon_{ij} \sim N(\mu, \sigma^2)$ y de forma independiente, donde:

Y_{ij} es el valor observado en el i -ésimo tratamiento, j -ésima repetición.

μ es el efecto de la media general.

τ_i es el efecto del i -ésimo tratamiento.

ε_{ij} es el efecto del error experimental en el i -ésimo tratamiento, j -ésima repetición.

t es el número de tratamientos.

r es el número de repeticiones para el i -ésimo tratamiento.

N denota la distribución normal de la desviación aleatoria entre repeticiones.

σ^2 es la varianza entre los errores experimentales entre las diferentes unidades experimentales.

3.1.3.2 Meta-análisis

Se realizó un meta-análisis independiente por variable de respuesta y se determinó el tamaño del efecto global, su intervalo de confianza al 95% y su probabilidad con la prueba de Wald (van den Noortgate y Onghena 2003; Higgins y Thompson 2004), y la existencia de heterogeneidad empleando un modelo de efectos aleatorios mediante la prueba de Cochran (Hedges y Olkin 1985) (*estadístico Q*) y su correspondiente probabilidad con la prueba de chi-cuadrado (Bougouin *et al.* 2014). Así, la heterogeneidad se determinó con el siguiente modelo (Viechtbauer 2010):

$$y_i = \mu + u_i + e_i; \quad i = 1, \dots, k$$

siendo que $u_i \sim N(0, \tau^2)$ y $e_i \sim N(0, \nu_i)$ y ambos de forma independiente, donde:

y_i es el valor observado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio y, además,

$$y_i = \theta_i + e_i; \quad \text{donde:}$$

θ_i es el verdadero efecto (desconocido) en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

u_i desviación inter-experimental, respecto al tamaño del efecto global, en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

k es el número de estudios o estimados independientes del tamaño del efecto.

N denota la distribución normal que tienen la desviación aleatoria inter-experimental (u) y el error de muestreo intra-experimental (e).

τ^2 indica la heterogeneidad (variabilidad existente entre los verdaderos efectos).

ν_i es la varianza de muestreo conocida (aproximadamente) del estimado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio.

Para ajustar el modelo se empleó el método de Mínimos Cuadrados Ponderados (Viechtbauer 2010) que implica que el modelo ajustado provee un estimado de

$$\bar{\theta}_w = \frac{\sum w_i \theta_i}{\sum w_i}; \quad \text{donde:}$$

$\bar{\theta}_w$ es el verdadero tamaño del efecto promedio ponderado.

w_i es el peso empleado como factor de ponderación.

θ_i es el verdadero tamaño del efecto en el i -ésimo estudio.

es decir que $\bar{\theta}_w$ es el promedio ponderado de los verdaderos efectos (θ_i) en el conjunto de k estudios, con pesos iguales a la inversa de las correspondientes varianzas ($w_i = 1/v_i$). En adelante, el tamaño del efecto global se referirá como T_E .

Por otro lado, se evaluó la bondad de ajuste de los residuos de cada modelo a la distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk (normal: $P > 0.05$) (Adler 2010) y en aquellos casos en que los residuos no presentaron una distribución normal, la data se analizó nuevamente para determinar la probabilidad asociada al tamaño del efecto global, pero esta vez aplicando una prueba de permutación (Follmann y Proschan 1999; Higgins y Thompson 2004) con 10,000 iteraciones.

Finalmente, la presencia de sesgo en la data de cada variable de respuesta se evaluó con el gráfico de embudo (Viechtbauer 2010), que ilustra la distribución de la data por tamaños de los efectos y precisión de cada estudio (Sterne y Egger 2001, Zwetsloot *et al.* 2017), y la prueba de regresión de Egger para determinar su asimetría y, en consecuencia, la presencia de sesgo (Egger *et al.* 1997). Luego, se realizó el análisis de Corte y Relleno para estimar los valores de los tamaños de los efectos que compensaran desbalances en la distribución y, de ser así, se determinó su magnitud e influencia sobre el tamaño del efecto global (Duval 2005). Así, cada variable eventualmente contó con dos series de tamaños de efectos:

dO: conjunto de tamaños de los efectos, a partir de los experimentos realizados.

dA: conjunto de tamaños de los efectos que incluyó, además, los valores estimados mediante la prueba de Corte y Relleno.

Luego, se consideró relevante el sesgo si la prueba de Egger fue significativa ($P < 0.05$) y si los IC_{95%} de los tamaños de los efectos globales calculados con la data ajustada (dA) y con la data original (dO) no estuvieron superpuestos.

3.1.3.3 Programas y recursos informáticos empleados

La prueba de Grubbs para valores anómalos se llevó a cabo con el programa GraphPad Prism 7 (Motulski 2007) y el análisis de varianza y la prueba de Kruskal-Wallis con los procedimientos GLM y NPAR1WAY con restricción Wilcoxon (McDonald 2009), respectivamente, del programa SAS 9.4 (SAS Institute Inc. 2017).

Los meta-análisis se realizaron procesando la data con diversos paquetes en lenguaje de programación R versión 3.5.2 (R Core Team 2018) con RStudio 1.1.456 como interfase (RStudio Team 2016). Para la prueba de bondad de ajuste a la distribución normal se empleó el paquete *stats* mediante la función *shapiro.test* (Adler 2010). Para las rutinas de meta-análisis se empleó el paquete *Metafor* 2.0-0 mediante las funciones *escalc* para el cálculo de los tamaños de los efectos, *rma* para el ajuste de los modelos lineales, *permutest* para la prueba de permutación, *forest* y *funnel* para generar gráficos de bosque y embudo, respectivamente, y *regtest* y *trimfill* para la prueba de regresión de Egger para la asimetría del gráfico de embudo y para el correspondiente análisis de *Corte y Relleno*, respectivamente (Viechtbauer 2010, 2017). Asimismo, *readxl* 1.3.0 (Wickham y Bryan 2019) y *dplyr* 0.7.6 (Wickham *et al.* 2018) para el acceso y manipulación de la data, respectivamente; y *abind* 1.4-5 para el manejo de matrices y vectores (Plate y Heiberger 2016).

3.2 EVALUACIÓN 2: META-ANÁLISIS DE ESTUDIOS SOBRE EL USO DE FITASAS E HISTOMORFOMETRÍA INTESTINAL EN POLLOS DE ENGORDE

3.2.1 Meta-análisis realizados

Se realizó nueve meta-análisis (Cuadro 2) para estudiar el efecto de la reducción en el nivel de fósforo disponible en la dieta y de las fitasas comerciales (EC 3.1.3.8 y EC 3.1.3.26) (Singh 2008), considerando o no su matriz nutricional, sobre la altura de la vellosidad intestinal, la profundidad de la cripta, y sobre la relación entre ellas.

Cuadro 2: Meta-análisis realizados para estudiar el efecto de las fitasas sobre las características histológicas del intestino de pollos

Meta-análisis N°	Factor en estudio ¹ (tratamientos comparados ²)	Variable de respuesta
1	Efecto de la reducción del nivel dietario de fósforo disponible (T2 vs T1)	Altura de la vellosidad (aVE)
2		Profundidad de cripta (pCR)
3		Relación entre ambos (RVC)
4	Efecto de la adición de la fitasa considerando su matriz nutricional de P (“ <i>fitasa matrizada</i> ”) (T4 vs T1)	aVE
5		pCR
6		RVC
7	Efecto de la adición de la fitasa sin considerar su matriz nutricional (“ <i>fitasa on top</i> ”) (T3 vs T1)	aVE
8		pCR
9		RVC

¹ “Fitasa *matrizada*” indica que la fitasa fue incluida en la dieta asignándole un valor nutricional (matriz nutricional) en el proceso de formulación (equivalente al incremento en disponibilidad de nutrientes producto de su acción en el tracto gastro intestinal), mientras que “fitasa *on top*” indica que fue incluida en la dieta sin considerar valor nutricional alguno.

² Tratamientos comparados: **T1**, dieta con el contenido de fósforo disponible recomendado y sin fitasa; **T2**, dieta con un menor contenido de fósforo disponible, equivalente al incremento en fósforo disponible que se espera producto de la acción de la fitasa, pero sin la inclusión de esta; **T3**, dieta del T1, pero con fitasa (uso “*on top*”); **T4**, dieta del T2, pero con fitasa (uso “*matrizado*”).

3.2.2 Origen y organización de la data

La data para los meta-análisis se obtuvo mediante búsquedas de artículos científicos y trabajos de tesis de maestría y doctorado en bases de datos (Web of Science, Scopus, Microsoft Academic, Science Direct, PubMed, Academia y Google Académico) con criterios que combinaron palabras clave en inglés (“*phytase*”, “*villus*”, “*villa*”, “*crypt*”, “*histology*”, “*villus height*”, “*broiler*”, “*chicken*”), en español (“*fitasa*”, “*vellosidad*”, “*cripta*”, “*histología*”, “*pollo*”) o en portugués (“*fitase*”, “*vilosidade*”, “*cripta*”, “*histología*”, “*frango*”) y se empleó aquellos que cumplieron los siguientes criterios de inclusión:

- Estar publicado en una revista científica indexada y revisada por pares o tratarse de una tesis de maestría o doctorado.
- Presentar resultados de un experimento y no de un estudio observacional (Ramsey y Schafer 2013), meta-análisis o artículo de revisión.
- Haber empleado pollos de engorde como material de estudio.
- Presentar resultados obtenidos de la altura de la vellosidad (**aVE**), de la profundidad de la cripta (**pCR**) o de la relación entre ambas (**relación vellosidad/cripta; RVC**) en cualquiera de las tres secciones intestinales (duodeno, yeyuno e íleon).

Presentar, para las variables de respuesta, el valor promedio observado en cada tratamiento, el número de repeticiones empleadas y un valor de variabilidad aplicable a cada tratamiento (error estándar de la media, desviación estándar o coeficiente de variabilidad).

Se elaboró una base de datos en una hoja de cálculo donde cada fila fue un registro independiente e incluyó la data correspondiente a cada comparación de dos tratamientos de un mismo experimento en una misma edad con información útil para cualquiera de los meta-análisis indicados en el Cuadro 2. Cada registro incluyó:

- Datos de identificación del experimento (autores, año, revista).
- Identificación y descripción de los tratamientos comparados y del meta-análisis para el cual fue útil la data registrada.
- Valores reportados para cada variable de respuesta en los tratamientos que conformaron la comparación, número de repeticiones empleadas y valores de

variabilidad. A partir de los indicadores de variabilidad se calculó los valores de desviación estándar aplicables a cada tratamiento que conformó cada comparación. Para ello se consideró que $SEM = SD/\sqrt{n}$, donde SEM es el error estándar de la media, SD la desviación estándar y n el número de repeticiones (Barde y Barde 2012).

- Condiciones que pudieron influir en la respuesta a los tratamientos en las variables en estudio para ser evaluadas como posibles variables moderadoras: edad de las aves (d), dosis de fitasa (FTU/kg), magnitud de la reducción en el contenido de fósforo disponible (puntos %), contenidos de calcio (%) y fósforo disponible (%) y su relación en la dieta control (aquella sin reducción en el contenido de fósforo y/o sin inclusión de fitasa) y sección intestinal.
- Número total de aves empleadas en la evaluación histológica.

3.2.3 Análisis de la data

3.2.3.1 Determinación de los tamaños de los efectos globales

Se realizó un meta-análisis independiente por variable de respuesta para determinar el tamaño del efecto global (T_E), su intervalo de confianza al 95% y su probabilidad con la prueba de Wald (van den Noortgate y Onghena 2003; Higgins y Thompson 2004); así como la existencia de heterogeneidad empleando un modelo de efectos aleatorios mediante la prueba de Cochran (Hedges y Olkin 1985) (*estadístico Q*) y su probabilidad con la prueba chi-cuadrado (Bougouin *et al.* 2014). La heterogeneidad se determinó con el siguiente modelo aditivo lineal (Viechtbauer 2010):

$$y_i = \mu + u_i + e_i ; \quad i = 1, \dots, k$$

siendo que $u_i \sim N(0, \tau^2)$ y $e_i \sim N(0, \nu_i)$ y ambos de forma independiente, donde: y_i es el valor observado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio y, además,

$$y_i = \theta_i + e_i ; \quad \text{donde:}$$

θ_i es el verdadero efecto (desconocido) en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

u_i desviación inter-experimental, respecto al tamaño del efecto global, en el i -ésimo estudio.

- e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.
- k es el número de estudios o estimados independientes del tamaño del efecto.
- N denota la distribución normal que tienen la desviación aleatoria inter-experimental (u) y el error de muestreo intra-experimental (e).
- τ^2 indica la heterogeneidad (variabilidad existente entre los verdaderos efectos).
- ν_i es la variación de muestreo conocida (aproximadamente) del estimado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio.

Para ajustar el modelo se empleó el método de Mínimos Cuadrados Ponderados (Viechtbauer 2010) que implica que el modelo ajustado provee un estimado de

$$\bar{\theta}_w = \frac{\sum w_i \theta_i}{\sum w_i} ;$$

donde:

$\bar{\theta}_w$ es el verdadero tamaño del efecto promedio ponderado.

w_i es el peso empleado como factor de ponderación.

θ_i es el verdadero tamaño del efecto en el i -ésimo estudio.

es decir que $\bar{\theta}_w$ es el promedio ponderado de los verdaderos efectos (θ_i) en el conjunto de k estudios, con pesos iguales a la inversa de las correspondientes varianzas ($w_i = 1/\nu_i$). En adelante, el tamaño del efecto global se referirá como \mathbf{T}_E .

Por otro lado, se evaluó la bondad de ajuste de los residuos de cada modelo a la distribución normal (normal: $P > 0.05$) (Adler 2010) y en aquellos casos en que los residuos no presentaron una distribución normal, la data se analizó nuevamente para determinar la probabilidad asociada al tamaño del efecto global, pero esta vez aplicando una prueba de permutación (Follmann y Proschan 1999; Higgins y Thompson 2004) con 10,000 iteraciones (Viechtbauer 2010).

Finalmente, la presencia de sesgo en la data de cada variable de respuesta se evaluó generando el gráfico de embudo (Viechtbauer 2010), que ilustra la distribución de la data por tamaños de los efectos y precisión de cada estudio (Sterne y Egger 2001, Zwetsloot *et al.* 2017), y se aplicó la prueba de regresión de Egger para determinar su asimetría y, en consecuencia, la presencia de sesgo (Egger *et al.* 1997). Luego, se

realizó el análisis de Corte y Relleno para estimar los valores que compensaran desbalances en la distribución y, de ser así, se determinó su magnitud e influencia sobre el tamaño del efecto global (Duval 2005). Así, cada variable eventualmente contó con dos series de tamaños de efectos:

dO: conjunto de tamaños de los efectos obtenido a partir de la data recopilada.

dA: conjunto de tamaños de los efectos que incluyó, además, los valores estimados mediante la prueba de Corte y Relleno.

Luego, se consideró relevante el sesgo si la prueba de Egger fue significativa ($P < 0.05$) y si los IC_{95%} de los tamaños de los efectos globales calculados con la data ajustada (dA) y con la data original (dO) no estuvieron superpuestos.

3.2.3.2 Evaluación de variables moderadoras

En cada meta-análisis se evaluó la influencia de las siguientes variables: magnitud (puntos %) de la reducción en el contenido de fósforo disponible (PD), dosis (FTU/kg) de fitasa, contenido (%) de calcio (Ca) y PD y su relación (Ca/PD) en la dieta control, edad (d) y sección intestinal. Asimismo, se evaluó si los tamaños de los efectos estaban asociados al número de repeticiones empleadas y al número total de aves muestreadas en la comparación (ambos tratamientos).

En todos los casos se empleó el siguiente modelo aditivo lineal de efectos mixtos (Viechtbauer 2010, 2017):

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \dots + \beta_p x_{ip} + u_i + e_i; \quad i = 1, \dots, k; \quad j = 1, \dots, p$$

siendo que $u_i \sim N(0, \tau^2)$ y $e_i \sim N(0, \nu_i)$ y ambos de forma independiente, donde:

y_i es el valor observado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio y, además,

$$y_i = \theta_i + e_i; \text{ donde:}$$

θ_i es el verdadero efecto (desconocido) en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

β_0 es el intercepto.

β_j es la pendiente de la recta correspondiente a la j -ésima variable moderadora cuando el valor de todas las demás es cero y denota el cambio en el tamaño del efecto promedio cuando x_{ij} se incrementa en una unidad.

x_{ij} es el valor de la j -ésima variable moderadora en el i -ésimo estudio.

u_i es la desviación aleatoria inter-experimental, respecto al tamaño del efecto global, en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

k es el número de estudios o estimados independientes del tamaño del efecto.

p es el número de variables moderadoras.

N denota la distribución normal que tienen la desviación aleatoria inter-experimental (u) y el error de muestreo intra-experimental (e).

τ^2 indica la heterogeneidad residual no explicada por las variables moderadoras.

v_i es la varianza de muestreo conocida (aproximadamente) del estimado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio.

Siendo ajustado con el método Mínimos Cuadrados Ponderados (Viechtbauer 2010).

Asimismo, el *estadístico* pseudo- R^2 (\mathbf{pR}^2) (Borenstein *et al.* 2009c; Raudenbush 2009), o poder predictivo del modelo (López-López *et al.* 2014) definido como el porcentaje de la heterogeneidad total explicable por las variables moderadoras incluidas en el modelo, fue determinado empleando la siguiente fórmula:

$$\mathbf{pR}^2 = \frac{\hat{\tau}_{EA}^2 - \hat{\tau}_{EM}^2}{\hat{\tau}_{EA}^2} ;$$

donde:

$\hat{\tau}_{EA}^2$ es la heterogeneidad total estimada mediante el modelo de efectos aleatorios.

$\hat{\tau}_{EM}^2$ es la heterogeneidad residual estimada mediante el modelo de meta-regresión.

Para ello, los valores e indicadores de heterogeneidad se obtuvieron con los métodos referidos en el acápite “*Determinación de los tamaños de los efectos globales*” en la sección *Materiales y Métodos* de esta evaluación. De igual forma, se evaluó la bondad de ajuste de los residuos de cada modelo mixto a la distribución normal (normal: $P > 0.05$) (Adler 2010) y en aquellos casos en que los residuos no presentaron una distribución normal, la data se analizó nuevamente para determinar la probabilidad asociada al tamaño del efecto global, pero esta vez aplicando una prueba de permutación (Follmann y Proschan 1999; Higgins y Thompson 2004) con 10,000 iteraciones (Viechtbauer 2010).

3.2.4 Programas y recursos informáticos empleados

La data se procesó usando diversos paquetes en lenguaje de programación R versión 3.5.2 (R Core Team 2018) y RStudio 1.1.456 como interfase (RStudio Team 2016). Para la prueba de distribución normal se usó la función *shapiro.test* del paquete *stats* (Adler 2010). Para los meta-análisis se empleó el paquete *Metafor* 2.0-0 mediante las funciones *escalc* para el cálculo de tamaños de efectos, *rma* para el ajuste de modelos lineales, *permutest* para la prueba de permutación y *regtest* y *trimfill* para la prueba de regresión de Egger para la evaluación de la asimetría de la data y para el correspondiente análisis de *Corte y Relleno*, respectivamente (Viechtbauer 2010, 2017). Asimismo, *readxl* 1.3.0 (Wickham y Bryan 2019) y *dplyr* 0.7.6 (Wickham *et al.* 2018) para el acceso y manipulación de la data, respectivamente; y *abind* 1.4-5 para el manejo de matrices y vectores (Plate y Heiberger 2016).

3.3 EVALUACIÓN 3: RELACIONES CUANTITATIVAS ENTRE HISTOLOGÍA INTESTINAL, ENERGÍA METABOLIZABLE APARENTE Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDE

3.3.1 Estrategia general

En la presente evaluación se desarrolló una nueva técnica de meta-análisis, consistente en establecer la relación entre dos variables, pero empleando como data disponible los tamaños de los efectos de las diferencias de medias, provenientes de experimentos donde los factores en evaluación fueron diversos (Martinez *et al.* 2019b). Ello, con el objetivo de generar inferencias con mayor alcance y conclusiones no limitadas a un único factor en estudio (Ramsey y Schafer 2013).

3.3.2 Origen y organización de la data

Para obtener la data necesaria se realizó búsquedas de artículos científicos en bases de datos (Web of Science, Scopus, Microsoft Academic, Science Direct, PubMed,

Academia, ResearchGate y Google Académico) con criterios que combinaron palabras clave en inglés (“villus”, “villa”, “crypt”, “histology”, “villus height”, “metabolizability”, “apparent metabolizable energy”, “digestibility”, “utilization”, “retention”, “feed efficiency”, “weight”, “broiler”, “chicken”), en español (“vellosidad”, “cripta”, “histología”, “digestibilidad”, “utilización”, “retención”, “eficiencia alimentaria”, “eficiencia alimenticia”, “conversión”, “pollo”) o en portugués (“vilosidade”, “cripta”, “histología”, “digestibilidade”, “utilização”, “retenção”, “energia metabolizável”, “eficiência alimentar”, “conversão”, “peso”, “frango”) y se empleó aquellos que cumplieron los siguientes criterios de inclusión:

- Estar publicado en una revista científica indexada y revisada por pares.
- Presentar resultados de un experimento y no de un estudio observacional (Ramsey y Schafer 2013), meta-análisis o artículo de revisión.
- Haber empleado pollos de engorde como material de estudio.
- Presentar resultados obtenidos de aVE y pCR tanto en el duodeno (**DU**), como en el yeyuno (**YE**) y el íleon (**IL**); así como del valor de la energía metabolizable aparente del alimento determinado experimentalmente (**EMA**), de la ganancia de peso corporal (**GPC**) y de la conversión alimentaria (**CAL**), todos estos obtenidos en un mismo experimento.
- Presentar, para cada variable de respuesta, el valor promedio observado en cada tratamiento, el número de repeticiones empleadas y un valor de variabilidad aplicable a cada tratamiento (error estándar de la media, desviación estándar o coeficiente de variabilidad).
- No incluir la aplicación de un factor específico que pudiera afectar la salud intestinal y que este efecto sea previsible por su naturaleza biológica o química, como inóculos de bacterias patógenas o micotoxinas. Están exceptuados de esta condición aquellos casos en que se trate de un factor de desafío aplicado al grupo control y en que mediante los tratamientos se evalúen posibles estrategias de mitigación de daños. Un ejemplo de esta excepción es la administración de un inóculo de *Clostridium perfringens* a un grupo control positivo no tratado, pero también a los tratamientos que incluyen la administración de un aditivo para el control de dicho patógeno).

Se elaboró una base de datos en una hoja de cálculo donde cada fila constituyó un conjunto de datos independiente e incluyó toda la data correspondiente a una comparación de dos tratamientos de un mismo experimento en una misma edad. Así, de un mismo experimento se obtuvo tantos conjuntos de datos como comparaciones no redundantes entre tratamientos se observó; es decir, $(n - 1) \times d$ comparaciones, donde n es el número de tratamientos y d el número de periodos de evaluación. Cada registro incluyó:

- Datos de identificación del experimento (autores, año, revista).
- Identificación y descripción de los tratamientos comparados.
- Valores reportados para cada variable de respuesta en los tratamientos que conformaron la comparación, número de repeticiones empleadas y valores de variabilidad. Si el artículo no reportó los valores observados de la relación entre la altura de la velloidad y la profundidad de la cripta, estos fueron calculados a partir de ambas variables. Asimismo, a partir de los indicadores de variabilidad se calculó los valores de desviación estándar aplicables a cada tratamiento que conformó cada comparación. Para ello se consideró que $SEM = SD/\sqrt{n}$, donde SEM es el error estándar de la media, SD la desviación estándar y n el número de repeticiones (Barde y Barde 2012).
- Condiciones que pudieron influir en la respuesta a los tratamientos en histología intestinal, energía metabolizable y comportamiento productivo.

3.3.3 Proceso de análisis de la data

3.3.3.1 Comprobación de la validez de la data mediante meta-análisis

Para el análisis se empleó las estrategias y variables indicadas en los Cuadros 3 y 4, respectivamente, y la idoneidad de la data, necesaria para el desarrollo de los modelos, se evaluó considerando como indicadores favorables la existencia de heterogeneidad (prueba Q de Cochran; $P < 0.01$) (Hedges y Olkin 1985) y la ausencia de sesgos ($P > 0.05$) con la prueba de Egger (Egger *et al.* 1997). Así, la heterogeneidad para cada variable de respuesta se determinó empleando el siguiente modelo aditivo lineal de efectos aleatorios (Viechtbauer 2010):

Cuadro 3: Estrategias empleadas para determinar las relaciones entre histología intestinal, energía metabolizable aparente y comportamiento productivo de pollos de engorde

Objetivo	Estrategia para el análisis de datos	
	Variable de respuesta	Variables moderadoras
Determinar cómo se relacionan los cambios en las características histológicas del intestino con los cambios en el valor observado de energía metabolizable del alimento.	Tamaño del efecto (kcal/kg) en el valor observado de energía metabolizable aparente del alimento.	- Cambios (%) en cada una de las características histológicas del intestino ¹ .
Determinar cómo se relacionan los cambios en las características histológicas del intestino y en el valor observado de energía metabolizable del alimento con los cambios en la ganancia de peso corporal.	Tamaño del efecto (g/d) en la ganancia de peso corporal.	- Cambios (%) en cada una de las características histológicas del intestino ¹ . - Cambio (%) en el valor observado de energía metabolizable aparente del alimento.
Determinar cómo se relacionan los cambios en las características histológicas del intestino, en el valor observado de energía metabolizable del alimento y en la ganancia de peso corporal con la conversión alimentaria.	Tamaño del efecto (g/g) en la conversión alimentaria.	- Cambios (%) en cada una de las características histológicas del intestino ¹ . - Cambio (%) en el valor observado de energía metabolizable aparente del alimento. - Cambio (%) en la ganancia de peso corporal.

¹ Incluye un conjunto de 12 variables histológicas: altura de la vellosidad intestinal, profundidad de la cripta y la relación entre ambas, cada una de ellas medida en el duodeno, yeyuno e ileon y un valor promedio de las tres secciones intestinales.

Cuadro 4: Variables empleadas para determinar las relaciones entre histología intestinal, energía metabolizable aparente y comportamiento productivo de pollos de engorde

Aspecto	Como variable moderadora		Como variable de respuesta	
	Nombre de la variable	Símbolo	Nombre de la variable	Símbolo
Altura de la vellosidad	Cambio (%) en la altura de la vellosidad en el duodeno	ΔaVE_{DU}	-	-
	Cambio (%) en la altura de la vellosidad en el yeyuno	ΔaVE_{YE}	-	-
	Cambio (%) en la altura de la vellosidad en el íleon	ΔaVE_{IL}	-	-
	Cambio (%) en la altura promedio de la vellosidad	ΔaVE_{PR}	-	-
Profundidad de la cripta	Cambio (%) en la profundidad de la cripta en duodeno	ΔpCR_{DU}	-	-
	Cambio (%) en la profundidad de la cripta en yeyuno	ΔpCR_{YE}	-	-
	Cambio (%) en la profundidad de la cripta en íleon	ΔpCR_{IL}	-	-
	Cambio (%) en la profundidad promedio de la cripta	ΔpCR_{PR}	-	-
Relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta	Cambio (%) en la relación vellosidad-cripta en duodeno	ΔRVC_{DU}	-	-
	Cambio (%) en la relación vellosidad-cripta en yeyuno	ΔRVC_{YE}	-	-
	Cambio (%) en la relación vellosidad-cripta en el íleon	ΔRVC_{IL}	-	-
	Cambio (%) en la relación promedio vellosidad-cripta	ΔRVC_{PR}	-	-
Energía metabolizable	Cambio (%) en EMA	ΔEMA	Tamaño del efecto (kcal/kg) en EMA	T_{EEMA}
Ganancia de peso	Cambio (%) en GPC	ΔGPC	Tamaño del efecto (g/d) en GPC	T_{EGPC}
Conversión alimentaria	-	-	Tamaño del efecto (g/g) en CAL	T_{ECAL}

$$y_i = \mu + u_i + e_i; \quad i = 1, \dots, k$$

siendo que $u_i \sim N(0, \tau^2)$ y $e_i \sim N(0, v_i)$ y ambos de forma independiente, donde:

y_i es el valor observado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio y, además,

$$y_i = \theta_i + e_i; \quad \text{donde:}$$

θ_i es el verdadero efecto (desconocido) en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

u_i desviación inter-experimental, respecto al tamaño del efecto global, en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

k es el número de estudios o estimados independientes del tamaño del efecto.

N denota la distribución normal que tienen la desviación aleatoria inter-experimental (u) y el error de muestreo intra-experimental (e).

τ^2 indica la heterogeneidad (variabilidad existente entre los verdaderos efectos).

v_i es la varianza de muestreo conocida (aproximadamente) del estimado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio.

Para ajustar el modelo se empleó el método de Mínimos Cuadrados Ponderados (Viechtbauer 2010) que implica que el modelo ajustado provee un estimado de

$$\bar{\theta}_w = \frac{\sum w_i \theta_i}{\sum w_i};$$

donde:

$\bar{\theta}_w$ es el verdadero tamaño del efecto promedio ponderado.

w_i es el peso empleado como factor de ponderación.

θ_i es el verdadero tamaño del efecto en el i -ésimo estudio.

es decir que $\bar{\theta}_w$ es el promedio ponderado de los verdaderos efectos (θ_i) en el conjunto de k estudios, con pesos iguales a la inversa de las correspondientes varianzas ($w_i = 1/v_i$). En adelante, el tamaño del efecto global se referirá como \mathbf{T}_E .

Luego, la heterogeneidad (τ^2) fue estimada con el método de Máxima Verosimilitud Restringida (*Restricted Maximum Likelihood, REML*) (López-López *et al.* 2014, Veroniki *et al.* 2016), su intervalo de confianza y los de sus indicadores (I^2 y H^2)

utilizando el método Perfil-Q (Viechtbauer 2007) y los niveles de significancia estadística de la heterogeneidad con pruebas chi-cuadrado (Bougouin *et al.* 2014). En los correspondientes diagramas de bosque se presenta el tamaño del efecto global (centro del rombo) y sus intervalos de confianza (**IC**_{95%}; ancho del rombo) y de predicción (**IP**_{95%}; línea horizontal que atraviesa el rombo), ambos al 95%.

Por otro lado, la presencia de sesgo se evaluó generando el gráfico de embudo (Viechtbauer 2010), que ilustra la distribución de la data por tamaños de los efectos y precisión de cada estudio (Sterne y Egger 2001, Zwetsloot *et al.* 2017), y se aplicó la prueba de regresión de Egger para determinar su asimetría y, en consecuencia, sesgo positivo (Egger *et al.* 1997). Luego, se realizó el análisis de Corte y Relleno para estimar los valores que compensaran desbalances en la distribución y, de ser así, se determinó su magnitud e influencia sobre el tamaño del efecto global (Duval 2005). Entonces, cada variable eventualmente contó con dos series de tamaños de efectos:

dO: conjunto de tamaños de los efectos obtenidos a partir de la data recopilada.

dA: conjunto de tamaños de los efectos que incluyó, además, los valores estimados mediante la prueba de Corte y Relleno.

Finalmente, se consideró relevante el sesgo si la prueba de Egger fue significativa ($P < 0.05$) y si los **IC**_{95%} de los tamaños de los efectos globales calculados con la data ajustada (dA) y con la data original (dO) no estuvieron superpuestos.

La distribución normal de los residuos de los modelos aleatorios se evaluó con la prueba de Shapiro-Wilk (distribución normal si $P > 0.05$) (Adler 2010), el gráfico de cuantiles normales (Mangiafico 2015, p. 216-228) y el histograma de distribución.

Una vez que se comprobó heterogeneidad significativa ($P < 0.01$) en los tamaños de los efectos globales de cada variable de respuesta y ausencia de sesgos ($P > 0.05$), entonces la data se consideró apropiada para el análisis mediante meta-regresión.

3.3.3.2 Análisis general mediante meta-regresión

El proceso general de modelación se llevó a cabo aplicando una adaptación del proceso realizado por (Bougouin *et al.* 2014), tal como se indica a continuación.

Se empleó, para todos los casos, el siguiente modelo aditivo lineal de efectos mixtos (Viechtbauer 2010, 2017):

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \dots + \beta_p x_{ip} + u_i + e_i; \quad i = 1, \dots, k; \quad j = 1, \dots, p$$

siendo que $u_i \sim N(0, \tau^2)$ y $e_i \sim N(0, \nu_i)$ y ambos de forma independiente, donde:

y_i es el valor observado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio y, además,

$$y_i = \theta_i + e_i; \text{ donde:}$$

θ_i es el verdadero efecto (desconocido) en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

β_0 es el intercepto.

β_j es la pendiente de la recta correspondiente a la j -ésima variable moderadora cuando el valor de todas las demás es cero y denota el cambio en el tamaño del efecto promedio cuando x_{ij} se incrementa en una unidad.

x_{ij} es el valor de la j -ésima variable moderadora en el i -ésimo estudio.

u_i es la desviación aleatoria inter-experimental, respecto al tamaño del efecto global, en el i -ésimo estudio.

e_i es el error de muestreo intra-experimental en el i -ésimo estudio.

k es el número de estudios o estimados independientes del tamaño del efecto.

p es el número de variables moderadoras.

N denota la distribución normal que tienen la desviación aleatoria inter-experimental (u) y el error de muestreo intra-experimental (e).

τ^2 indica la heterogeneidad residual no explicada por las variables moderadoras.

ν_i es la varianza de muestreo conocida (aproximadamente) del estimado del tamaño del efecto en el i -ésimo estudio.

Siendo ajustado con el método Mínimos Cuadrados Ponderados (Viechtbauer 2010).

Asimismo, el *estadístico* pseudo-R² (**pR²**) (Borenstein *et al.* 2009c; Raudenbush 2009), o poder predictivo del modelo (López-López *et al.* 2014) definido como el porcentaje de la heterogeneidad total explicable por las variables moderadoras incluidas en el modelo, fue determinado empleando la siguiente fórmula:

$$pR^2 = \frac{\hat{t}_{EA}^2 - \hat{t}_{EM}^2}{\hat{t}_{EA}^2};$$

donde:

\hat{t}_{EA}^2 es la heterogeneidad total estimada mediante el modelo de efectos aleatorios.

\hat{t}_{EM}^2 es la heterogeneidad residual estimada mediante el modelo de meta-regresión.

Los valores e indicadores de heterogeneidad se obtuvieron con los métodos referidos en el acápite “*Comprobación de la validez de la data mediante meta-análisis*” en la sección *Materiales y Métodos*.

De esta forma, se construyó tantos modelos de efectos mixtos como variables explicatorias individuales se consideró pertinente, de forma tal que cada modelo contase con una única variable explicatoria diferente.

Posteriormente, se seleccionó aquellas variables que mostraron efectos significativos ($P < 0.10$) al ser contempladas individualmente (Hox 2010b; Bougouin *et al.* 2014) y luego se ajustó modelos mixtos completos con las variables explicatorias seleccionadas (Hox 2010b), empleando un procedimiento manual (Mangiafico 2015, p. 216-228) y considerando como criterios de multicolinealidad la relación biológica entre las variables seleccionadas (Gordon 1968) y, aunque de forma no automáticamente excluyente (Quinn y Keough 2002, Greene 2003), coeficientes de correlación de Pearson mayores de 0.30 (Ishihara *et al.* 2017) entre ellas. De ser el caso, para reducir la multicolinealidad se optó por eliminar variables predictoras, comenzando por aquella cuya relación con la variable de respuesta fue más débil (Quinn y Keough 2002) o por emplear una variable derivada que incluya las variables correlacionadas (Imdadullah *et al.* 2016).

Finalmente, como criterios para la selección de modelos se empleó la estabilidad que entre los diferentes modelos presentaron tanto los coeficientes estimados para las

variables moderadoras (Quinn y Keough 2002) como sus probabilidades (Imdadullah *et al.* 2016), así como los valores de pR^2 (Meloche *et al.* 2014, Imdadullah *et al.* 2016) y los criterios de información Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC) (Hox 2010a).

3.3.4 Programas y recursos informáticos empleados

La data se procesó empleando diversos paquetes en lenguaje de programación R versión 3.5.2 (R Core Team 2018) con RStudio 1.1.456 como interfase (RStudio Team 2016). Para la prueba de bondad de ajuste a la distribución normal y el ploteo del gráfico de cuantiles normales se empleó el paquete *stats* mediante las funciones *shapiro.test* y *qqnorm*, respectivamente (Adler 2010). Para las rutinas de meta-análisis se empleó el paquete *Metafor* 2.0-0 mediante las funciones *escalc* para el cálculo de los tamaños de los efectos, *rma* para el ajuste de modelos lineales, *permutest* para la prueba de permutación, *forest* y *funnel* para generar gráficos de bosque y embudo, respectivamente, y *regtest* y *trimfill* para la prueba de regresión de Egger para la asimetría del gráfico de embudo y para el correspondiente análisis de Corte y Relleno, respectivamente (Viechtbauer 2010, 2017). Asimismo, *readxl* 1.3.0 (Wickham y Bryan 2019) y *dplyr* 0.7.6 (Wickham *et al.* 2018) para el acceso y manipulación de la data, respectivamente; y *abind* 1.4-5 para el manejo de matrices y vectores (Plate y Heiberger 2016), *lattice* 0.20-38 para el ploteo de los gráficos matriciales de dispersión (Sarkar 2008), *RColorBrewer* 1.1-2 (Neuwirth 2014) y *scales* 1.0.0 (Wickham 2018) para el manejo de las opciones gráficas, *PerformanceAnalytics* 1.5.2 para el cálculo de la tabla de matriz de correlación mediante la función *chart.Correlation* (Peterson *et al.* 2018) y *corrplot* 0.84 para la visualización de la matriz de correlación de Pearson con métodos mixtos mediante la función *corrplot.mixed* (Wei *et al.* 2017).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EVALUACIÓN 1: META-ANÁLISIS DEL USO DE UN ADITIVO FITOGÉNICO AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDE

Publicado en *International Journal of Poultry Science* 19(11):513-523, 2020.

Presentado como abstract: *Poultry Science* (2018) 97 (E-Suppl. 1) N° P270, p. 241.

Los resultados obtenidos en los experimentos independientes en cada una de las variables de respuesta evaluadas se presentan en el Cuadro 5 y los promedios de cada unidad experimental en los Anexos 1 y 2. Los resultados de la presente evaluación se encuentran publicados parcialmente en Martínez y Vilchez (2018a) y Martínez *et al.* (2020c). Los resultados obtenidos en cada experimento de forma independiente no permiten establecer ($P > 0.12$) que el producto ejerza algún efecto sobre las variables evaluadas aun cuando en los experimentos EX6, EX5 y EX1 se observaron diferencias de +5.28, -4.50 y +6.65% en el peso corporal, conversión alimentaria y eficiencia productiva, respectivamente.

Por otro lado, en el Cuadro 6 se presentan los resultados de los meta-análisis y en las Figuras 1 a 10 los diagramas de bosque y embudo de las cinco variables de respuesta evaluadas. Si bien la prueba de Corte y Relleno estimó valores faltantes para peso corporal (Figura 2), consumo de alimento (Figura 4) y mortalidad (Figura 8), se observó que los intervalos de confianza de los tamaños de los efectos globales empleando o no los valores estimados (dA y dO, respectivamente) se mostraron superpuestos (Cuadro 6), no indicando existencia de sesgos relevantes al considerarse réplicas (Greenwald *et al.* 1996). Asimismo, la prueba de Egger no mostró sesgos ($P > 0.50$). Por ello, en adelante solo se empleó la data original.

Cuadro 5: Comportamiento productivo de pollos de 42 días de edad alimentados con un aditivo fitogénico en nueve experimentos

Tratamiento ¹	Experimentos ²								
	EX1	EX2	EX3	EX4	EX5	EX6	EX7	EX8	EX9
Peso corporal, kg/ave									
T1	2.632	3.132	2.878	2.821	2.924	2.880	2.700	2.897	2.859
T2	2.708	3.221	2.943	2.751	3.038	3.032	2.665	2.939	2.825
Diferencia, %	2.88	2.85	2.26	-2.48	3.89	5.28	-1.28	1.48	-1.19
Probabilidad	0.658	0.583	0.728	0.653	0.299	0.129	0.775	0.634	0.771
SEM ³	0.194	0.248	0.251	0.176	0.179	0.122	0.106	0.102	0.102
Consumo de alimento, kg/ave									
T1	4.786	5.511	4.966	4.974	5.067	5.195	4.891	5.047	4.928
T2	4.767	5.769	4.906	4.740	5.037	5.378	4.859	5.034	4.728
Diferencia, %	-0.40	4.67	-1.21	-4.70	-0.59	3.53	-0.66	-0.25	-4.06
Probabilidad	0.966	0.473	0.772	0.125	0.878	0.258	0.612	0.919	0.301
SEM ³	0.516	0.541	0.281	0.148	0.334	0.207	0.054	0.139	0.144
Conversión alimentaria									
T1	1.821	1.765	1.731	1.766	1.736	1.807	1.814	1.744	1.727
T2	1.754	1.787	1.669	1.726	1.658	1.775	1.824	1.715	1.674
Diferencia, %	-3.69	1.22	-3.55	-2.23	-4.50	-1.78	0.55	-1.68	-3.06
Probabilidad	0.481	0.772	0.252	0.559	0.151	0.647	0.867	0.734	0.671
SEM ³	0.107	0.114	0.068	0.076	0.087	0.093	0.053	0.097	0.108
Mortalidad⁴, %									
T1	3.923	2.000	4.280	4.517	6.250	4.650	4.235	3.817	3.960
T2	3.727	2.500	4.298	4.147	8.333	4.345	3.590	3.600	4.110
Diferencia, %	-5.01	25.00	0.41	-8.19	33.33	-6.56	-15.23	-5.68	3.79
Probabilidad	0.513	0.650	0.773	0.513	0.575	0.309	0.439	0.376	1.000
SEM ³	0.683	1.936	0.701	0.564	6.654	0.552	0.731	0.503	0.497
Índice de eficiencia productiva⁵									
T1	331.7	416.1	380.7	364.1	378.8	363.7	340.1	381.5	380.6
T2	353.8	419.3	402.7	365.2	399.8	389.3	335.5	394.8	385.6
Diferencia, %	6.65	0.76	5.80	0.33	5.55	7.03	-1.35	3.51	1.31
Probabilidad	0.348	0.912	0.539	0.972	0.462	0.262	0.866	0.658	0.905
SEM ³	25.42	43.68	47.97	39.02	47.56	29.19	23.90	34.32	37.12

¹ Tratamientos: T1, dieta control no suplementada con el producto; T2, dieta del T1 suplementada con el producto (dosis = 0.05%) de 1 a 42 días.

² 3, 5, 4, 3, 6, 4, 2, 3 y 2 repeticiones en los experimentos EX1 a EX9, respectivamente.

³ SEM = error estándar de la media.

⁴ Datos analizados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

⁵ Índice de eficiencia productiva = [peso corporal (kg) x supervivencia (%) × 100] / [conversión alimentaria × edad].

Cuadro 6: Meta-análisis del comportamiento productivo de pollos de engorde alimentados con un aditivo fitogénico

Criterio	Variables de respuesta ¹				
	Peso corporal, kg/ave	Consumo, kg/ave	Conversión alimentaria	Mortalidad, %	Índice de eficiencia productiva
Tamaño del efecto global del uso del producto con los datos actuales					
Efecto estimado	+0.0393	-0.0540	-0.0346	-0.1818	+12.3836
IC _{95%} ²	-0.0198 a +0.0983	-0.1432 a +0.0352	-0.0686 a -0.0006	-0.4655 a +0.1019	-1.7088 a +26.4761
Probabilidad ³	0.1928	0.2355	0.0460	0.0938*	0.0850
Sesgo					
Probabilidad ³	0.7885	0.5079	0.7836	0.5026	0.9154
Tamaño del efecto global con los datos estimados por la prueba de Corte y Relleno					
Efecto estimado	+0.0011	-0.0902	-0.0346	-0.1857	+12.3836
IC _{95%} ²	-0.0644 a +0.0622	-0.1917 a +0.0112	-0.0686 a -0.0006	-0.4691 a +0.0978	-1.7088 a +26.4761
Normalidad de los residuos del modelo					
Probabilidad ⁴	0.5850	0.2996	0.4190	0.0082**	0.2377
Heterogeneidad					
Probabilidad ³	0.6483	0.2344	0.8746	0.9272	0.9611

¹ Todas las variables, en todos los experimentos, fueron evaluadas a los 42 días de edad.

² IC_{95%} = intervalo de confianza al 95%.

³ Valores de P < 0.05 indican que el efecto global, sesgo (prueba de Egger) o heterogeneidad es estadísticamente significativo, según corresponda.

⁴ Valores de P < 0.05 indican que existe evidencia estadísticamente significativa de una distribución no normal.

* Probabilidad estimada mediante la prueba de permutación por observarse distribución no normal.

** Distribución no normal explicable por valores atípicos en el EX5, en que se empleó 8 aves por unidad experimental y, por lo tanto, un ave muerta representó el 12.5%.

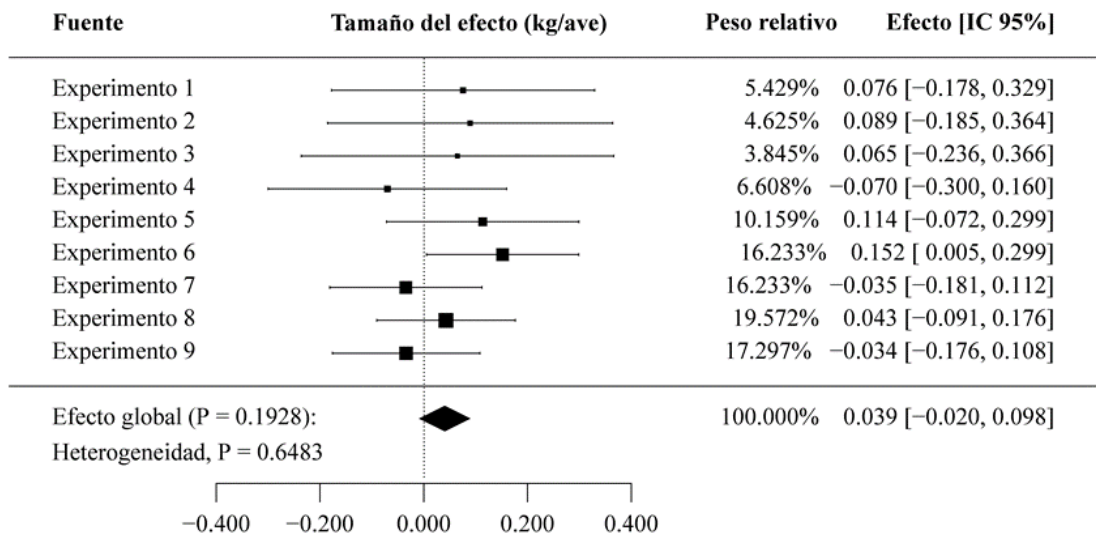


Figura 1: Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el peso corporal de pollos de engorde de 42 días de edad

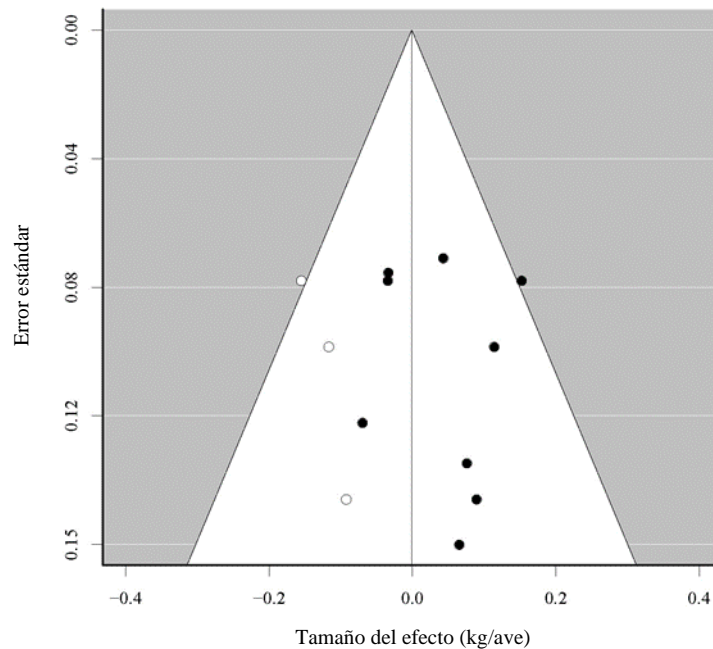


Figura 2: Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el peso corporal de pollos de engorde de 42 días de edad

* Cada círculo corresponde a un experimento. Valores con círculos blancos fueron estimados como faltantes mediante la prueba de Corte y Relleno.

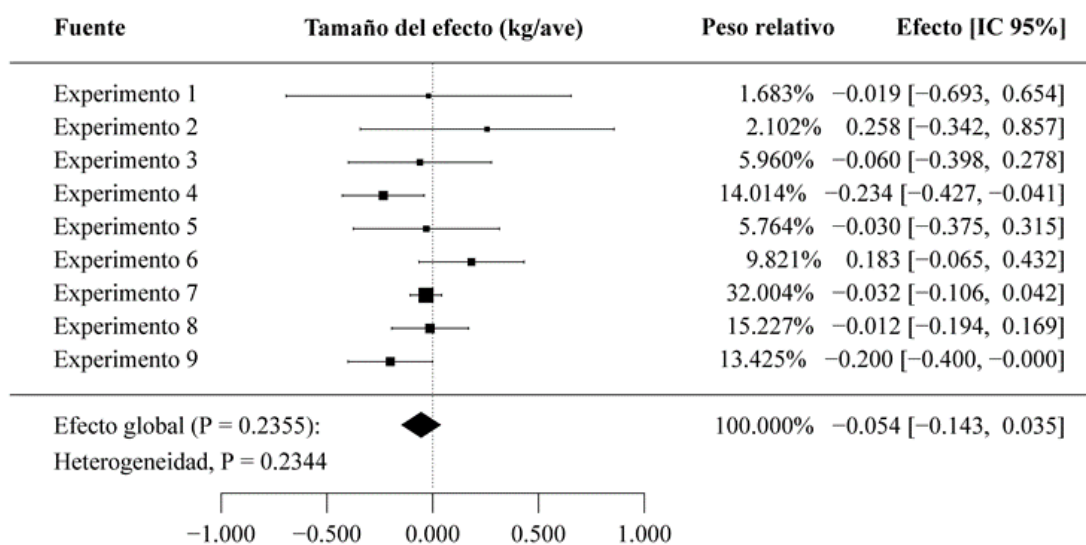


Figura 3: Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el consumo de alimento de pollos de engorde de 42 días de edad

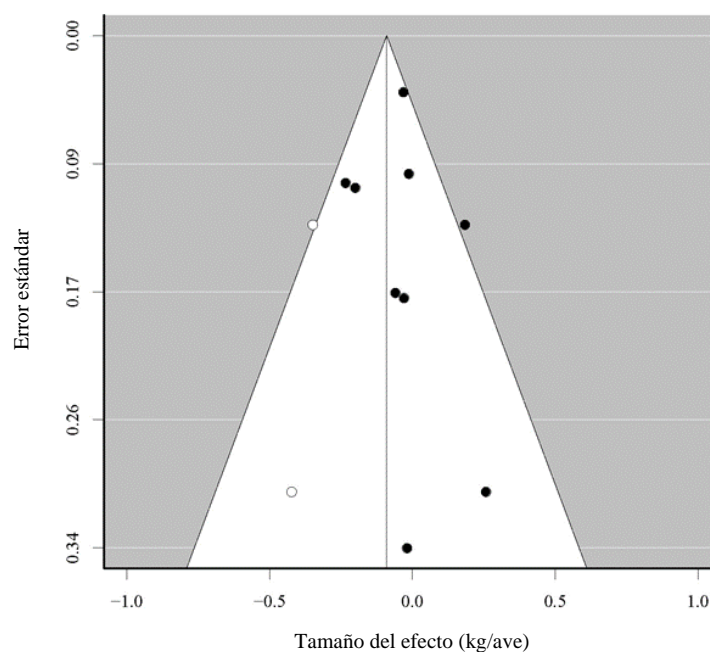


Figura 4: Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el consumo de alimento de pollos de engorde de 42 días de edad

* Cada círculo corresponde a un experimento. Valores con círculos blancos fueron estimados como faltantes mediante la prueba de Corte y Relleno.

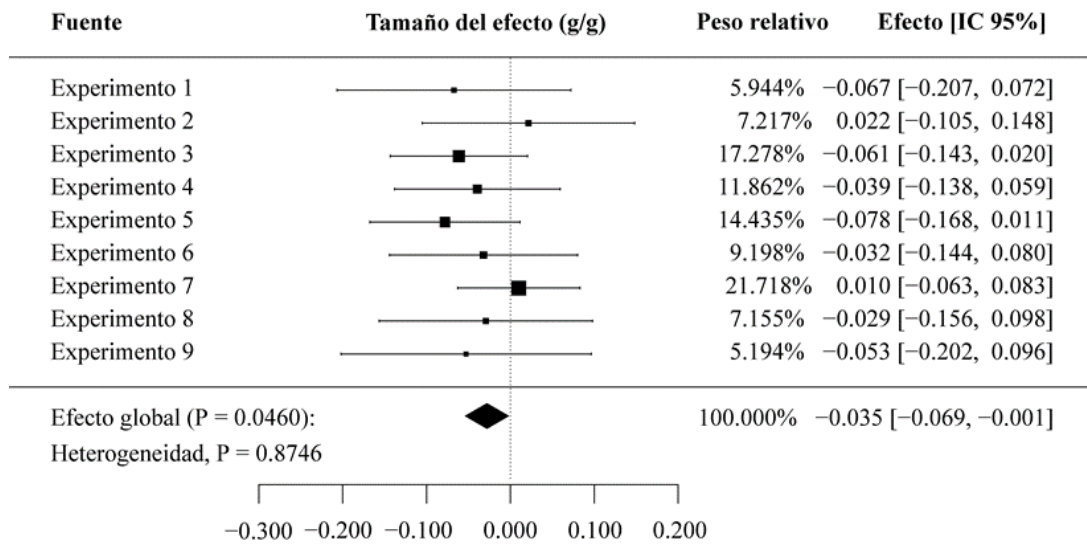


Figura 5: Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre la conversión alimentaria de pollos de 42 días de edad

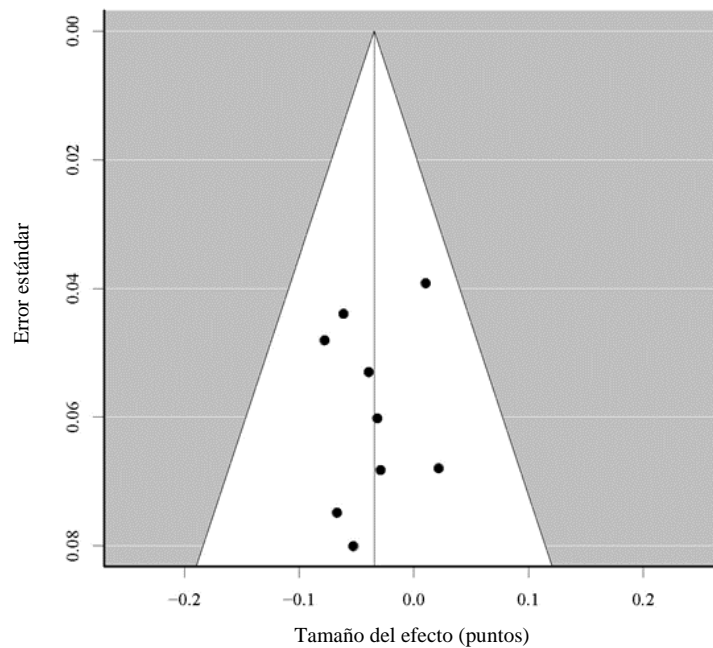


Figura 6: Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre la conversión alimentaria de pollos de 42 días de edad

* Cada círculo corresponde a un experimento. La prueba de Corte y Relleno no arrojó valores faltantes.

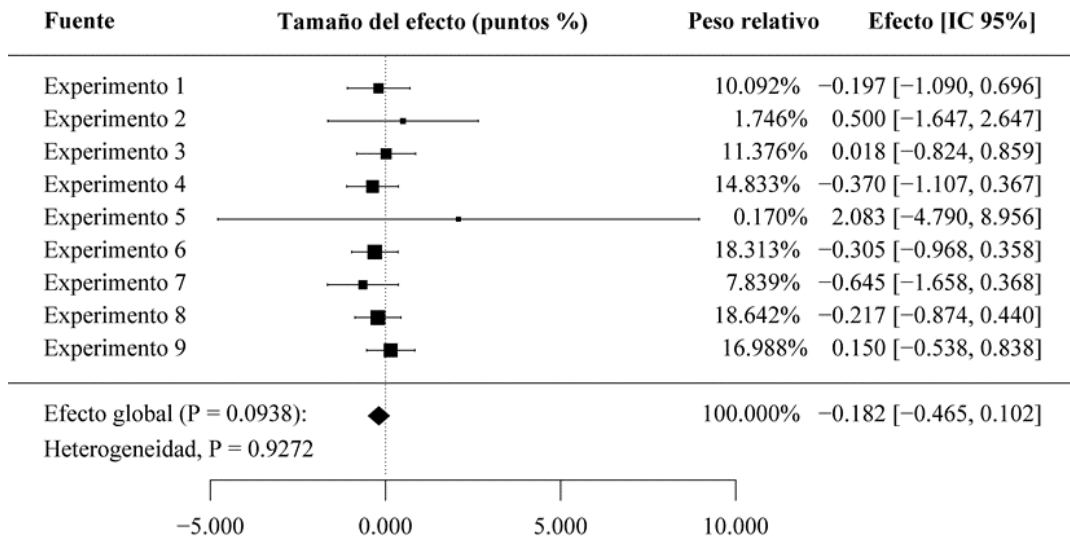


Figura 7: Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre la mortalidad de pollos de engorde de 42 días de edad

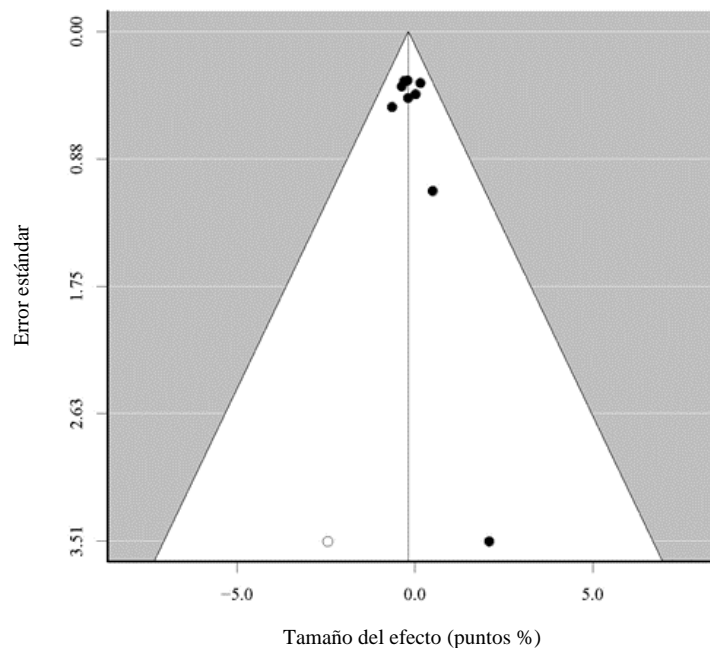


Figura 8: Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre la mortalidad de pollos de engorde de 42 días de edad

* Cada círculo corresponde a un experimento. Valores con círculos blancos fueron estimados como faltantes mediante la prueba de Corte y Relleno.

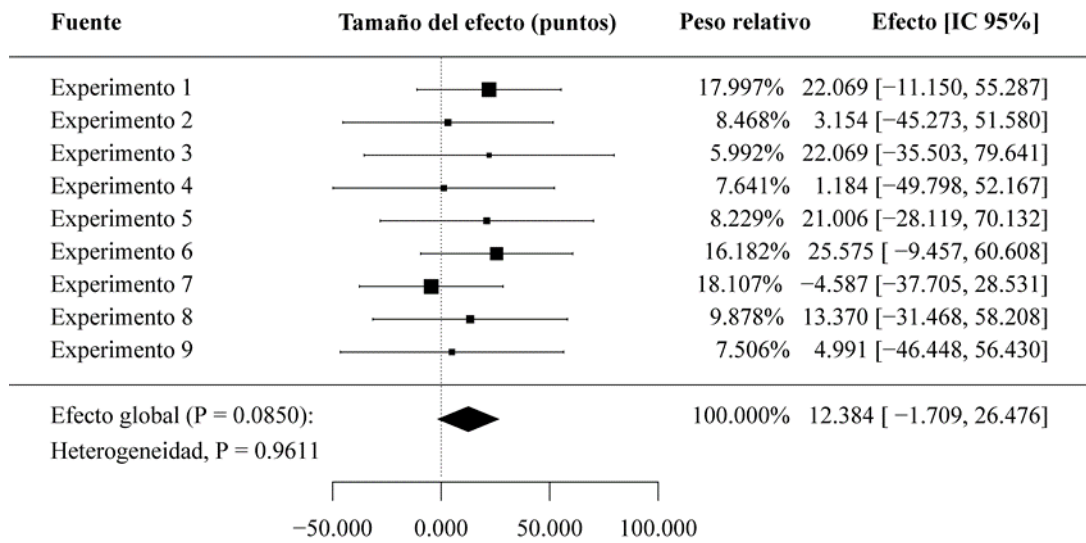


Figura 9: Diagrama de bosque de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el índice de eficiencia productiva de pollos de 42 días de edad

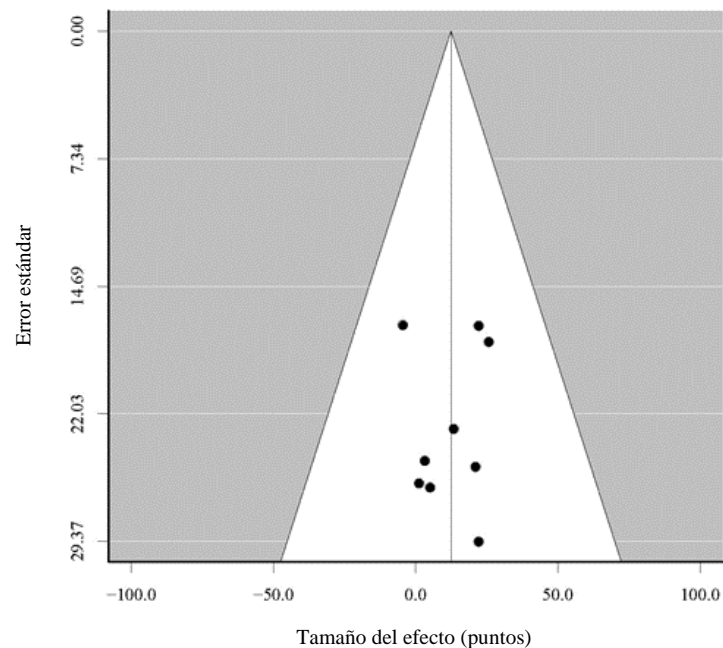


Figura 10: Diagrama de embudo de los tamaños de los efectos de un aditivo fitogénico sobre el índice de eficiencia productiva de pollos de 42 días de edad

* Cada círculo corresponde a un experimento. La prueba de Corte y Relleno no arrojó valores faltantes.

Por otro lado, la prueba de Cochran no mostró heterogeneidad estadísticamente significativa ($P > 0.23$) en las variables evaluadas. Sin embargo, los resultados de la prueba de Shapiro-Wilk indicaron distribuciones no normales ($P > 0.05$) en la mortalidad, por lo que únicamente éstos se analizaron nuevamente empleando la prueba de permutación (Follmann y Proschan 1999; Higgins y Thompson 2004) para el cálculo de la probabilidad respecto al tamaño del efecto global.

Los resultados de los meta-análisis no mostraron efectos globales estadísticamente significativos en el peso corporal ($P > 0.19$), consumo de alimento ($P > 0.23$), mortalidad ($P > 0.09$) ni en el índice de eficiencia productiva ($P > 0.08$), pero sí en la conversión alimentaria ($P < 0.046$; efecto = -3.5 puntos a favor de las aves alimentadas con el aditivo). Asimismo, el intervalo de confianza al 95% de dicho efecto (-0.0686 a -0.0006 puntos menor conversión alimentaria) indica que el verdadero efecto global es favorable, reduciendo la conversión alimentaria.

Si bien ninguno de los experimentos independientes mostró efectos significativos en las variables estudiadas ($P > 0.05$) esto no debe interpretarse como que el producto evaluado no produce efecto alguno sobre dichas variables de respuesta. Al respecto, bajo el enfoque dicotómico de Neyman-Pearson, una probabilidad (P valor) alta (mayor al nivel de significancia α preestablecido) en una prueba de hipótesis de la diferencia de dos medias, determina que la hipótesis nula (que ambas medias son iguales) debe ser taxativamente aceptada como cierta. Sin embargo, el enfoque de Fischer considera la probabilidad P como una medida continua de fortaleza de la evidencia (Dragicevic 2016) y refiere que la ausencia de un efecto estadísticamente significativo podría solo indicar que, si tal efecto existe es muy pequeño como para poder ser detectado por experimentos del tamaño empleado (Salsburg 2001).

Así, en el presente análisis se observa cómo el meta-análisis de los resultados obtenidos en diferentes experimentos puede favorecer la probabilidad de detectar un efecto, no evidente en experimentos independientes, cuando este realmente existe. Al respecto, Cohn y Becker (2003) y Borenstein *et al.* (2009e) indican que si bien en los meta-análisis realizados empleando modelos aleatorios no se garantiza que la inclusión de un estudio adicional incremente el poder estadístico del análisis –a

diferencia de aquellos realizados empleando modelos fijos–, en general sí se incrementa el poder estadístico respecto a los estudios independientes. Esto resulta particularmente útil cuando la variable de respuesta crítica en un experimento es la conversión alimentaria, pues habitualmente un efecto porcentualmente pequeño, incluso menor al 2%, es suficiente para justificar ampliamente que el productor avícola tome una decisión favorable respecto a una estrategia nutricional.

Una vez obtenidos los resultados de un meta-análisis es posible emplear el intervalo de confianza del tamaño del efecto para realizar un análisis costo-sensibilidad (Martinez y Uculmana 2016a, 2016b), aplicar esta misma técnica para determinar si la información provista por el proveedor es consistente con los resultados obtenidos en los experimentos realizados. Para ello se debe hacer un nuevo meta-análisis con los datos provistos por el proveedor –o un meta-análisis independiente con la nueva data– y comparar los tamaños de los efectos obtenidos en ambos casos, y si los intervalos de confianza al 95% de ambos análisis no están sobrepuestos entonces esto indicará que existe evidencia estadística ($P < 0.05$) para afirmar que ambos conjuntos de resultados no son réplicas entre sí (Greenwald *et al.* 1996) y que los resultados de ambos análisis son diferentes. Asimismo, es posible aplicar las pruebas de Egger y de Corte y Relleno para determinar la existencia de sesgo en la información recibida y si este es relevante.

4.2 EVALUACIÓN 2: META-ANÁLISIS DE ESTUDIOS SOBRE EL USO DE FITASAS E HISTOMORFOMETRÍA INTESTINAL EN POLLOS DE ENGORDE

Presentado como abstract: *Poultry Science* (2018) 97 (E-Suppl. 1) N° M21, p. 273.

4.2.1 Data empleada y características generales

Una base de datos consistente en 148 registros, incluyendo 2,704 muestras intestinales y 25,746 lecturas histológicas, fue elaborada a partir de 13 artículos científicos publicados en revistas indexadas y revisados por pares (Wu *et al.* 2004,

Pirgozliev *et al.* 2008, Lü *et al.* 2009, Smulikowska *et al.* 2010, Moemeni *et al.* 2011, Khodambashi *et al.* 2013, Nourmohammadi y Afzali 2013, Paiva *et al.* 2014, Saçaklı *et al.* 2015, da Silva *et al.* 2016, Mohammadagheri *et al.* 2016, Pekel *et al.* 2017, Sayuri *et al.* 2017), dos trabajos de tesis doctoral (Walk 2009, Lehman 2011) y uno de maestría (van Emmenes 2014), publicados entre 2004 y 2016. En los Anexos 3 a 5 se presentan las estadísticas de las variables empleadas en las meta-regresiones. Los resultados de la presente evaluación se encuentran publicados parcialmente en Martínez y Vilchez (2018b).

Se observaron sesgos estadísticamente significativos ($P < 0.05$) en los datos respecto al efecto del uso de las fitas *matrizadas* sobre la profundidad de la cripta y en los del uso de las fitas *on top* sobre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta (Cuadro 7); sin embargo, estos no fueron considerados relevantes pues, siguiendo las recomendaciones de Greenwald *et al.* (1996), los nuevos intervalos de confianza calculados para los T_E incluyendo los valores estimados por la prueba de Corte y Relleno presentaron, en todos los casos, intervalos de confianza superpuestos con los intervalos obtenidos con la data actual. Por ello, en adelante solo se empleó la data original.

4.2.2 Efecto de la reducción de fósforo

Los resultados del Cuadro 7 muestran que la reducción de **PD** está asociada a menores longitudes de las vellosidades ($T_E = -48.18 \mu\text{m}$; $P = 0.0030$) y relaciones vellosidad/cripta ($T_E = -0.258$; $P = 0.0140$). Sin embargo, se observó heterogeneidades entre los tamaños de los efectos entre estudios ($P < 0.0001$) para ambas variables ($I^2 = 84.32$ y 85.28% , respectivamente). Al respecto, se observó (Cuadro 8) aparentes influencias ($P < 0.05$) de algunas variables moderadoras; sin embargo, estas no fueron consideradas válidas no solo porque se demostró la existencia de relaciones lineales estadísticamente significativas entre los tamaños de los efectos y el número total de aves muestreadas (para T_E en aVE: $P = 0.0007$; $pR^2 = 36.7\%$) o el número de repeticiones empleadas (para T_E en pCR: $P = 0.0089$; $pR^2 = 94.3\%$) (para T_E en RVC: $P = 0.0070$; $pR^2 = 25.2\%$), sino porque también, se

Cuadro 7: Tamaños de los efectos globales del uso de fitasas sobre las características histológicas del intestino de pollos de engorde

Criterio	Variables de respuesta ¹		
	Altura de la vellosidad	Profundidad de la cripta	Relación entre ambas
<i>Efecto de la reducción en el nivel dietario de P disponible (PD)</i>			
Tamaño del efecto global IC _{95%} ² Probabilidad	-48.18 μm (-74.35, -22.01) P = 0.0030*	-1.412 μm (-4.675, 1.851) P = 0.3963	-0.258 (-0.448, -0.068) P = 0.0140*
Heterogeneidad, prueba Q τ I^2 H^2	P < 0.0001 51.5 μm 84.32% 6.38	P < 0.1832 3.36 μm 21.08% 1.27	P < 0.0001 0.332 85.28% 6.79
Sesgo: prueba de Egger ³ Sesgo: IC _{95%} ² superpuestos ⁴	P = 0.3782 Sí	P = 0.1281 Sí	P = 0.7088 Sí
<i>Efecto del uso de fitasas considerando sus matrices de PD (uso "matrizado")</i>			
Tamaño del efecto global IC _{95%} ² Probabilidad	-5.73 μm -19.85 a 8.40 P = 0.4500*	-0.897 μm -7.36 a 5.56 P = 0.7970*	0.0079 -0.177 a 0.193 P = 0.9333
Heterogeneidad, prueba Q τ I^2 H^2	P < 0.0001 31.06 μm 67.59% 3.09	P < 0.0001 17.4 μm 85.72% 7.01	P < 0.0001 0.485 93.60% 15.63
Sesgo: prueba de Egger ³ Sesgo: IC _{95%} ² superpuestos ⁴	P = 0.6869 Sí	P = 0.0115 Sí	P = 0.7992 Sí
<i>Efecto del uso de fitasas sin considerar sus matrices de PD (uso "on top")</i>			
Tamaño del efecto global IC _{95%} ² Probabilidad	-1.792 μm -6.583 a 3.000 P = 0.5700*	-4.227 μm -8.284 a -0.169 P = 0.0430*	0.177 0.054 a 0.300 P = 0.0060*
Heterogeneidad, prueba Q τ I^2 H^2	P < 0.0001 6.47 μm 47.52% 1.91	P < 0.0001 11.59 μm 92.66% 13.62	P < 0.0001 0.4016 88.56% 8.74
Sesgo: prueba de Egger ³ Sesgo: IC _{95%} ² superpuestos ⁴	P = 0.0017 Sí	P = 0.0053 Sí	P = 0.0967 Sí

¹ Variables de respuesta expresadas en términos de sus correspondientes tamaños de los efectos.

² IC_{95%} = Intervalo de confianza al 95%.

³ P < 0.05 en la prueba de Egger indica que se detectó la presencia de sesgo.

⁴ La relevancia del sesgo se determinó mediante la comparación de los intervalos de confianza de los valores de los tamaños de los efectos obtenidos a partir de la data original y los valores que incluyeron, además, los estimados como faltantes mediante la prueba de Corte y Relleno. Si ambos intervalos estuvieron superpuestos entonces el sesgo no se consideró relevante.

* Probabilidades obtenidas mediante una prueba de permutación.

Cuadro 8: Variables moderadoras de los efectos del uso de fitasas sobre las características histológicas del intestino de pollos¹

Variables moderadoras e indicadores de control	Efectos estimados ⁺ Probabilidades / Coeficientes pR ²		
	Altura de la vellosidad	Profundidad de la cripta	Relación entre ambas
<i>Efecto de la reducción en el nivel dietario de P disponible (PD)</i>			
Reducción (puntos %) en PD	1308.4 μm 0.0007 / 42.3%	-	13.64 <.0001 / 100%
% Ca en la dieta control	-	17.81 μm 0.0337 / 100%	-
Días de edad	-5.07 μm 0.0010* / 66.5%	-	-0.037 0.0020* / 100%
Aves muestreadas en total ²	-3.63 μm 0.0190* / 36.7%	-0.26 μm 0.0595 / 97.7%	-
Nº repeticiones ²	27.16 μm 0.0620* / 7.6%	-4.00 μm 0.0089 / 94.3%	0.36 0.0070* / 25.2%
<i>Efecto del uso de fitasas considerando sus matrices de PD (uso “matrizado”)</i>			
Reducción (puntos %) en PD	-	-93.35 0.0820* / 11.0%	-
Dosis (FTU/kg) de fitasa	-	-	0.0001 0.0280 / 16.3%
% Ca en la dieta control	-	-	1.58 0.0686 / 9.7%
% PD en la dieta control	-	-73.88 0.0950* / 9.8%	2.1431 0.0873 / 3.8%
Relación Ca/PD en dieta control	26.78 0.0790* / 30.7%	-	-
Nº repeticiones ²	-	-9.52 μm 0.0160* / 21.4%	0.25 0.0185 / 22.1%
<i>Efecto del uso de fitasas sin considerar sus matrices de PD (uso “on top”)</i>			
Relación Ca/PD en dieta control	43.85 μm 0.0450* / 74.3%	-	-
Días de edad	-	0.35 μm 0.0180* / 17.0%	-
Aves muestreadas en total ²	-	-	0.016 0.0180* / 17.0%
Nº repeticiones ²	-	-	0.029 0.0370* / 11.6%

¹ Se presentan solo variables moderadoras con influencia significativa ($P < 0.10$).

² Variables incluidas como criterios de control.

⁺ El efecto estimado es la pendiente de la recta obtenida mediante meta-regresión.

*

Probabilidades obtenidas mediante una prueba de permutación.

encontró correlaciones estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre el número de repeticiones y/o el número de aves muestreadas y dichas variables moderadoras.

Así, cuando el tamaño de muestra fue reducido (≤ 7 aves por tratamiento) se observó un efecto falso negativo. Al respecto, si bien no es posible validar la influencia de las variables moderadoras con aparente influencia estadísticamente significativa, la existencia de dicho efecto falso negativo y la elevada capacidad que muestra esta variable de control para explicar la heterogeneidad entre estudios (para aVE: $P = 0.0190$; $pR^2 = 36.37\%$) (para pCR: $P = 0.0595$; $pR^2 = 97.7\%$) permite no solo confirmar el efecto global negativo de la reducción de fósforo sobre la altura de la vellosidad y la relación vellosidad/cripta – aun cuando existe heterogeneidad entre estudios–, sino también prever que el verdadero tamaño del efecto global probablemente sea de una magnitud aún mayor que el observado (T_E : en aVE = $-48.18 \mu\text{m}$; en RVC = -0.258 puntos).

4.2.3 Efecto del uso de fitasas *matrizadas*

Si bien no se observó efectos globales estadísticamente significativos en las variables histológicas asociados al uso de fitasas *matrizadas* ($P \geq 0.45$) (Cuadro 7), también aquí se observó heterogeneidad entre estudios ($P < 0.0001$; $I^2 = 67.59$ a 93.60%).

Al respecto, se aprecia (Cuadro 8) una influencia estadísticamente significativa entre la dosis de fitasa *matrizada* y la relación vellosidad/cripta ($P = 0.0280$; $pR^2 = 16.3\%$), siendo que –al menos entre 150 y 5000 FTU/kg–, por cada 1000 unidades de incremento en la dosis, la relación vellosidad/cripta se incrementa en 0.1 puntos y dicha relación resulta ser consistente con la menor acción anti-nutricional de los fitatos y sus ésteres cuanto mayor es la acción de las fitasas sobre ellos (Dersjant-Li *et al.* 2015) e incluso con la acción favorable del inositol resultante, como producto final, sobre el transporte de nutrientes y la deposición proteica (Cowieson *et al.* 2014).

Asimismo, si bien se observó una relación lineal estadísticamente significativa entre el número de repeticiones y el tamaño del efecto en la relación vellosidad/cripta ($P =$

0.0185; $pR^2 = 22.1\%$), se verificó la independencia de las dosis y número de repeticiones empleados (correlación: $P > 0.10$). Así, los experimentos con menos de seis repeticiones mostraron un efecto falso negativo, lo que implica que es probable que la verdadera influencia de la dosis de fitasa sea aún mayor.

Otras variables no mostraron influencia estadísticamente significativa como moderadoras ($P > 0.05$).

4.2.4 Efecto del uso de fitasas *on top*

Se observó que el uso de fitasas *on top* está asociado a reducciones en la profundidad de las criptas ($T_E = -4.23 \mu\text{m}$; $P = 0.0430$) y a incrementos en la relación vellosidad/cripta ($T_E = 0.177$; $P = 0.0060$). Sin embargo, existe heterogeneidad respecto a los tamaños de los efectos en dichas variables ($I^2 = 92.66$ y 88.56% , respectivamente; $P < 0.0001$) pero también en la altura de la vellosidad ($I^2 = 47.52\%$) (Cuadro 7). No se observó un efecto global estadísticamente significativo en la altura de las vellosidades.

Al respecto, las meta-regresiones de las posibles variables moderadoras indican (Cuadro 8) que la relación Ca/PD en la dieta ejerce influencia ($P = 0.0450$; $pR^2 = 74.3\%$) en el tamaño del efecto en la altura de la vellosidad y que por cada 0.1 puntos de incremento en la relación Ca/PD el tamaño del efecto en la altura de la vellosidad aumenta en $4.4 \mu\text{m}$, lo que resulta consistente con el conveniente mantenimiento de una adecuada relación Ca/PD tras el incremento en la disponibilidad de fósforo producto de la inclusión de la fitasa *on top*.

Se observa, además, una relación lineal entre la edad de las aves y el tamaño del efecto en la profundidad de las criptas ($P = 0.0180$; $pR^2 = 17\%$) de forma tal que cuanto menor es el ave mayor es el tamaño del efecto (mayor la reducción en la profundidad de la cripta) (Cuadro 8), lo que guarda relación con la mayor susceptibilidad de las aves jóvenes a los factores anti-nutricionales que, como el fitato, reducen la disponibilidad neta de aminoácidos (Onyango *et al.* 2009) necesarios para la maduración de la mucosa intestinal durante los primeros días de

edad y para soportar la fase de mayor velocidad de crecimiento durante las primeras semanas (Filipe *et al.* 2018).

Por otro lado, se observó que cuanto mayor el número total de aves muestreadas ($P = 0.0180$; $pR^2 = 10.2\%$) o el número de repeticiones ($P = 0.0370$; $pR^2 = 11.6\%$), mayor fue el tamaño del efecto en la relación vellosidad/cripta. Si bien esto indica, nuevamente la presencia de estudios con insuficiente poder estadístico (Quisirumbai-Gaibor *et al.* 2020), y que el valor del tamaño del efecto no es real, la inferencia respecto al efecto positivo que ejercen las fitasas empleadas *on top* no resulta invalido ya que en este caso particular dichos estudios muestran un resultado falso negativo; es decir, que indican ausencia de efecto cuando esto –según los resultados obtenidos– se debe únicamente a insuficiente poder estadístico. Esto implica que el verdadero efecto global de la suplementación de fitasas *on top* sobre la relación vellosidad/cripta probablemente es mayor de 0.177 unidades.

4.2.5 Implicancias

En los meta-análisis realizados, no se logró detectar una influencia significativa ($P > 0.10$) de la sección intestinal en el tamaño del efecto de la suplementación de fitasas. Así, la información disponible para la evaluación de la influencia de otras posibles variables moderadoras, como el contenido de vitamina D3, el tipo de dieta o la línea genética (Singh 2008), que coadyuven a explicar la heterogeneidad entre estudios es aún limitada. Al respecto, Deeks *et al.* (2011), consideran que meta-regresiones con menos de 10 estudios difícilmente producen resultados útiles. Los resultados de la presente evaluación, particularmente respecto a la influencia del número de repeticiones y del número total de aves muestreadas, permiten evidenciar la gran importancia que tiene la adecuada planeación de los experimentos en términos de asegurar el poder estadístico necesario para detectar los efectos esperados.

Por otro lado, la ausencia de efectos negativos asociados al uso de las fitasas *matrizadas* sobre las características histológicas del intestino es consistente con la eficacia de las fitasas incrementando la biodisponibilidad del fósforo fítico de la dieta, previamente reportada en la literatura (Singh 2008).

Finalmente, los resultados indican que, al menos una parte del efecto favorable del uso de fitasas *on top* o en *super dosis* (Wealleans *et al.* 2016) puede estar asociado, además de la reducción de las pérdidas de proteínas endógenas (Onyango *et al.* 2009), a un menor gasto nutricional en el mantenimiento de la función proliferativa de la mucosa intestinal en las criptas (Yamauchi 2002). Esto cobra particular interés pues, por ejemplo, se ha reportado que en animales en crecimiento entre 60 y 85% de la treonina dietaria es empleada por el intestino (Burrin 2002). Así, considerando que aproximadamente 12% de la proteína sintetizada *de novo* es utilizada en el tracto gastro intestinal, cualquier factor que reduzca el recambio celular reducirá el requerimiento de energía del ave (Choct 2009).

4.3 EVALUACIÓN 3: RELACIONES CUANTITATIVAS ENTRE HISTOLOGÍA INTESTINAL, ENERGÍA METABOLIZABLE APARENTE Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDE

Presentado como abstract: *Poultry Science* (2019) 98 (E-Suppl. 1) N° 218, p. 84.

4.3.1 Estrategia general y data recopilada

Los meta-análisis se realizan, entre otros, para determinar el efecto global de un factor común o para determinar relaciones entre variables. Así, en el primer caso el tamaño del efecto es una diferencia de medias (Huedo-Medina *et al.* 2006), y en el segundo un coeficiente de correlación (Dalal, 2005). Al respecto, en la presente evaluación se desarrolló una nueva aplicación, consistente en establecer relaciones entre variables, pero a partir de los tamaños de los efectos de las diferencias de medias. Se combinó datos de experimentos donde se evaluó diferentes factores, maximizando la data disponible y generar inferencias con mayor alcance y conclusiones no limitadas a un único factor en estudio (Ramsey y Schafer 2013).

Así, los estudios empleados para el análisis incluyeron evaluaciones de extractos de levaduras (Lopes *et al.* 2011), ácidos orgánicos (Khosravinia *et al.* 2015, Nourmohammadi y Khosravinia 2015), promotores de crecimiento y probióticos (Sharifi *et al.* 2012, Lei *et al.* 2014), enzimas (Iji *et al.* 2001, Wu *et al.* 2004, Hosseini y Afshar 2017, Xu *et al.* 2017, Yuan *et al.* 2017), suplementos nutricionales (Ospina-Rojas *et al.* 2013, de Oliveira *et al.* 2015), así como ingredientes (Sharifi *et al.* 2012, Murakami *et al.* 2014, Xu *et al.* 2017), procesos de descontaminación (Yakhkeshi *et al.* 2013) y formas físicas (Freitas *et al.* 2008, Zang *et al.* 2009, Hosseini y Afshar 2017) del alimento (Anexo 6).

Se elaboró una base de datos con 66 registros (conjuntos de datos) provenientes de 16 artículos científicos publicados hasta el año 2017 (Iji *et al.* 2001, Wu *et al.* 2004, Freitas *et al.* 2008, Zang *et al.* 2009, Lopes *et al.* 2011, Sharifi *et al.* 2012, Ospina-Rojas *et al.* 2013, Yakhkeshi *et al.* 2013, Lei *et al.* 2014, Murakami *et al.* 2014, de Oliveira *et al.* 2015, Khosravinia *et al.* 2015, Nourmohammadi y Khosravinia 2015, Hosseini y Afshar 2017, Xu *et al.* 2017, Yuan *et al.* 2017) que incluyeron un total de 884 grupos independientes de aves evaluados mediante 1,254 cortes y 20,952 lecturas histológicas, así como 956 determinaciones de energía metabolizable aparente, 9,389 mediciones de peso corporal y 838 de conversión alimentaria.

4.3.2 Comprobación de la validez de la data mediante meta-análisis

La diversidad de los tamaños de los efectos en la energía metabolizable, ganancia de peso y conversión alimentaria se muestra mediante diagramas de bosque en las Figuras 11, 12 y 13, respectivamente. Asimismo, la distribución de la data por tamaños de los efectos y precisión de los estudios, incluyendo los valores estimados con la prueba de Corte y Relleno, se presentan mediante diagramas de embudo en la Figura 14. Finalmente, en el Cuadro 9 se presentan los tamaños de los efectos globales y sus probabilidades e intervalos de confianza y de predicción, los indicadores de sesgo (prueba de Egger y contraste de intervalos de confianza), y la bondad de ajuste a la distribución normal de los residuos de los modelos aleatorios (ver gráficos de cuantiles normales e histogramas en los Anexos 7 a 9).

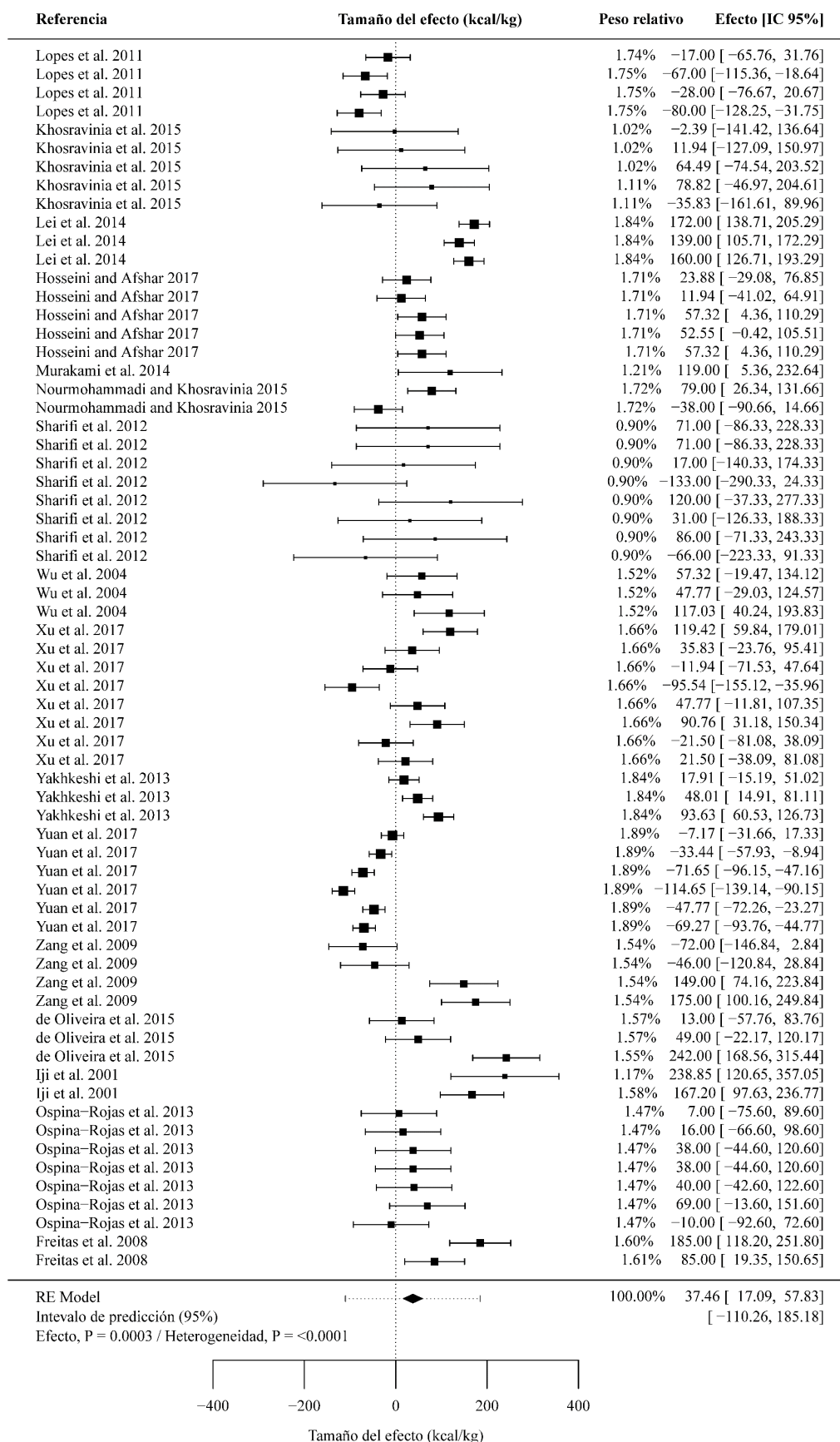


Figura 11: Tamaños de los efectos en la energía metabolizable aparente

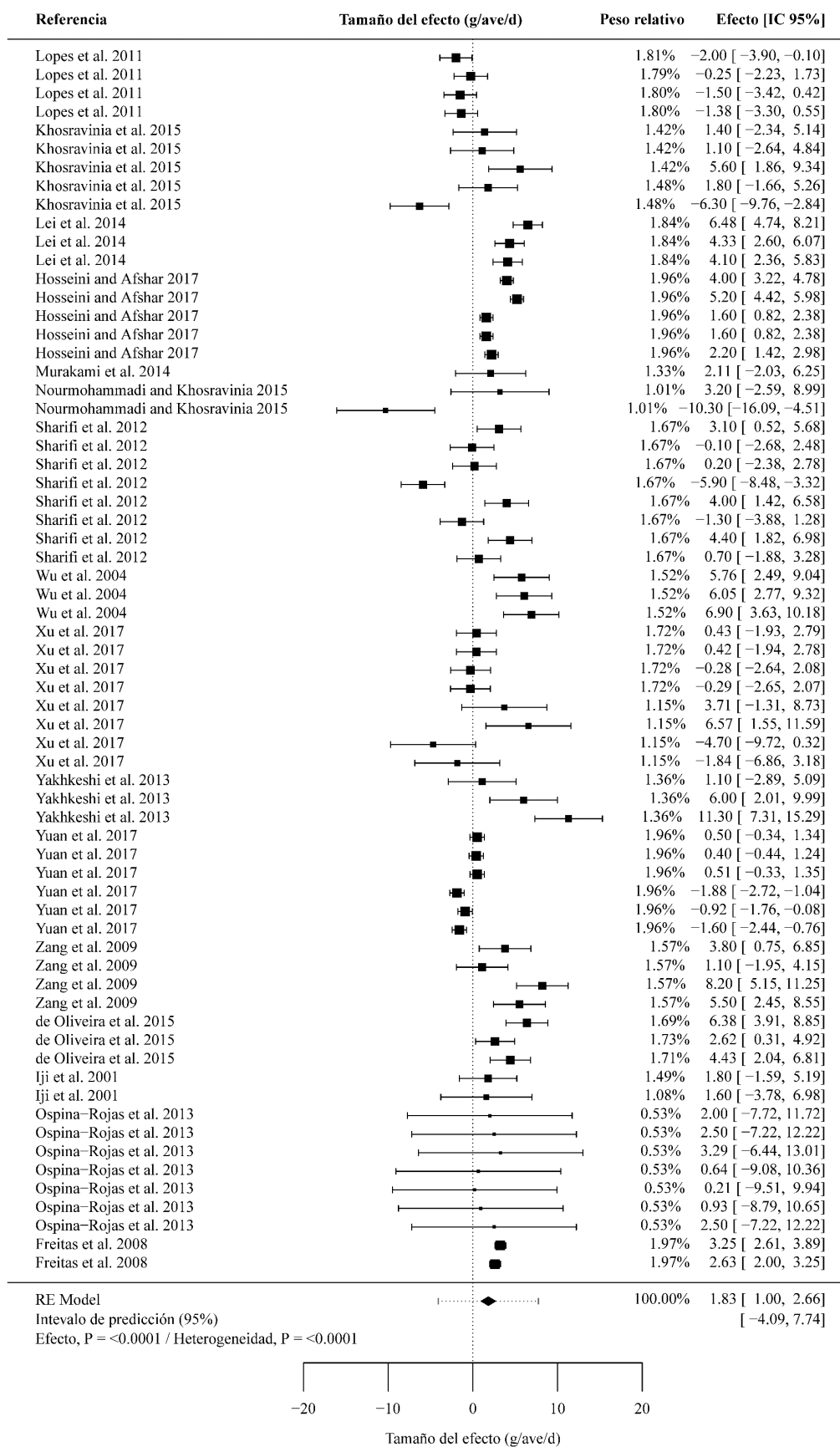


Figura 12: Tamaños de los efectos en la ganancia de peso corporal

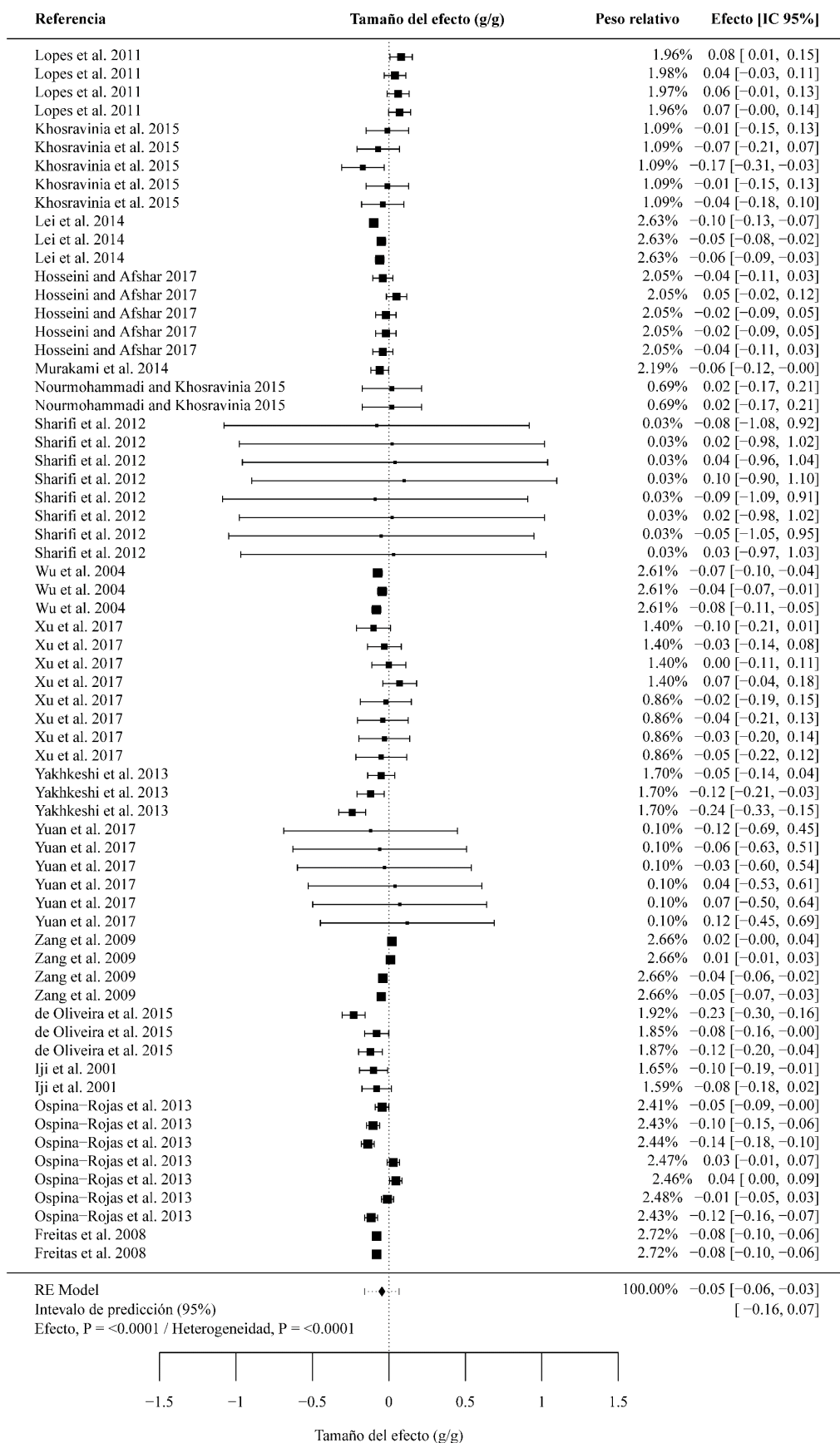


Figura 13: Tamaños de los efectos en la conversión alimentaria

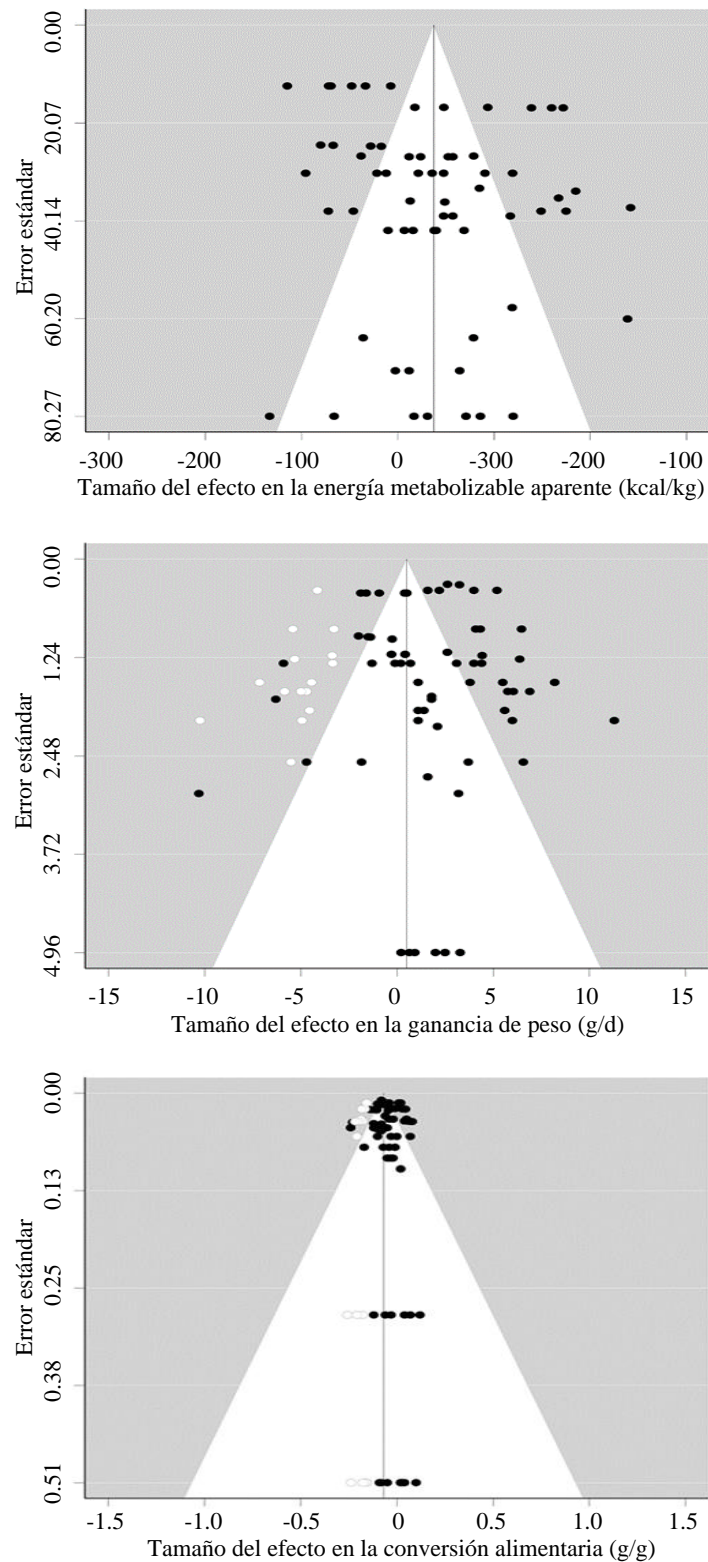


Figura 14: Diagramas de embudo de los tamaños de los efectos en el valor observado de la energía metabolizable aparente del alimento, en la ganancia de peso y en la conversión alimentaria*

* Cada punto corresponde a uno de los 66 conjuntos de datos obtenidos. Los círculos blancos corresponden a los valores estimados como faltantes mediante la prueba de Corte y Relleno.

Cuadro 9: Validez de la data usada para establecer relaciones entre histología intestinal, energía metabolizable y productividad en pollos de engorde¹

Criterio	Variables de respuesta ²		
	Energía metabolizable	Ganancia de peso corporal	Conversión alimentaria
CRITERIO 1: ALTA HETEROGENEIDAD			
Heterogeneidad ³ Prueba Q τ I^2 H^2	Alta P < 0.0001 74.65 kcal/kg	Alta P < 0.0001 2.99 g/d	Alta P < 0.0001 0.0566 g/g
	89.25%	93.36%	83.49%
	9.30	15.05	6.06
CRITERIO 2: SESGOS AUSENTES O IRRELEVANTES			
Método A: Determinación de la presencia de sesgo			
Resultado Prueba de Egger	No detectable P = 0.2807	No detectable P = 0.8720	No detectable P = 0.5888
Método B: Determinación de la relevancia del sesgo ⁴			
Resultado IC _{95%} ⁵ superpuestos ⁶	No relevante Sí	No relevante Sí	No relevante Sí
dO ⁶ Tamaño del efecto global IC _{95%} ⁵	37.46 kcal/kg (17.09, 57.83)	1.83 g/d (1.00, 2.66)	-0.046 g/g (-0.064, -0.027)
dA ⁶ Tamaño del efecto global IC _{95%} ⁵	37.46 kcal/kg (17.09, 57.83)	0.50 g/d (-0.42, 1.43)	-0.069 g/g (-0.089, -0.048)
CRITERIO 3: RESIDUOS DISTRIBUIDOS NORMALMENTE			
Resultado Probabilidad	Normal P = 0.6719	Normal P = 0.0682	Normal P = 0.3113

¹ La data fue considerada válida por observarse alta heterogeneidad, pero no sesgos.

² Las tres variables de respuesta están expresadas en términos de sus correspondientes tamaños de los efectos.

³ Heterogeneidad “alta”, pues un alto porcentaje ($I^2 > 83\%$) de la variabilidad total es atribuible a la heterogeneidad entre estudios.

⁴ La relevancia del sesgo se determinó mediante la comparación de los intervalos de confianza de los valores de los tamaños de los efectos obtenidos a partir de la data original (dO) y los valores que incluyeron, además, los estimados como faltantes mediante la prueba de Corte y Relleno (dA). Si ambos intervalos estuvieron superpuestos entonces el sesgo no se consideró “relevante”.

⁵ IC_{95%} = Intervalo de confianza al 95%.

⁶ dO = valores de los tamaños de los efectos obtenidos a partir de la data original; dA = valores que incluyen, además, los estimados como faltantes mediante la prueba de Corte y Relleno.

Los resultados indican que, para las tres variables de respuesta, existe heterogeneidad ($P < 0.0001$) en los tamaños de los efectos entre estudios y que esta es elevada (τ , I^2 , H^2 e $IP_{95\%}$); sin embargo, no se observó sesgos mediante la prueba de Egger ($P > 0.05$). Asimismo, si bien la prueba de Corte y Relleno estimó valores faltantes para ganancia de peso y conversión alimentaria, se observó que los intervalos de confianza de los tamaños de los efectos globales empleando o no los valores estimados (dA y dO, respectivamente) mostraron estar superpuestos (Cuadro 9), no indicando sesgos relevantes al considerarse réplicas entre sí (Greenwald *et al.* 1996). Por ello, en adelante solo se empleó la data original.

Al respecto, si bien habitualmente la ausencia de heterogeneidad en los meta-análisis permite elaborar generalizaciones sobre el factor en evaluación (Huedo-Medina *et al.* 2006), en la presente evaluación la existencia de heterogeneidad aporta valor al análisis pues refleja el origen diverso de la data empleada.

Finalmente, la distribución normal observada en los residuos de los modelos (Shapiro-Wilk; $P > 0.05$) y la existencia de heterogeneidad en ausencia de sesgos confirma la diversidad e idoneidad de la data para el desarrollo de modelos.

4.3.3 Análisis general mediante meta-regresión

4.3.3.1 Ajuste de modelos mixtos simples

Tras ajustar los modelos mixtos simples con una única variable moderadora e identificar las apropiadas ($P < 0.10$) (Cuadro 10), se seleccionó las siguientes:

- Para el tamaño del efecto en la energía metabolizable aparente:
 - Cambio en la altura de la vellosidad en el duodeno
 - Cambio en la altura de la vellosidad en el íleon
 - Cambio promedio en la altura de la vellosidad en el intestino
 - Cambio en la relación RVC en el duodeno
 - Cambio en la relación RVC en el íleon
 - Cambio promedio en la RVC

Cuadro 10: Variables moderadoras de los efectos en la energía metabolizable aparente, ganancia de peso corporal y conversión alimentaria de pollos

Variable Moderadora ¹	Estimado del tamaño del efecto	P valor	pR ²	AIC	BIC	Se seleccionó
Variable de respuesta: Tamaño del efecto en la energía metabolizable aparente (EMA)						
ΔaVE_{DU}	3.8450	0.0007	19.78%	744.60	751.08	Si
ΔaVE_{YE}	0.6938	0.4557	0.90%	754.09	760.56	No
ΔaVE_{IL}	3.2293	0.0025	18.89%	746.95	753.42	Si
ΔaVE_{PR}	4.2595	0.0016	20.61%	746.33	752.80	Si
ΔpCR_{DU}	-0.2210	0.7634	0.00%	754.79	761.27	No
ΔpCR_{YE}	-2.3757	0.1014	3.45%	752.24	758.72	No
ΔpCR_{IL}	-1.0139	0.4146	0.00%	754.08	760.56	No
ΔpCR_{PR}	-1.4785	0.2999	0.45%	753.77	760.24	No
ΔRVC_{DU}	1.5398	0.0305	9.06%	750.39	756.87	Si
ΔRVC_{YE}	1.2298	0.1278	3.91%	752.63	759.11	No
ΔRVC_{IL}	3.2086	0.0002	23.93%	743.45	749.92	Si
ΔRVC_{PR}	2.7722	0.0034	16.42%	747.18	753.65	Si
Variable de respuesta: Tamaño del efecto en la ganancia de peso corporal (GPC)						
ΔEMA	0.7112	<.0001	52.17%	320.24	326.72	Si
ΔaVE_{DU}	0.0633	0.1786	3.00%	348.85	355.32	No
ΔaVE_{YE}	0.0067	0.8359	0.00%	350.52	357.00	No
ΔaVE_{IL}	0.0495	0.2809	1.15%	349.41	355.89	No
ΔaVE_{PR}	0.0611	0.2761	1.21%	349.41	355.89	No
ΔpCR_{DU}	-0.0202	0.4720	0.00%	350.08	356.56	No
ΔpCR_{YE}	-0.1267	0.0263	7.04%	345.73	352.20	Si
ΔpCR_{IL}	-0.0317	0.4883	0.00%	350.07	356.55	No
ΔpCR_{PR}	-0.0768	0.1545	1.86%	348.57	355.04	No
ΔRVC_{DU}	0.0312	0.2411	1.67%	349.27	355.75	No
ΔRVC_{YE}	0.0384	0.2296	0.16%	349.13	355.61	No
ΔRVC_{IL}	0.0695	0.0668	5.69%	347.34	353.82	Si
ΔRVC_{PR}	0.0630	0.0964	4.12%	347.92	354.39	Si
Variable de respuesta: Tamaño del efecto en la conversión alimentaria (CAL)						
ΔGPC	-0.0051	<.0001	41.81%	-136.78	-130.31	Si
ΔEMA	-0.0116	0.0003	24.61%	-127.91	-121.43	Si
ΔaVE_{DU}	-0.0018	0.0906	5.63%	-118.73	-112.26	Si
ΔaVE_{YE}	-0.0008	0.4746	0.00%	-117.40	-110.92	No
ΔaVE_{IL}	-0.0005	0.7008	0.00%	-116.40	-109.92	No
ΔaVE_{PR}	-0.0020	0.1934	1.19%	-118.06	-111.59	No
ΔpCR_{DU}	-0.0007	0.3138	0.43%	-117.08	-110.60	No
ΔpCR_{YE}	0.0024	0.1122	2.45%	-118.84	-112.36	No
ΔpCR_{IL}	-0.0002	0.8676	0.00%	-116.49	-110.02	No
ΔpCR_{PR}	-0.0005	0.7639	0.00%	-116.49	-110.01	No
ΔRVC_{DU}	-0.0002	0.8312	0.00%	-116.53	-110.06	No
ΔRVC_{YE}	-0.0010	0.2471	0.00%	-117.6401	-111.16	No
ΔRVC_{IL}	-0.0014	0.2122	0.00%	-117.9876	-111.51	No
ΔRVC_{PR}	-0.0014	0.2639	0.00%	-117.8482	-111.37	No

¹ Δ , cambio (%); aVE, altura de la vellosidad; pCR; profundidad de la cripta; RVC, relación entre ambos; DU, duodeno; YE, yeyuno; IL, íleon; PR, promedio de las tres secciones intestinales.

- Para el tamaño del efecto en la ganancia de peso corporal:
 - Cambio en el valor de energía metabolizable del alimento
 - Cambio en la altura de la vellosidad en el yeyuno
 - Cambio en la relación entre aVE y la pCR en el íleon
 - Cambio promedio en la RVC
- Para el tamaño del efecto en la conversión alimentaria:
 - Cambio en la ganancia de peso corporal
 - Cambio en la energía metabolizable aparente del alimento
 - Cambio en la altura de la vellosidad en el duodeno

En las Figuras 14 a 27 se presentan los ploteos de las relaciones entre las variables de respuesta y cada variable moderadora seleccionada. Cada gráfico consta de 66 tamaños de efectos (puntos) que corresponden a las 66 comparaciones disponibles entre tratamientos (registros). Asimismo, de acuerdo con el método de Mínimos Cuadrados Ponderados, el tamaño de cada punto y su influencia en el ajuste del modelo es proporcional a la inversa de las correspondientes varianzas (Viechtbauer 2010), siendo entonces mayor la influencia cuanto mayor la precisión. Los límites internos (líneas discontinuas, - - -) y externos (líneas punteadas, ······) representan los intervalos de confianza (95%) y predicción (95%), respectivamente.

4.3.3.2 Ajuste de modelos mixtos múltiples

En la Figura 28 se presenta la matriz de correlaciones entre las diferentes variables en estudio y sus probabilidades, la misma que se empleó para identificar relaciones de multicolinealidad. Es importante resaltar que las variables que en realidad son el promedio de otras, como la altura promedio de la vellosidad en el intestino (ΔaVE_{PR}) obtenida al promediar los valores del duodeno (ΔaVE_{DU}), yeyuno (ΔaVE_{YE}) e íleon (ΔaVE_{IL}), fueron incluidas como herramientas para reducir la multicolinealidad (Imdadullah *et al.* 2016). En dicha figura se observa que incrementos en la altura de la vellosidad, y en la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta, están positivamente correlacionados con incrementos en la EMA. Asimismo, incrementos en la EMA están positivamente correlacionados con incrementos en la ganancia de peso y estos, a su vez, con reducciones en la conversión alimentaria.

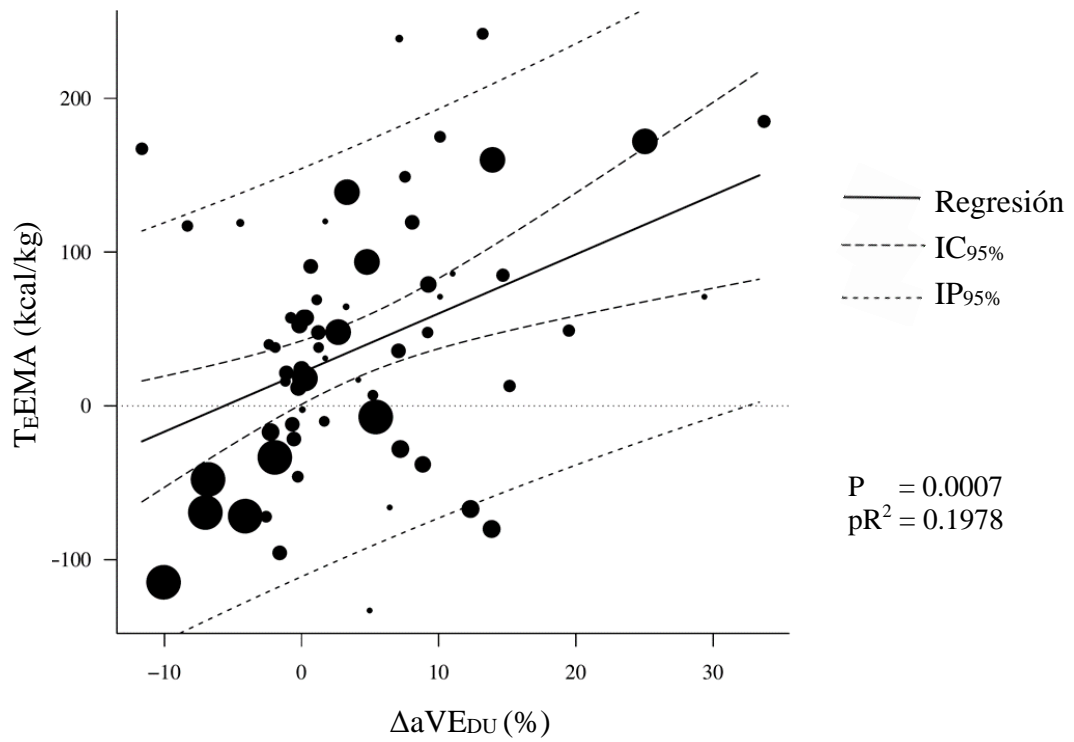


Figura 15: Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la altura de las vellosidades en el duodeno

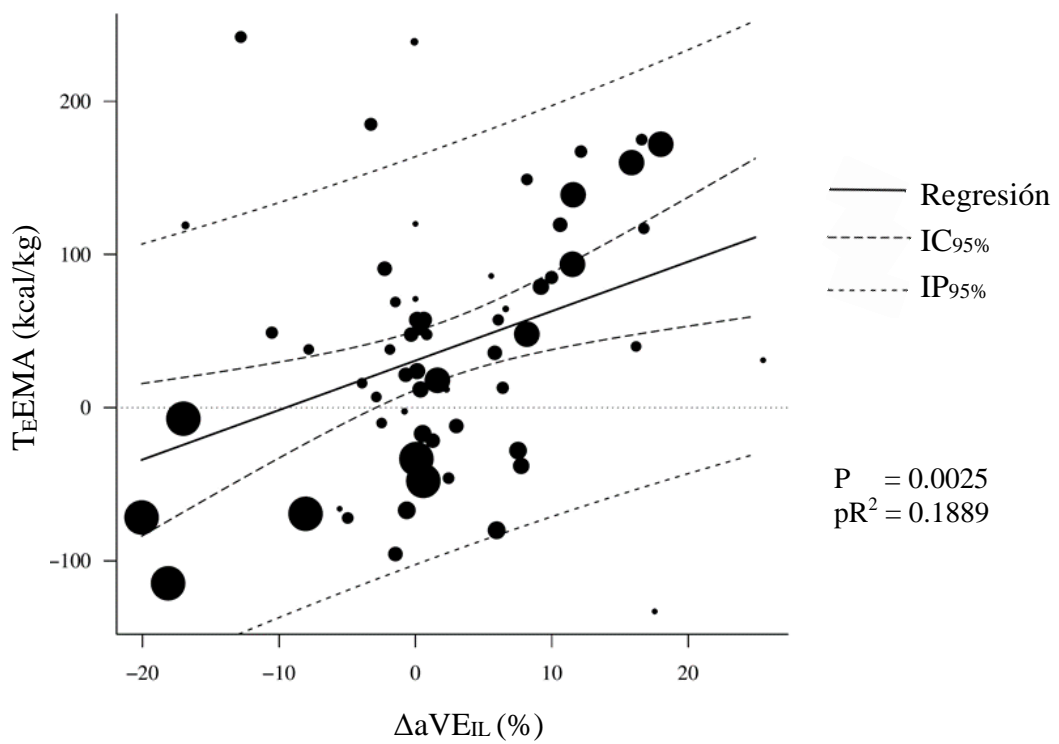


Figura 16: Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la altura de las vellosidades en el íleon

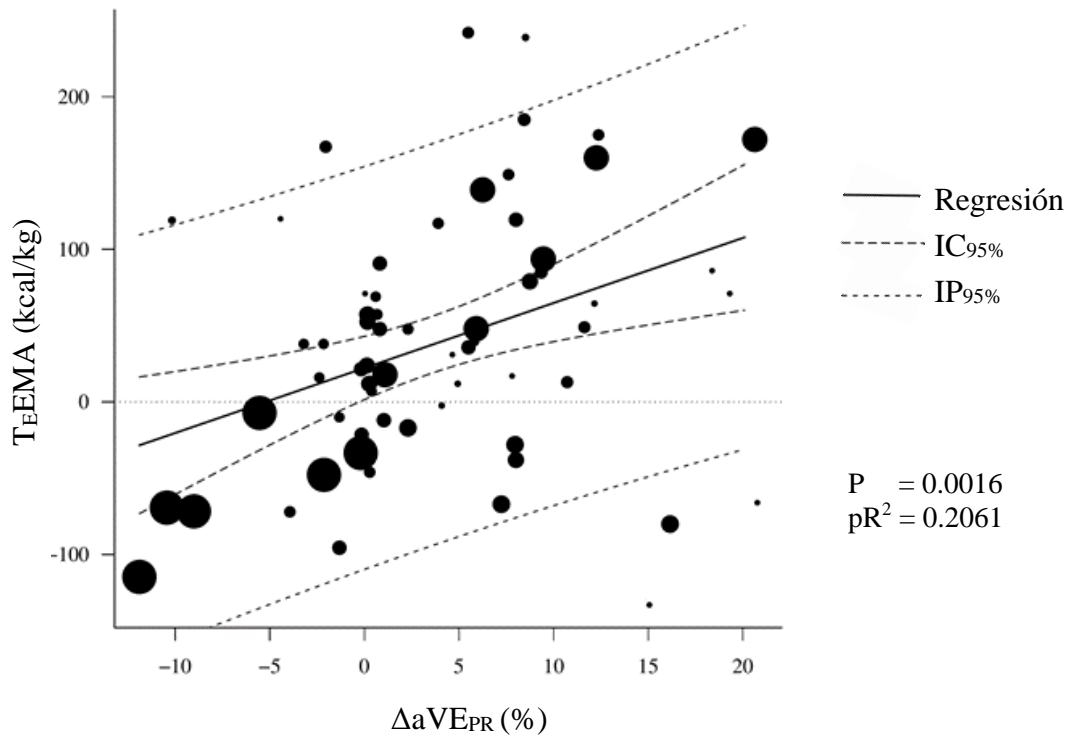


Figura 17: Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la altura promedio de las vellosidades intestinales

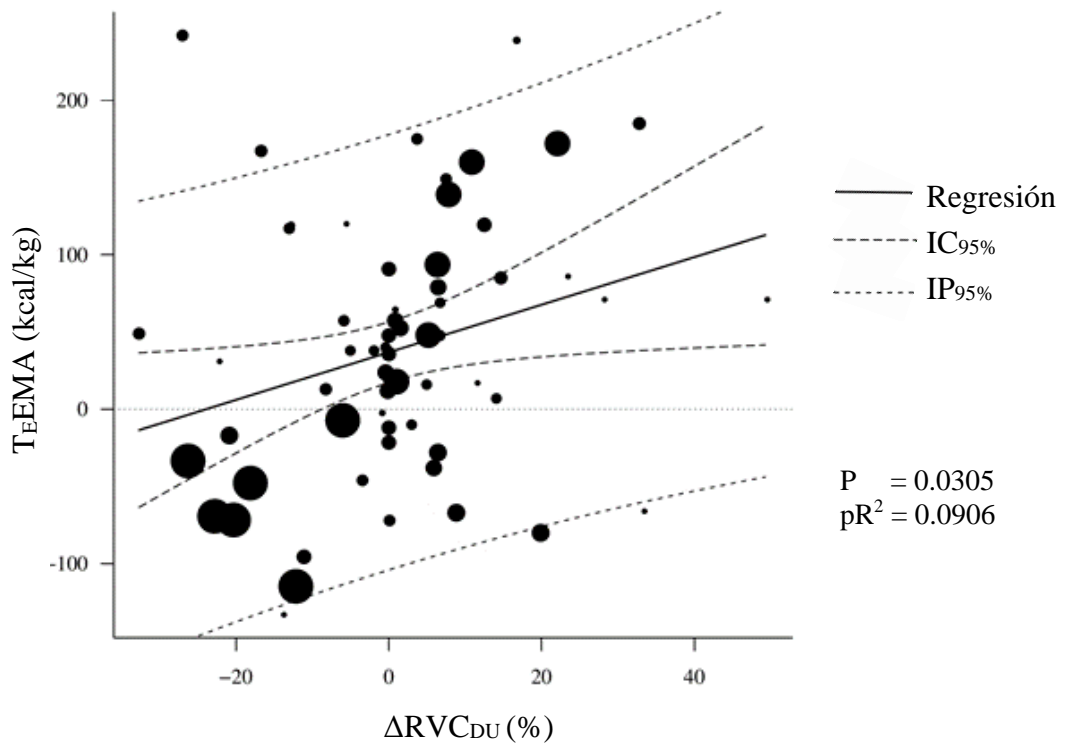


Figura 18: Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta en el duodeno

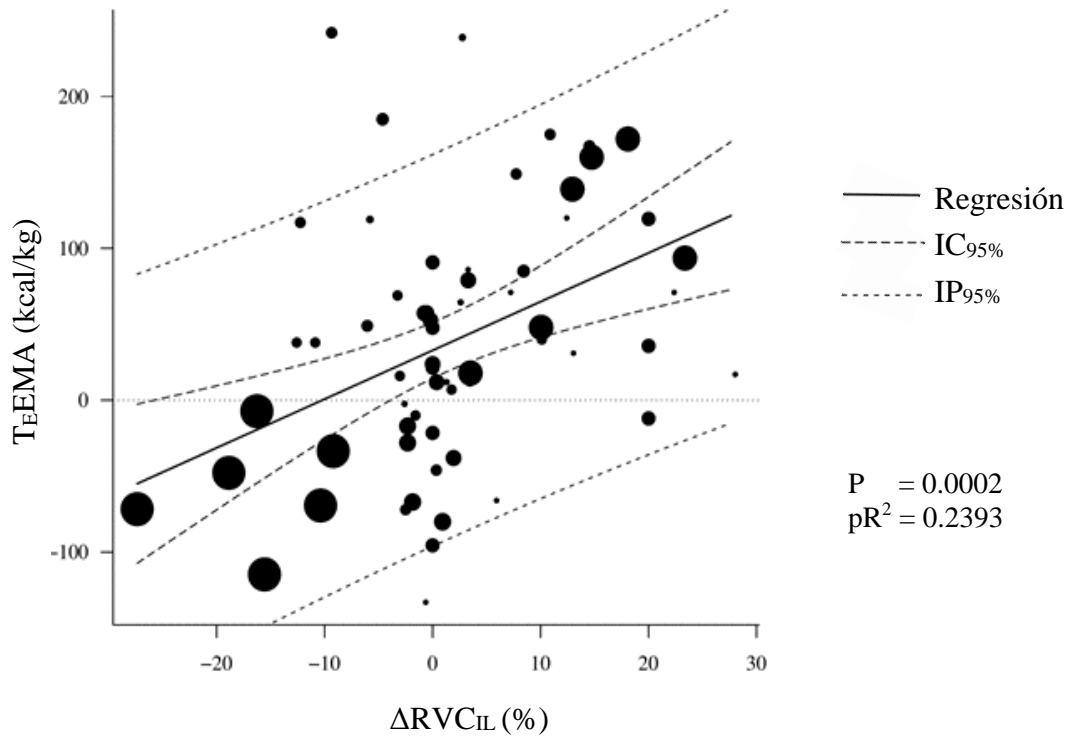


Figura 19: Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta en el íleon

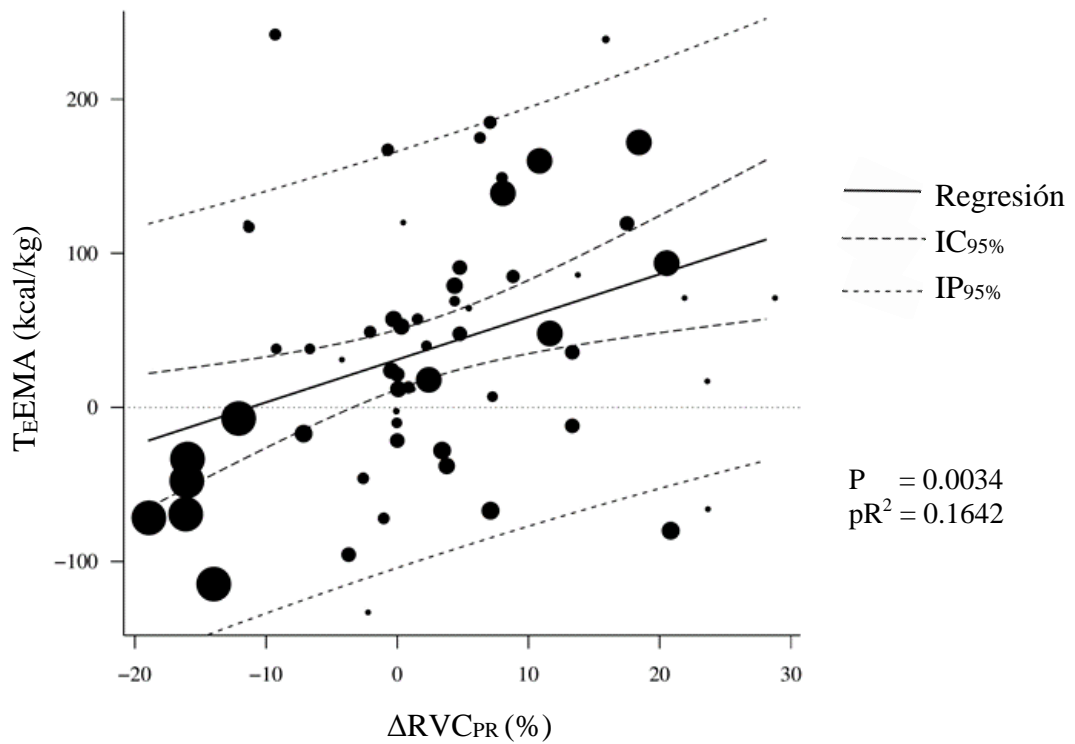


Figura 20: Efecto en la energía metabolizable aparente en función al cambio en la relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta en el intestino

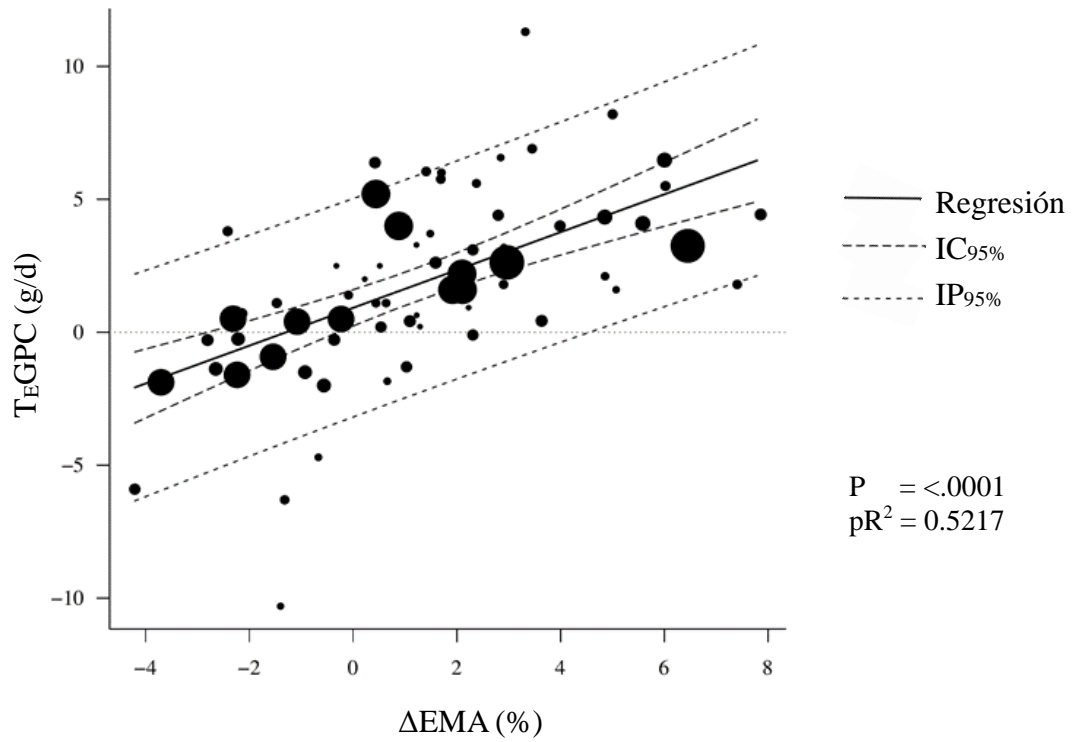


Figura 21: Efecto en la ganancia de peso corporal en función al cambio en el valor observado de energía metabolizable aparente

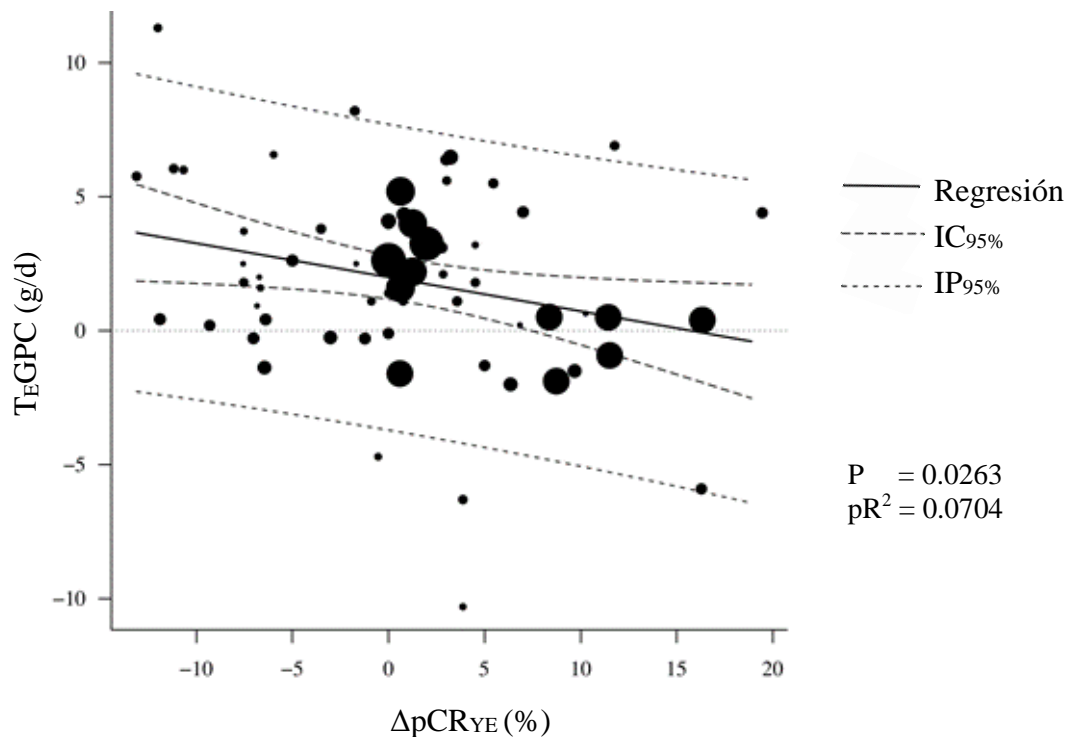


Figura 22: Efecto en la ganancia de peso corporal en función al cambio en la profundidad de las criptas del yeyuno

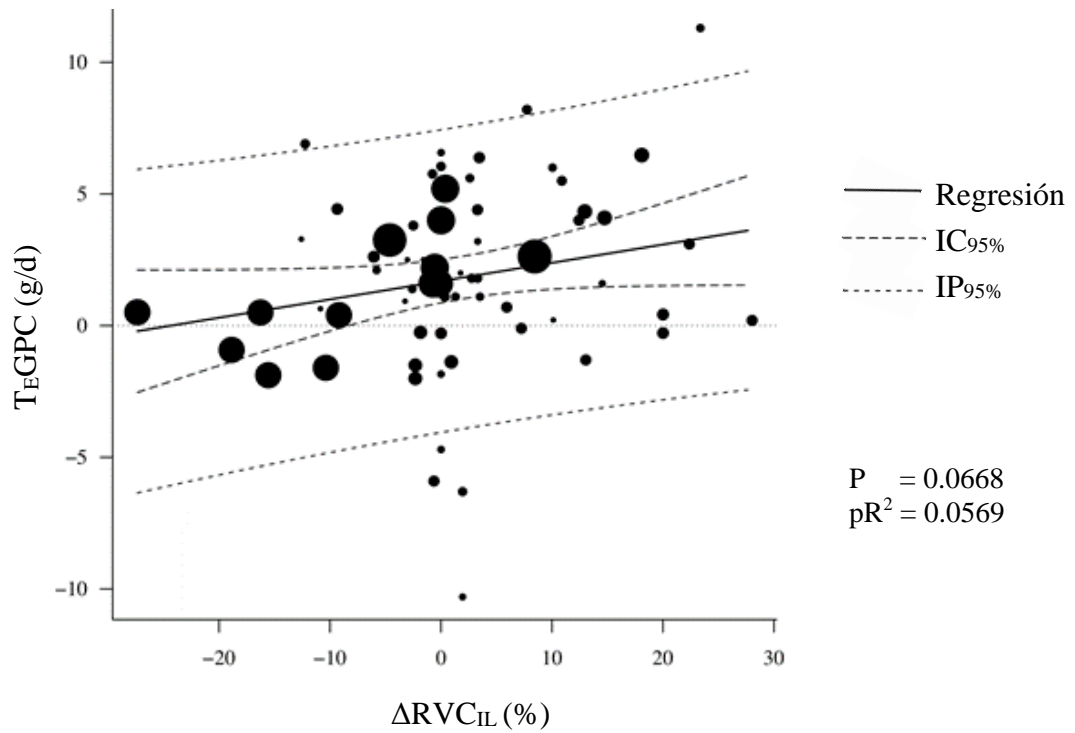


Figura 23: Efecto en la ganancia de peso corporal en función al cambio en la relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta en el íleon

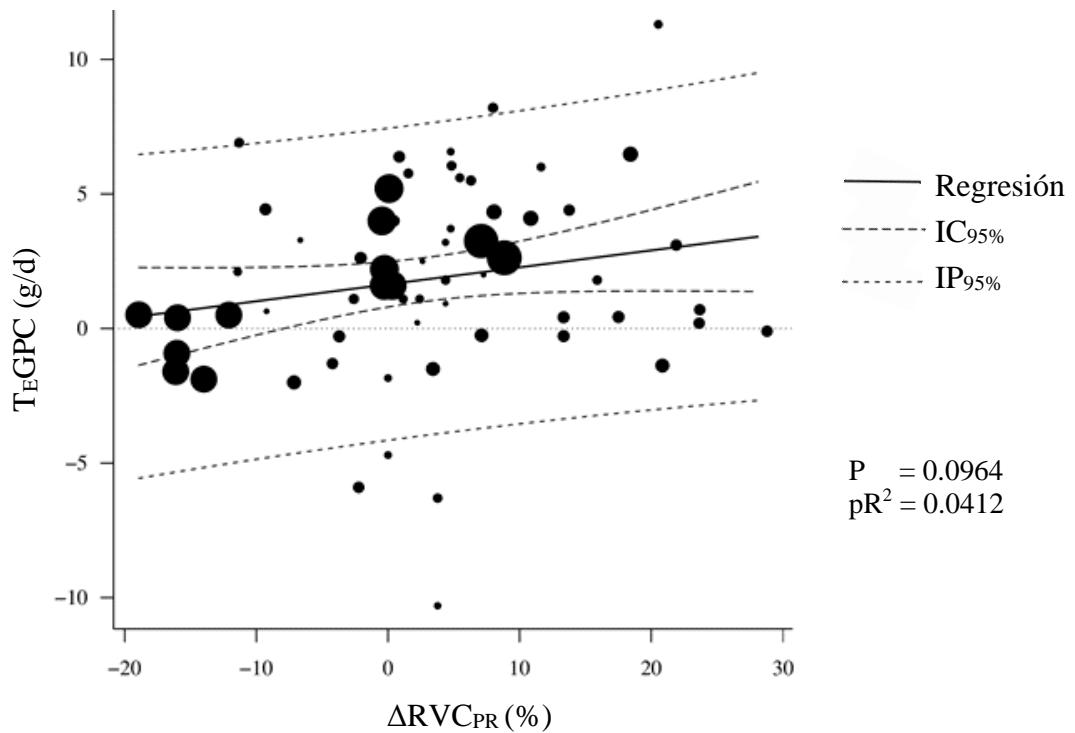


Figura 24: Efecto en la ganancia de peso en función al cambio en la relación promedio entre la altura de vellosidad y profundidad de cripta en el intestino

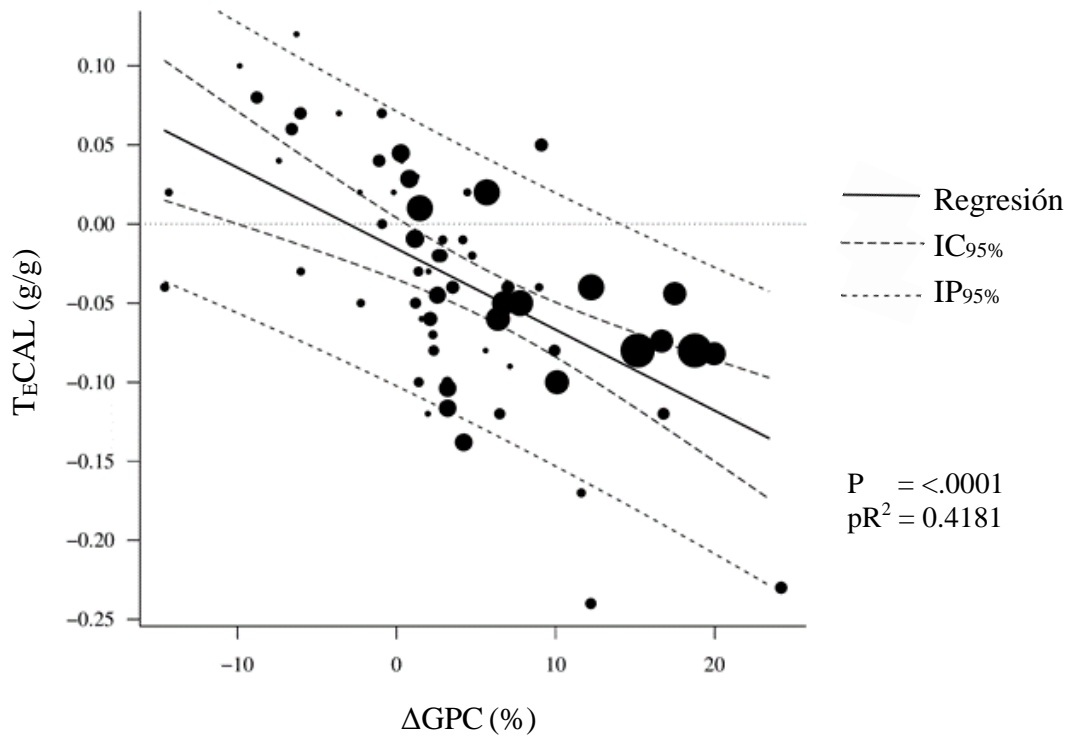


Figura 25: Efecto en la conversión alimentaria en función al cambio en la ganancia de peso corporal

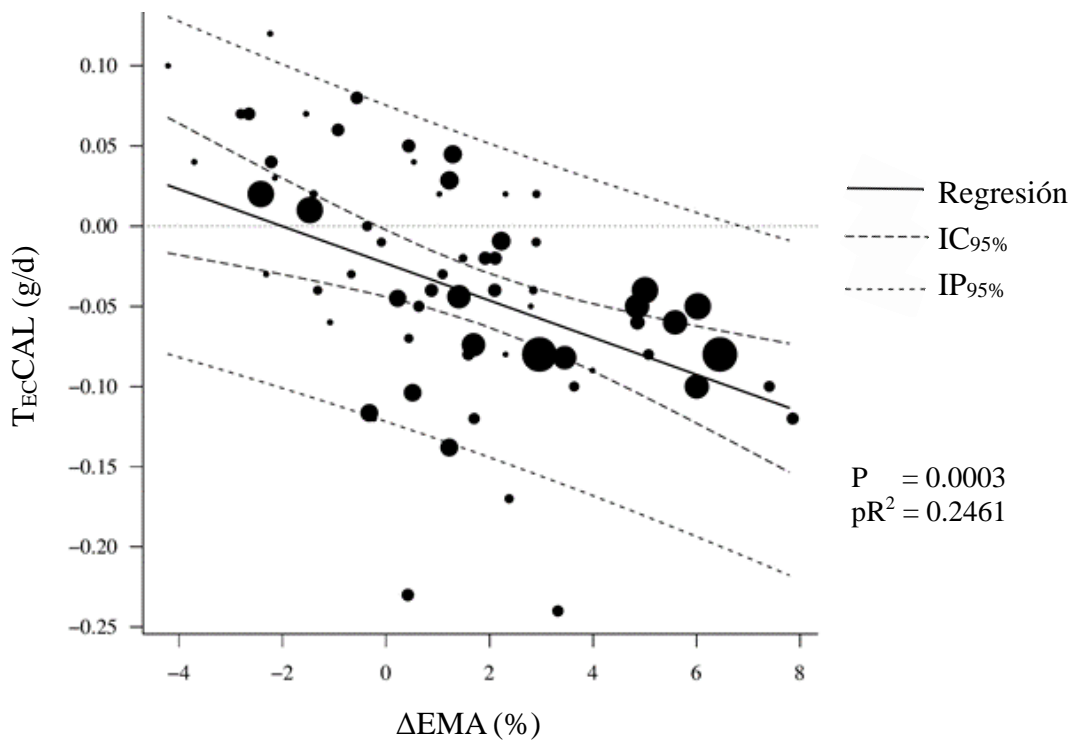


Figura 26: Efecto en la conversión alimentaria en función al cambio en el valor observado de energía metabolizable aparente

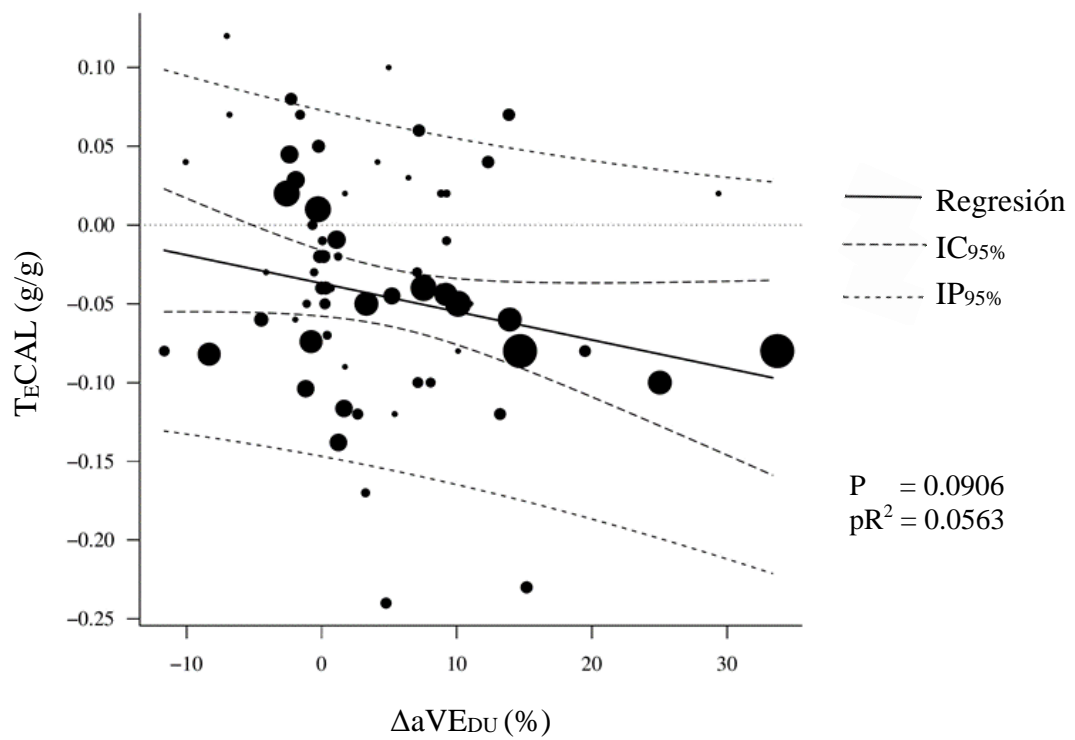


Figura 27: Efecto en la conversión alimentaria en función al cambio en la altura de las vellosidades intestinales del duodeno

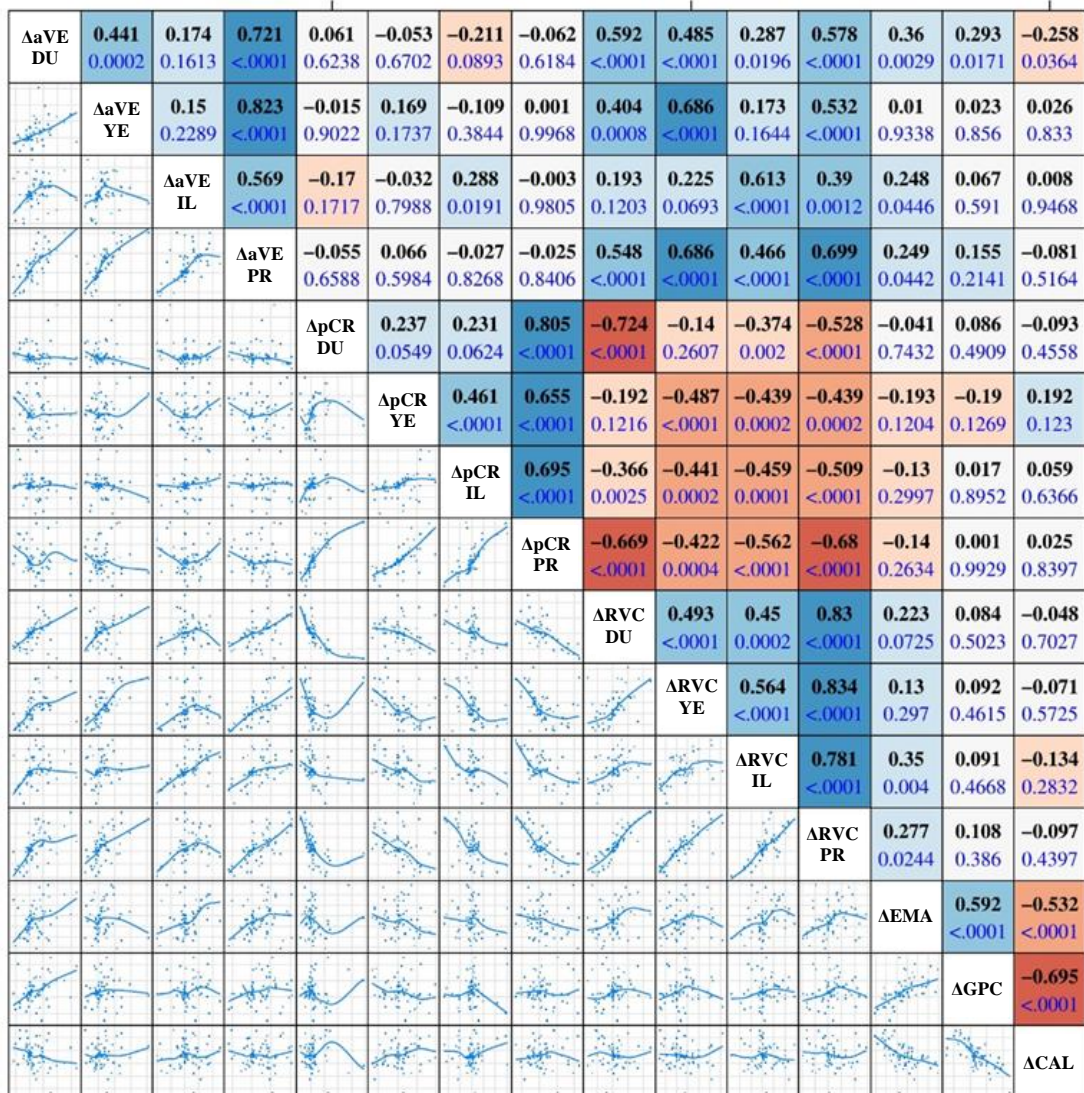


Figura 28: Matriz de correlaciones¹ entre las variables² empleadas para determinar las relaciones entre histología intestinal, absorción de nutrientes y comportamiento productivo de pollos de engorde

¹ Las variables empleadas en la evaluación se presentan en el eje oblicuo. A la derecha, los coeficientes de correlación y sus respectivas probabilidades; a la izquierda, el ploteo de los valores observados. Los coeficientes de correlación de Pearson y probabilidades se presentan en **negro** y **azul**, respectivamente. Los recuadros sombreados con colores en tonos de **azul** o **rojo** indican correlaciones positivas o negativas, respectivamente, y cuanto mayor la intensidad del color más distante de cero el coeficiente de correlación.

² Las variables (eje oblicuo) están expresadas en términos de unidades de cambio (%), donde: Δ = cambio (%), aVE = altura de las vellosidades intestinales, pCR = profundidad de las criptas, RVC = relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta, DU = duodeno, YE = yeyuno, IL = íleon, PR = valor promedio de las tres secciones (duodeno, yeyuno, íleon), AME = valor observado en el experimento de energía metabolizable aparente del alimento, GPC = ganancia de peso corporal, CAL = conversión alimentaria.

Empleando las variables moderadoras que mostraron relación significativa ($P < 0.10$) con los efectos en las variables de respuesta (Cuadro 10) se ajustó modelos mixtos múltiples usando un procedimiento manual para controlar la multicolinealidad sin eliminar variables moderadoras innecesariamente (Mangiafico 2015, p. 216-228). La mayoría de los modelos obtenidos fueron descartados por presentar inestabilidad en los coeficientes y sus probabilidades, o porque al menos una variable moderadora mostró una aparente relación no significativa ($P > 0.05$) por la multicolinealidad. En el Cuadro 11 se muestran los modelos seleccionados.

Así, además de los modelos simples, para el efecto en la EMA se obtuvo un modelo que incluyó, como variables moderadoras, los cambios en la altura de la vellosidad en el duodeno ($P < 0.01$) y en la relación entre la altura de vellosidad y la profundidad de la cripta en el íleon ($P < 0.01$). Asimismo, para el efecto en la conversión alimentaria se obtuvo un modelo que incluyó, como variables moderadoras, el cambio en el valor observado de energía metabolizable aparente del alimento ($P < 0.10$) y el cambio en la ganancia de peso corporal ($P < 0.01$). Sin embargo, para el efecto en la ganancia de peso no se obtuvo ningún modelo que incorporara al menos dos variables moderadoras con $P < 0.10$.

Cabe destacar particularmente que, si bien el modelo N° 7 (pR^2 : 16.42%) para el tamaño del efecto en el valor de la EMA incorpora ΔaVE_{DU} y ΔRVC_{IL} como variables predictoras, ofrece menor capacidad de explicar la heterogeneidad entre estudios que los modelos simples que incluyen las mismas variables (pR^2 : 19.78 y 23.93%, respectivamente) debido a la multicolinealidad. Consecuentemente, el modelo múltiple presenta mayores valores de AIC y BIC que los modelos simples.

En base a las pendientes de los modelos simples, es posible establecer que, por cada punto porcentual de incremento en la altura de la vellosidad en el duodeno, íleon o en el promedio de las tres secciones intestinales, se observan incrementos de 3.80, 3.2 y 4.3 kcal/kg en la *energía metabolizable aparente del alimento* (EMA), respectivamente. Asimismo, por cada punto porcentual de incremento en la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de cripta en el duodeno, en el íleon o

Cuadro 11: Modelos que describen las relaciones entre histología intestinal, energía metabolizable y comportamiento productivo de pollos de engorde¹

N°	Modelo	pR ² , %	AIC	BIC
1	$T_{E}EMA = 21.6839 + 3.8450 \Delta aVE_{DU}$ IC _{95%} 1.04 a 42.33 1.63 a 6.06 P valor 0.0395 0.0007	19.78	744.60	751.80
2	$T_{E}EMA = 30.7304 + 3.2293 \Delta aVE_{IL}$ IC _{95%} 11.55 a 49.91 1.14 a 5.32 P valor 0.0017 0.0025	18.89	746.95	753.42
3	$T_{E}EMA = 22.2823 + 4.2595 \Delta aVE_{PR}$ IC _{95%} 1.56 a 43.01 1.61 a 6.91 P valor 0.0351 0.0016	20.61	746.33	752.80
4	$T_{E}EMA = 36.8842 + 1.5398 \Delta RVC_{DU}$ IC _{95%} 17.28 a 56.49 0.14 a 2.94 P valor 0.0002 0.0305	9.06	750.39	756.87
5	$T_{E}EMA = 32.8449 + 3.2086 \Delta RVC_{IL}$ IC _{95%} 14.45 a 51.24 1.49 a 4.92 P valor 0.0005 0.0002	23.93	743.45	749.92
6	$T_{E}EMA = 31.0378 + 2.7722 \Delta RVC_{PR}$ IC _{95%} 11.65 a 50.43 0.92 a 4.63 P valor 0.0017 0.0034	16.42	747.18	753.65
7	$T_{E}EMA = 22.1501 + 2.8772 \Delta aVE_{DU} + 2.5196 \Delta RVC_{IL}$ IC _{95%} 2.99 a 41.31 0.71 a 5.05 0.81 a 4.23 P valor 0.0235 0.0093 0.0039	16.42	747.18	753.65
8	$T_{E}GPC = 0.9202 + 0.7112 \Delta EMA$ IC _{95%} 0.24 a 1.60 0.49 a 0.93 P valor 0.0077 <.0001	52.17	320.24	326.72
9	$T_{E}GPC = 1.9962 - 0.1267 \Delta pCR_{YE}$ IC _{95%} 1.18 a 2.81 -0.24 a -0.02 P valor <.0001 0.0263	7.04	345.73	352.20
10	$T_{E}GPC = 1.6917 + 0.0695 \Delta RVC_{IL}$ IC _{95%} 0.87 a 2.51 -0.01 a 0.14 P valor <.0001 0.0668	5.69	347.34	353.82
11	$T_{E}GPC = 1.6439 + 0.0630 \Delta RVC_{PR}$ IC _{95%} 0.80 a 2.49 -0.01 a 0.14 P valor 0.0001 0.0964	4.12	347.92	354.39
12	$T_{E}CAL = -0.0156 - 0.0051 \Delta GPC$ IC _{95%} -0.04 a 0.00 -0.01 a 0.00 P valor 0.1162 <.0001	41.81	-136.8	-130.3
13	$T_{E}CAL = -0.0232 - 0.0116 \Delta EMA$ IC _{95%} -0.04 a 0.00 -0.02 a -0.01 P valor 0.0285 0.0003	24.61	-127.9	-121.4
14	$T_{E}CAL = -0.0370 - 0.0018 \Delta aVE_{DU}$ IC _{95%} -0.06 a -0.02 -0.004 a 0.000 P valor 0.0005 0.0906	5.63	-118.7	-112.3
15	$T_{E}CAL = -0.0102 - 0.0055 \Delta EMA - 0.0041 \Delta GPC$ IC _{95%} -0.03 a 0.01 -0.012 a 0.001 -0.006 a -0.002 P valor 0.3228 0.0945 0.0004	44.43	-133.7	-125.1

¹ Variables expresadas en unidades (%) de cambio (Δ) o tamaños de los efectos (T_E): aVE = altura (μ m) de la vellosidad, pCR = profundidad (μ m) de la cripta, RVC = aVE/pCR, DU = duodeno, YE = yeyuno, IL = íleon, PR = promedio (DU, YE, IL), EMA = energía metabolizable aparente (kcal/kg), GPC = ganancia de peso (g/d), CAL = conversión alimentaria. pR² = estadístico pseudo R². AIC y BIC = criterios de información Akaike y bayesiano, respectivamente.

en el promedio de las tres secciones intestinales, se observa incrementos de 1.5, 3.2 y 2.8 kcal/kg en la EMA, respectivamente.

Por otro lado, es posible afirmar que, a cada punto porcentual de incremento en el valor observado de energía metabolizable aparente en el alimento, se asocian 0.7 g/d adicionales en la *ganancia diaria de peso corporal* (GPC). Asimismo, a cada punto porcentual de incremento en la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta en el íleon y en el promedio de las tres secciones intestinales, se asocian 0.07 y 0.06 g/d adicionales en la GPC. Sin embargo, por cada punto porcentual de incremento en la profundidad de la cripta en el yeyuno se observa una reducción en 0.13 g/d en la GPC. Al respecto, van Dijk *et al.* (2002) refieren una relación lineal directa entre la ganancia de peso y la altura de las vellosidades intestinales, mientras que la menor ganancia de peso asociada a mayores profundidades de la cripta se explica por la mayor actividad proliferativa y, consecuentemente, mayor gasto nutricional de mantenimiento (Moran 1985).

Finalmente, respecto al tamaño del efecto en la *conversión alimentaria* (CAL) se observa que, por cada punto porcentual de incremento en la ganancia de peso corporal, en el valor observado de energía metabolizable aparente del alimento o en la altura de la vellosidad intestinal en el duodeno, se encuentran valores de CAL menores en 0.005, 0.012 y 0.002 unidades (g/g), respectivamente. Al respecto, Hayakawa *et al.* (2014) observaron una relación lineal ($R^2 = 0.98$) inversamente proporcional entre la conversión alimentaria y la altura de la vellosidad en el yeyuno, siendo la conversión menor en 0.22 g/g por cada unidad (μm) de incremento en la altura de la vellosidad.

Si bien no se detectó relaciones estadísticamente significativas ($P > 0.10$) entre algunas variables moderadoras y las variables de respuesta evaluadas, es importante destacar que, como en cualquier prueba estadística, la ausencia de significancia puede deberse a una real ausencia del efecto en estudio o a que dicho efecto no pudo ser detectado por la sensibilidad actual del análisis. En consecuencia, también en meta-regresión es importante no concluir que el efecto evaluado no existe tomando como base probabilidades (P valor) no significativas (Borenstein *et al.* 2009e,

Higgins y Altman 2011), para evitar la falacia común llamada “aceptando la nula” (Dragicevic 2016).

Por otro lado, se observa que la eficiencia de los modelos para explicar la heterogeneidad entre estudios, en base a los valores observados del *estadístico* pR^2 , en los tamaños de los efectos en el valor observado de energía metabolizable en el alimento, en la ganancia de peso corporal y en la conversión alimentaria varía entre 9.06 y 23.93%, entre 4.12 y 42.17% y entre 5.63 y 44.43%, respectivamente. Al respecto, Hughes *et al.* (2000) reportaron que menos del 20% de la variación en los valores observados de energía metabolizable aparente estuvieron asociados a características macroscópicas estructurales como los pesos relativos del duodeno, yeyuno o íleon en función al peso metabólico o a características microscópicas como la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta en dichas secciones intestinales. Asimismo, Hughes (2003) reportó que 33% de la variación individual en los valores observados de energía metabolizable estuvieron asociados a cambios morfológicos en la mucosa intestinal, principalmente la profundidad de la cripta.

Cabe destacar que la relación observada en el presente análisis entre un efecto en el valor observado de energía metabolizable del alimento y el tamaño del efecto en la ganancia de peso (Cuadro 11, modelo N° 8; Figura 21) o en la conversión alimentaria (Cuadro 11, modelo N° 13; Figura 26) es consistente con el conocimiento general en nutrición avícola y con la mayor ganancia de peso y menor conversión alimentaria reportada en experimentos específicos cuanto mayor es el contenido de energía metabolizable aparente en el alimento (McKinney y Teeter 2004, Vieira *et al.* 2015, Stefanello *et al.* 2017). Dicha consistencia no solo corrobora, a partir de data masiva, lo reportado en la literatura, sino que, además, demuestra una vez más (Cho *et al.* 2013, Boerman *et al.* 2015, Brunetti *et al.* 2017, Willis y Riley 2017) la validez de la aplicación de meta-regresión para el estudio de relaciones entre variables.

Respecto a la consistencia de la relación entre las variables moderadoras consideradas en el presente análisis y las variables de respuesta, si bien se encuentra una alta variabilidad en dicha relación, los intervalos de confianza al 95% obtenidos para los coeficientes asociados a cada variable moderadora –en su rol como variable

predictora– (Cuadro 11), particularmente en el caso del tamaño del efecto en el valor observado de energía metabolizable aparente en el alimento (modelos 1 al 6), se verifica intervalos de confianza con rangos con valores positivos. Esto indica que, si bien el grado de asociación entre las características histológicas y la energía metabolizable observada varía, su relación de proporcionalidad es consistentemente directa. Lo mismo se verifica en la relación entre el valor observado de energía metabolizable (modelo N° 8) o la profundidad de la cripta en el yeyuno (modelo N° 9) y la ganancia de peso corporal, en que la relación es consistentemente directa en el primer caso e inversa en el segundo. De igual forma, cambios en la ganancia de peso corporal o en el valor observado de energía metabolizable en el alimento o en la altura de la vellosidad en el duodeno son de forma consistente inversamente proporcionales a los cambios en la conversión alimentaria.

Por otro lado, la comparación de valores estimados mediante el contraste de sus respectivos intervalos de confianza al 95% permite establecer un criterio para evaluar la sensibilidad relativa de las variables moderadoras. Al respecto, en el contexto de la estimación, es posible afirmar que dos valores estimados o intervalos se replican entre sí cuando cumplen con algún criterio de proximidad como la superposición de sus intervalos de confianza (Greenwald *et al.* 1996).

Así, al comparar los intervalos de confianza 95% de las pendientes de los modelos simples N° 4 y 5 (Cuadro 11), es posible afirmar que si bien los cambios en la relación vellosidad/cripta en el duodeno y en el íleon no muestran diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) en su sensibilidad para predecir el tamaño del efecto en el valor observado de energía metabolizable del alimento; el cambio en la relación vellosidad/cripta en el íleon presenta como ventajas un intervalo de confianza relativamente menor en relación al valor estimado, mayor índice pR^2 y menores valores AIC y BIC. De igual manera, respecto a la altura de las vellosidades, el íleon ofrece también un intervalo de confianza relativamente menor, en relación al valor estimado, que el duodeno para predecir el valor observado de energía metabolizable del alimento. Asimismo, se observa que los modelos N° 10 y 11, presentan el mismo intervalo de confianza para su respectiva variable moderadora, por lo que no es posible afirmar que obtener el valor del cambio en la

relación vellosidad/cripta en el promedio de las tres secciones intestinales aporte alguna ventaja respecto al valor proveniente únicamente del íleon.

Es importante considerar que para la extrapolación de los resultados del presente análisis se debe tener presente los límites de la data empleada (Anexo 6) y los criterios de exclusión considerados que, entre otros, han dejado fuera del universo de datos analizados aquellos provenientes de experimentos en que por la propia naturaleza química o biológica del factor en evaluación se pudiera afectar la salud intestinal. Así, por ejemplo, no fueron incluidos en el análisis trabajos que incluyeron, como factor en evaluación, niveles incrementales de aminos biogénicas (Hashemi *et al.* 2014a, Hashemi *et al.* 2014b). Al respecto, se ha reportado incrementos en las alturas de las vellosidades intestinales no asociados a un mejor estado de salud y/o mayor capacidad de absorción de nutrientes, sino a condiciones desfavorables para la absorción de nutrientes como micotoxicosis asociada a menor ganancia de peso y mayor conversión alimentaria en cerdos (Duan *et al.* 2014), ingesta elevada de lectinas y fito-hemaglutininas de frejol común (*Phaseolus vulgaris* L.) asociada a menor absorción de glucosa en ratas (Nciri *et al.* 2015), exclusión de nutrientes en el duodeno mediante la aplicación de mangas duodenales endoluminales en ratas (Habegger *et al.* 2014), resección parcial del intestino (Yamauchi 2007, Yamauchi *et al.* 2010), desafío de coccidia (Fernando y McCraw 1973), y competencia por el alimento con la microbiota intestinal (Cook y Bird 1973; Forder *et al.* 2007).

Habitualmente, se ha considerado que la altura de la vellosidad intestinal y la profundidad de la cripta son indicadores importantes de la salud del intestino y que están directamente relacionados con la capacidad de la membrana intestinal para absorber nutrientes. Asimismo, que teóricamente la altura de la vellosidad intestinal refleja el balance entre la actividad proliferativa en las criptas y la descamación producida principalmente por agentes agresores externos (Nciri *et al.* 2015). Los resultados obtenidos en la presente evaluación respecto a la relación directa entre la altura de la vellosidad y la energía metabolizable observada en el alimento (modelos 1, 2 y 3) demuestran que lo que hasta la fecha era solo una hipótesis y se empleaba para explicar respuestas biológicas (Ferraris y Diamond 1997, Mathlouthi *et al.*

2002, van Dijk *et al.* 2002, Maneewan y Yamauchi 2005, Mitchell y Moretó 2006, Rajput *et al.* 2013, Lei *et al.* 2015, Heak *et al.* 2017) es verificable mediante el análisis del conjunto masivo de datos disponibles en la literatura.

4.4 DISCUSIÓN GENERAL

La industria avícola destina importantes recursos a la investigación en nutrición y alimentación para optimizar la eficiencia productiva y económica, y mejorar la calidad de sus productos. Sin embargo, la información obtenida suele ser empleada de forma sub-óptima en parte porque las pruebas de campo carecen de la suficiente sensibilidad estadística y, por otro lado, porque la información disponible en la literatura no es explotada en su totalidad. En ambos casos, integrar de forma objetiva la información disponible permite alcanzar conclusiones con mayor certeza estadística y encontrar patrones no detectables en base a la información de un solo experimento. Considerando los resultados del presente estudio, la aplicación extensiva de técnicas de meta-análisis para el procesamiento de la data proveniente de diferentes experimentos permitirá incrementar la utilidad de la información que tienen a su disposición los profesionales en nutrición.

Para el diseño del presente estudio se consideró como foco de atención la conversión alimentaria, pues de ella depende en gran medida la viabilidad económica de las operaciones avícolas. Al respecto, han sido abordados tres aspectos críticos en la investigación en nutrición avícola sobre la conversión alimentaria, cada uno de los cuales presenta diferentes oportunidades de mejora para la industria y la academia, diferentes oportunidades para su aplicación y diferentes niveles de complejidad (Cuadro 12). Así, en el presente estudio se buscó (1) determinar, mediante meta-análisis, el efecto de una intervención dada sobre la conversión alimentaria, en que resulta difícil tener la sensibilidad estadística necesaria (Evaluación N° 1), (2) evaluar, empleando meta-regresión y la información disponible en la literatura, posibles efectos sobre las características histológicas del intestino, pues se presume que están correlacionadas con la conversión alimentaria (Evaluación N° 2), y (3) determinar la veracidad y consistencia de dicha supuesta correlación mediante la aplicación de una nueva técnica de meta-análisis (Evaluación N° 3).

Cuadro 12: Estrategia empleada para el diseño general del estudio y su justificación

Criterio	Evaluación N° 1	Evaluación N° 2	Evaluación N° 3
Foco principal	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria	Conversión alimentaria
Condición limitante para la investigación	Los experimentos suelen no tener suficiente sensibilidad para detectar diferencias pequeñas, pero económicamente críticas, en conversión alimentaria.	No se emplea toda la data disponible para comprender cómo una estrategia nutricional ejerce su influencia en la conversión alimentaria.	Asunciones respecto a la relación que algunos indicadores tienen con la conversión alimentaria son tomadas como ciertas, constantes e invariables.
Oportunidad de mejora	Mejorar la probabilidad de detectar diferencias entre tratamientos en la conversión alimentaria cuando estas realmente existen.	Emplear una estrategia diferente para comprender mecanismos no evidentes en estudios específicos sobre la conversión alimentaria o sus indicadores.	Conocer qué tan real y consistente es una asunción respecto a la validez de una variable como indicador de productividad y eficiencia nutricional.
Aplicación en el presente estudio	Determinar el efecto de un aditivo al alimento sobre la conversión alimentaria en base a resultados de pruebas independientes, sin efectos estadísticamente significativos.	Determinar el efecto de las fitasas sobre las características histológicas de la mucosa intestinal.	Determinar si la relación entre las características histológicas de la mucosa intestinal, los indicadores de absorción de nutrientes y el comportamiento productivo es real y constante.
Adición de valor	Favorecer la toma de decisiones.	Mejorar el entendimiento de los mecanismos de acción.	Mejorar la capacidad para elaborar inferencias.
Aplicación en la industria	Alta	Media	Media
Aplicación en la academia	Media	Alta	Alta
Complejidad	Baja	Media	Alta

Los resultados observados en la Evaluación N° 1 demuestran que es posible incrementar el poder estadístico de un análisis, al integrar los resultados obtenidos en diferentes experimentos. Esto resulta de particular interés cuando se trata de experimentos llevados a cabo en condiciones de campo en que usualmente el número de repeticiones es reducido.

Por otro lado, los resultados observados en la Evaluación N° 2 demuestran no solo que el uso de fitasas está asociado a mejores indicadores de histología intestinal, como la profundidad de la cripta o la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta, lo que representa un potencial menor gasto nutricional en el mantenimiento de la función proliferativa de la mucosa intestinal (Yamauchi 2002; Martinez et al. 2019a; Maharjan *et al.* 2021c), sino que plantea, además, un posible mecanismo para explicar los beneficios del uso de este tipo de aditivos, además del incremento de la disponibilidad de fósforo fítico (Wealleans *et al.* 2016) y de la reducción de las pérdidas de proteínas endógenas (Onyango *et al.* 2009),

Finalmente, los resultados de la Evaluación N° 3 validan la relación que existe entre las características histomorfométricas de la mucosa intestinal, el valor observado de energía metabolizable aparente del alimento, como indicador de absorción de nutrientes, y el comportamiento productivo.

Respecto a la Evaluación N° 3 y a la validez del universo de datos empleado, es importante considerar que con frecuencia las bases de datos meta-analíticas presentan data incompleta y, consecuentemente, la data está desbalanceada y los efectos de los factores no son ortogonales (independientes), lo que puede conllevar problemas como la existencia de puntos de apalancamiento, valores anómalos, colinealidad entre covariables y variables desconectadas (Sauvant *et al.* 2008). Por esta razón, si bien existe una abundante cantidad de artículos científicos que reportan resultados en algunas de las variables estudiadas, para este análisis y con la finalidad de respaldar la fortaleza de las inferencias, se empleó únicamente aquellos artículos que presentaron resultados disponibles de todas las variables en estudio; es decir, las dos mediciones histológicas críticas en las tres secciones intestinales, el valor

observado de energía metabolizable aparente del alimento, la ganancia de peso y la conversión alimentaria.

Asimismo, es importante considerar que al igual que en cualquier estudio, también cuando se aplican técnicas de meta-análisis, se debe ser cauteloso evitando generar inferencias de causa efecto cuando en realidad algunos casos –como de meta-regresión– pueden, aunque no necesariamente, solo establecer relaciones de asociación (Rothstein *et al.* 2013). Tal es el caso de los resultados observados en la Evaluación N° 3, en que formalmente no es posible establecer relaciones causa-efecto entre las características histológicas del intestino, el valor observado de energía metabolizable aparente del alimento y la ganancia de peso y conversión alimentaria. Por el contrario, debido a las características de la data empleada en las Evaluaciones N° 1 y 2, en estas sí fue posible establecer relaciones causa-efecto tomando como base los respectivos resultados, pues los efectos generales observados son consecuencia de la aplicación de tratamientos.

Por otro lado, las técnicas de meta-análisis generalmente son empleadas para determinar el tamaño del efecto de un factor único y para ello se analiza el conjunto de datos disponibles provenientes de experimentos donde dicho factor común ha sido empleado en los tratamientos (Viechtbauer 2010). Sin embargo, en el presente estudio, se ha empleado un enfoque novedoso, no reportado previamente en la literatura, para estudiar las relaciones existentes entre variables, pero empleando como tamaño del efecto las diferencias de medias. Así, en el presente estudio no se han analizado un conjunto de experimentos donde el factor en evaluación es común. Es decir que en la Evaluación N° 3 el enfoque no ha sido determinar el tamaño del efecto global de una intervención particular, sino estrictamente estudiar la relación entre los cambios porcentuales en las variables moderadoras y los tamaños de los efectos observados en las variables de respuesta. De esta forma, se han podido emplear datos provenientes de experimentos donde los factores en evaluación fueron diversos (Martinez *et al.* 2019b).

Los resultados del presente estudio indican que es posible optimizar la forma en que es utilizada la data proveniente de la investigación en nutrición avícola, empleando

técnicas de meta-análisis. Las técnicas aplicadas en el presente estudio pueden ser aplicadas tanto a proyectos de alta complejidad en que el objetivo es comprender los mecanismos de acción que explican respuestas observadas en variables tan importantes como la conversión alimentaria, como a aquellas pruebas prácticas llevadas a cabo rutinariamente por la industria con la finalidad de respaldar la toma de decisiones, donde la conversión alimentaria es también la variable de respuesta crítica. Las técnicas de meta-análisis presentadas ofrecen, además, oportunidades de aplicación con gran valor en áreas tan diversas como la determinación de requerimientos nutricionales, la determinación de la eficacia relativa de diversos aditivos al alimento, o el desarrollo de modelos de predicción de respuesta productiva y económica.

V. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos bajo las condiciones de la presente investigación permiten llegar a las siguientes conclusiones:

1. La aplicación de meta-análisis para el análisis conjunto de nueve experimentos realizados en condiciones comerciales de campo incrementó el poder estadístico del análisis y permitió detectar diferencias estadísticamente significativas no evidentes en los experimentos independientes. Se detectó que el aditivo fitogénico evaluado favorece el comportamiento productivo siendo las aves más eficientes para transformar el alimento en peso corporal (35 g menos alimento por kg de peso corporal obtenido). La aplicación de meta-análisis puede favorecer la toma de decisiones; sobre todo cuando se trata de variables de respuesta que, como la conversión alimentaria, requieren mayor sensibilidad estadística.
2. Incrementos en la altura de las vellosidades o en la relación entre esta y la profundidad de la cripta están directamente relacionados con mayores valores de energía metabolizable aparente del alimento y estos, a su vez, con mayores ganancias de peso corporal. Incrementos en la ganancia de peso, en la energía metabolizable aparente y en la altura de las vellosidades en el duodeno están directamente relacionados con una menor conversión alimentaria. Estas relaciones han sido descritas cuantitativamente mediante modelos matemáticos, que permiten determinar en qué medida los cambios en una variable están asociados a cambios en otras variables. La altura de las vellosidades y su relación con la profundidad de las criptas pueden ser empleadas como indicadores de absorción de nutrientes para suministrar energía.

3. La aplicación de meta-análisis y meta-regresión permitió detectar efectos de las fitasas no evidentes en los experimentos independientes. La reducción en el contenido de fósforo afecta negativamente la longitud de las vellosidades intestinales y la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta. El uso de fitasas en dosis elevadas, y considerando su matriz nutricional de fósforo (uso *matrizado*), favorece la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta. La relación Ca/PD influye en la altura de la vellosidad cuando las fitasas se emplean sin considerar su aporte nutricional (uso *on top*). El uso de fitasas *on top* reduce la profundidad de las criptas, sin afectar negativamente la altura de las vellosidades intestinales, siendo dicho efecto mayor cuanto menor la edad de las aves. Consecuentemente, se incrementa la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta.
4. La influencia positiva que las fitasas ejercen en las características histológicas de la mucosa intestinal, asociada a la relación entre las características histológicas del intestino, el valor observado de energía metabolizable del alimento y el comportamiento productivo, sugieren un posible nuevo mecanismo de acción de las fitasas.
5. En el presente estudio, la aplicación de meta-análisis permitió incrementar el poder estadístico, comprender mejor la forma en que estrategias nutricionales influyen en la respuesta biológica de los pollos de carne, validar supuestos fisiológicos y desarrollar modelos matemáticos permitentes.

VI. RECOMENDACIONES

1. Aplicar técnicas de meta-análisis para el procesamiento de datos de múltiples experimentos con un mismo factor en evaluación y para verificar la consistencia entre la información provista por los proveedores y la obtenida en campo.
2. Evaluar, mediante meta-regresión, la relación entre histología intestinal y eficiencia productiva cuando los tratamientos evaluados incluyen factores de riesgo de enteritis. Asimismo, investigar qué factores influyen en la elongación de las vellosidades intestinales no asociada a un mejor desarrollo o capacidad de absorción de nutrientes, sino a hiperplasia inflamatoria y a la concomitante menor absorción de nutrientes y eficiencia productiva.
3. Validar la relación observada entre histología intestinal y eficiencia productiva mediante un meta-análisis de mayor envergadura, suprimiendo el criterio de inclusión empleado en el presente estudio respecto a la disponibilidad de data sobre el valor observado de energía metabolizable como variable de respuesta.
4. Desarrollar, mediante meta-análisis, modelos matemáticos para determinar el número mínimo de repeticiones y el número de aves a muestrear, principalmente en experimentos donde las variables histológicas son las fundamentales.
5. Aplicar técnicas de meta-análisis, empleando diversos tipos de tamaños del efecto, para la determinación de requerimientos nutricionales, de valores de biodisponibilidad relativa de fuentes de nutrientes, para el estudio del metabolismo energético y la comparación de sistemas de energía, entre otros.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adler, J. 2010. R in a nutshell. A desktop quick reference. O'Reilly Media, Inc. California, United States of America. 611 p.

Angel, R; Tamim, NM; Applegate, TJ; Dhandu, AS; Ellestad, LE. 2002. Phytic acid chemistry: Influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *The Journal of Applied Poultry Research* 11(4):471-480. doi: 10.1093/japr/11.4.471

Barde, PJ. 2012. What to use to express the variability of data: standard deviation or standard error of mean? *Biostatistics* 3(3):113-116. doi: 10.4103/2229-3485.100662

Barkley, GR; Wallis, IR. 2001. Threonine requirements of broiler chickens: Why do published values differ? *British Poultry Science* 42(5):610-615. doi: 10.1080/00071660120088425

Basmacioglu Malayoglu, H; Baysal, S; Misirlioglu, Z; Polat, M; Yilmaz, H; Turan, N. 2010. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. *British Poultry Science* 51(1): 67-80. doi: 10.1080/00071660903573702

Beitia, A; Boonsinchai, N; Caldas, J; Hilton, K; Maharjan, P; Weil, J; Suesuttajit, N; Martinez, D; Umberson, C; Coon, C. 2020a. Effects of broiler breeder maternal age on gene and protein expression in liver and abdominal fat of the hen and the liver and yolk sac membrane of the embryo. *Proceedings of the 2020 Poultry Science Association Virtual Annual Meeting. Poultry Science* 99 (Suppl. 1) N° 201, p. 99.

- Beitia, A; Maharjan, P; Weil, J; Hilton, K; Caldas, J; Suesuttajit, N; Martinez, D; Coon, C. 2019.** The effect of skip a day and everyday rearing feeding programs in protein synthesis and degradation, heat production, and body composition of broiler breeder pullets. Proceedings of the 2019 Poultry Science Association Annual Meeting. Montreal, Canada. Poultry Science 98 (Suppl. 1) N° 161, p. 65.
- Beitia, A; Maharjan, P; Weil, J; Hilton, K; Suesuttajit, N; Martinez, D; Caldas, J; Coon, C. 2020b.** Effects of rearing feeding programs in protein accretion, heat production, and body composition of broiler breeder pullets. Proceedings of the 2020 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 99 (Suppl. 1) N° M57, p. 19.
- Betancourt, L; Phandanouvong, V; Patiño, R; Hume, M; Rodriguez, F; Mayorga, O; Ariza, C; Afanador, G. 2011.** Aceites esenciales de orégano como reguladores de la microbiota del tracto gastrointestinal de pollos de engorde. En CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria) (Ed.). Aceites esenciales de orégano: un aditivo funcional con amplio potencial de uso en la industria avícola. ISBN: 978-958-740-051-9 Bogotá, Colombia. Consultado 06 may. 2019. Disponible en <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/12862>
- Boerman, JP; Firkins, JL; St-Pierre, NR; Lock, AL. 2015.** Intestinal digestibility of long-chain fatty acids in lactating dairy cows: a meta-analysis and meta-regression. Journal of Dairy Science 98(12): 8889-8903. doi: 10.3168/jds.2015-9592
- Borenstein, M; Hedges, LV; Higgins, JPT; Rothstein, HR. 2009a.** Identifying and quantifying heterogeneity. *In* Introduction to meta-analysis. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, United Kingdom. p. 107-125.
- Borenstein, M; Hedges, LV; Higgins, JPT; Rothstein, HR. 2009b.** Prediction intervals. *In* Introduction to meta-analysis. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, United Kingdom. p. 127-133.

- Borenstein, M; Hedges, LV; Higgins, JPT; Rothstein, HR. 2009c.** Subgroup analysis. *In* Introduction to meta-analysis. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, United Kingdom. p. 149-186.
- Borenstein, M; Hedges, LV; Higgins, JPT; Rothstein, HR. 2009d.** Meta-regression. *In* Introduction to meta-analysis. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, United Kingdom. p. 187-203.
- Borenstein, M; Hedges, LV; Higgins, JPT; Rothstein, HR. 2009e.** Power analysis for meta-analysis. *In* Introduction to meta-analysis. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, United Kingdom. p. 257-276.
- Borenstein, M; Higgins, JPT; Hedges, LV; Rothstein, HR. 2017.** Basics of meta-analysis: I^2 is not an absolute measure of heterogeneity. *Research Synthesis Methods* 8(1):5-18. doi: 10.1002/jrsm.1230
- Bougouin, A; Appuhamy, JADRN; Kebreab, E; Dijkstra, J; Kwakkel, RP; France, J. 2014.** Effects of phytase supplementation on phosphorus retention in broilers and layers: a meta-analysis. *Poultry Science* 93(8):1981-1992. doi: 10.3382/ps.2013-03820
- Bruerton, K. 2002.** Antibiotic growth promoters - are there alternatives? *Proceedings of the 2002 Poultry Information Exchange*. Queensland, Australia. p. 171-176.
- Brunetti, ND; Gennaro, LD; Correale, M; Santoro, F; Caldarola, P; Gaglione, A; Biase, MD. 2017.** Pre-hospital electrocardiogram triage with telemedicine near halves time to treatment in STEMI: a meta-analysis and meta-regression analysis of non-randomized studies. *International Journal of Cardiology* 232:5-11. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.01.055
- Burrin, DG. 2002.** Gastrointestinal protein and amino acid metabolism in growing animals. *In* Zabielski, R; Gregory, PC; Westrom, B (eds.). *Biology of the intestine in growing animals*. Volume 1. First edition. Elsevier Science Publishers BV. Amsterdam, The Netherlands. p. 695-725.

- Chan, MLE; Arvey, RD. 2012.** Meta-analysis and the development of knowledge. *Perspectives on Psychological Science* 7(1):79-92. doi: 10.1177/1745691611429355
- Chacon, J; Pimentel, M; Pedroso, A; Ferreira, A; Martinez, D; Ruelas, C. 2007.** *In vitro* evaluation of the effect of Ceftiofur Sodium and of a new Gentamycin Sulfate formulation on the viability of Marek disease virus. Proceedings of the XX Latin American Poultry Congress. Porto Alegre, Brazil.
- Chen, X; Zhang, Q; Applegate, TJ. 2016.** Impact of dietary branched chain amino acids concentration on broiler chicks during aflatoxicosis. *Poultry Science* 95(6):1281-1289. doi: 10.3382/ps/pew061
- Cho, S; Ryu, C; Yang, J; Mbiriri, DT; Choi, CW; Chae, JI; Kim, YH; Shim, KS; Kim, YJ; Choi, NJ. 2013.** Effect of conjugated linoleic acid feeding on the growth performance and meat fatty acid profiles in broiler: meta-analysis. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 26(7):995-1002. doi: 10.5713/ajas.2013.13071
- Choct, M. 2009.** Managing gut health through nutrition. *British Poultry Science* 50(1):9-15. doi: 10.1080/00071660802538632
- Chuy, M; Cumpa, M; Martinez, M. 2005.** Effect of an antimicrobial association (Respirend-M[®]) on productive performance of broilers. Proceedings of the III AMEVEA Peru International Seminar and I Scientific Meeting. Lima, Peru.
- Cobb-Vantress. 2015.** Cobb 500 broiler performance and nutrition supplement (en línea, manual). Consultado 06 may. 2019. Disponible en http://www.cobb-vantress.com/docs/default-source/cobb-500-guides/Cobb500_Broiler_Performance_And_Nutrition_Supplement.pdf
- Cohn, LD; Becker, BJ. 2003.** How meta-analysis increases statistical power. *Psychological Methods* 8(3):243-253. doi: 10.1037/1082-989X.8.3.243

- Cook, RH; Bird, FH. 1973.** Duodenal villus area and epithelial cellular migration in conventional and germ-free chicks. *Poultry Science* 52(6):2276-2280. doi: 10.3382/ps.0522276
- Cowieson, AJ; Acamovic, T; Bedford, MR. 2004.** The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *British Poultry Science* 45(1):101-108. doi: 10.1080/00071660410001668923
- Cowieson, AJ; Acamovic, T; Bedford, MR. 2006a.** Phytic acid and phytase: Implications for protein utilisation by poultry. *Poultry Science* 85(5):878-885. doi: 10.1093/ps/85.5.878
- Cowieson, AJ; Acamovic, T; Bedford, MR. 2006b.** Supplementation of corn-soy based diets with an *Escherichia coli*-derived phytase: Effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and the metabolizability of minerals and energy. *Poultry Science* 85(8): 1389-1397. doi: 10.1093/ps/85.8.1389
- Cowieson, AJ; Aureli, R; Guggenbuhl, P; Fru-Nji, F. 2014.** Possible involvement of myo-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. *Animal Production Science* 55(6):710-719. doi: 10.1071/AN14044
- Cowieson, AJ; Bedford, MR; Selle, PH; Ravindran, V. 2009.** Phytate and microbial phytase: Implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *World's Poultry Science Journal* 65(3):401-418. doi: 10.1017/S0043933909000294
- Cowieson, AJ; Cowieson, NP. 2011.** Phytate and the thermodynamics of water. *Proceedings of the 22nd Annual Australian Poultry Science Symposium*. Poultry Research Foundation. Sydney, Australia. p. 22-25.
- Crea, F; De Stefano, C; Milea, D; Sammartano, S. 2008.** Formation and stability of phytate complexes in solution. *Coordination Chemistry Reviews* 252(10-11):1108-1120. doi: 10.1016/j.ccr.2007.09.008

- Da Silva AA; Krabbe, EL; de Avila, VS; Lopes, LDS; Nunes, AP; Morés, MAZ; Roll, VFB; Xavier, EG. 2016.** Phytate-phosphorus and phytase contents on the relative weight of organs, intestinal morphometry and performance of broilers. *Ciência Rural* 46(10):1858-1864. doi: 10.1590/0103-8478cr20150892
- Dalal, R. 2005.** A meta-analysis of the relationship between organizational citizenship behavior and counterproductive work behavior. *Journal of Applied Psychology* 90(6):1241-1255. doi: 10.1037/0021-9010.90.6.1241
- De Oliveira, MC; Loch, FC; Montes Da Silva, D; Carneiro Martins, P; Teixeira, AS; Claro, DC. 2015.** Uso del polen de abeja en la alimentación de pollos de engorda. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 6(3):263-276. doi: 10.22319/rmcp.v6i3.4090
- Deeks, JJ; Higgins, JPT; Altman, DG. 2011.** Analysing data and undertaking meta-analysis. *In* Higgins JPT and Green S (eds.). *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. The Cochrane Collaboration and John Wiley and Sons. West Sussex, England. p. 243-296.
- Deighton, N; Gridewell, SM; Deans, SJ; Groodman, BA. 1993.** Identification by EPR spectroscopy of carvacrol and thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 63(2):221-225. doi: 10.1002/jsfa.2740630208
- Demétrio, CGB; Menten, JFM; Leandro, RA; Brien, C. 2013.** Experimental power considerations – Justifying replication for animal care and use committees. *Poultry Science* 92(9):2490-2497. doi: 10.3382/ps.2012-02731
- Dersjant-Li, Y; Awati, A; Schulze, Partridge; G. 2015.** Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(5): 878-896. doi: 10.1002/jsfa.6998
- Dragicevic, P. 2016.** Fair Statistical Communication in HCI. *In* Robertson, J; Kaptein, M (eds.). *Modern statistical methods for HCI*. Springer International Publishing. Switzerland. p. 291-330.

- Duan, J; Yin, J; Wu, M; Liao, P; Deng, D; Liu, G; Wen, Q; Wang, Y; Qiu, W; Liu, Y; Wu, X; Ren, W; Tan, B; Chen, M; Xiao, H; Wu, L; Li, T; Nyachoti, CM; Adeola, O; Yin, Y. 2014.** Dietary glutamate supplementation ameliorates mycotoxin-induced abnormalities in the intestinal structure and expression of amino acid transporters in young pigs. *PLoS One* 9(11):1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0112357
- Duval, S. 2005.** The trim and fill method. *In* Rothstein, HR; Sutton, AJ; Borenstein, M (eds.). *Publication bias in meta-analysis prevention, assessment and adjustments*. John Wiley & Sons Ltd. West Sussex, England. p. 127-144.
- Egger, M; Davey-Smith, G; Schneider, M; Minder, C. 1997.** Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 315:629-634. doi: 10.1136/bmj.315.7109.629
- European Commission 2003.** Regulation 1831 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union* 268:29-43.
- European Commission. (2003).** Regulation 1831 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union* 268:29-43. Consultado 06 may. 2019. Disponible en <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32003R1831>
- Faleiro, L; Miguel, G; Gomes, S; Costa, L; Venâncio, F; Teixeira, A; Figueiredo, AC; Barroso, JG; Pedro, LG. 2005.** Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(21):8162-8168. doi: 10.1021/jf0510079
- Fernando, MA; McCraw, BM. 1973.** Mucosal morphology and cellular renewal in the intestine of chickens following a single infection of *Eimeria acervulina*. *The Journal of Parasitology* 59(3):493-501. doi: 10.2307/3278782

- Ferraris, RP; Diamond, J. 1997.** Regulation of intestinal sugar transport. *Physiological Reviews* 77(1):257-302. doi: 10.1152/physrev.1997.77.1.257
- Filipe, JAN; Leinonen, I; Kyriazakis, I. 2018.** The quantitative principles of animal growth. *In* Moughan, PJ; Hendriks, WH (eds.). Feed evaluation science. First edition. Wageningen Academic Publishers. Wageningen, The Netherlands. p. 387-422.
- Follmann, DA; Proschan, MA. 1999.** Valid inference in random effects meta-analysis. *Biometrics* 55(3):732-737. doi: 10.1111/j.0006-341x.1999.00732.x
- Forder, REA; Howarth, GS; Tivey, DR; Hughes, RJ. 2007.** Bacterial modulation of small intestinal goblet cells and mucin composition during early posthatch development of poultry. *Poultry Science* 86(11):2396-2403. doi: 10.3382/ps.2007-00222
- Freitas, ER; Sakomura, NK; Dahlke, F; Ramos Santos, F; Arruda Barbosa, NA. 2008.** Desempenho, eficiência de utilização dos nutrientes e estrutura do trato digestório de pintos de corte alimentados na fase pré-inicial com rações de diferentes formas físicas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37(1):73-78. doi: 10.1590/S1516-35982008000100010
- García, V; Catalá-Gregori, P; Hernández, F; Megías, MD; Madrid, J. 2007.** Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *The Journal of Applied Poultry Research* 16(4):555-562. doi: 10.3382/japr.2006-00116
- Glass, GV. 1976.** Primary, secondary, and meta-analysis of research. *Educational Researcher* 5(10):3-8. doi: 10.3102/0013189X005010003
- Gordon, RA. 1968.** Issues in multiple regression. *American Journal of Sociology* 73(5):592-616. doi: 10.1086/224533
- Greathead, H; Kamel, C. 2006.** Encapsulated plant extracts to fight Coccidiosis. *Feed Mix*. 14(4):18-21. Consultado 06 may. 2019. Disponible en

https://www.allaboutfeed.net/PageFiles/10510/001_boerderij-download-AAF10079D01.pdf

- Greene, WH. 2003.** Finite-sample properties of the least squares estimator. *In* Econometric analysis. Fifth edition. Prentice Hall. New Jersey, United States of America. p. 41-64.
- Greenwald, AG; Gonzalez, R; Harris, RJ; Guthrie, D. 1996.** Effect sizes and *p* values: What should be reported and what should be replicated? *Psychophysiology* 33(2):175-183. doi: 10.1111/j.1469-8986.1996.tb02121.x
- Grubbs, FE. 1969.** Procedures for detecting outlying observations in samples. *Technometrics* 11(1):1-21. doi: 10.1080/00401706.1969.10490657
- Gujarati, DN. 2003.** Multicollinearity: what happens if the regressors are correlated? *In* Basic econometrics. Fourth edition. McGraw-Hill/Irwin. New York, United States of America. p. 341-386.
- Habegger, KM; Al-Massadi, O; Heppner, KM; Myronovych, A; Holland, J; Berger, J; Yi, CX; Gao, Y; Lehti, M; Ottaway, N; Amburgy, S; Raver, C; Müller, TD; Pfluger, PT; Kohli, R; Perez-Tilve, D; Seeley, RJ; Tschöp, MH. 2014.** Duodenal nutrient exclusion improves metabolic syndrome and stimulates villus hyperplasia. *Gut* 63(8):1238-1246. doi: 10.1136/gutjnl-2013-304583
- Hashemi, SM; Loh, TC; Foo, HL; Zulkifli, I; Hair-Bejo, M. 2014a.** Dietary putrescine effects on performance parameters, nutrient digestibility, intestinal morphology and tissue polyamine content of broilers fed low protein diet. *Iranian Journal of Veterinary Research* 15(4):385-391. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4789218/>
- Hashemi, SM; Loh, TC; Foo, HL; Zulkifli, I; Hair-Bejo, M. 2014b.** Small intestine morphology, growth performance and nutrient digestibility of young broilers affected by different levels of dietary putrescine. *Journal of Animal and Poultry Sciences* 3(3):95-104. http://www.japsc.com/wp-content/uploads/2014/10/Hashemi-JAPSC-2014-3_3_-95-104.pdf

- Hayakawa, T; Masuda, T; Tsukahara, T; Nakayama, K; Maruyama, K. 2014.** Morphometric and histopathological evaluation of a probiotic and its synergism with vaccination against coccidiosis in broilers. *Animal Science Letters* 1(1):33-49. <http://paper.uscip.us/asl/asl.2014.1004.pdf>
- Heak, C; Sukon, P; Kongpechr, S; Tengjaroenkul, B; Chuachan, K. 2017.** Effect of direct-fed microbials on intestinal villus height in broiler chickens: a systematic review and meta-analysis of controlled trials. *International Journal of Poultry Science* 16(10):403-414. doi: 10.3923/ijps.2017.403.414
- Hedges LV, Olkin I. 1985.** Parametric estimation of effect size from a series of experiments. *In* *Statistical methods for meta-analysis*. Academic Press Inc., Florida, United States of America. p. 107-145.
- Helander, IM; Alakomi, HL; Latva-Kala, K; Mattila-Sandholm, T; Pol, I; Smid, EJ; Gorris, LGM; Wright, AV. 1998.** Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(9):3590-3595. doi: 10.1021/jf980154m
- Higgins, JPT; Altman, DG. 2011.** Assessing risk of bias in included studies. *In* Higgins JPT and Green S (eds.). *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. The Cochrane Collaboration and John Wiley and Sons. West Sussex, England. p. 187-241.
- Higgins, JPT; Thompson, SG. 2002.** Quantifying heterogeneity in meta-analysis. *Statistics in Medicine* 21(11):1539-1558. doi: 10.1002/sim.1186
- Higgins, JPT; Thompson, SG. 2004.** Controlling the risk of spurious findings from meta-regression. *Statistics in Medicine* 23(11):1663-1682. doi: 10.1002/sim.1752
- Hilton, K; Beitia, A; Maharjan, P; Weil, J; Suesuttajit, N; Martinez, D; Coon, C. 2019.** The development of Ark NE value for soybean meal. *Proceedings of the 2019 Poultry Science Association Annual Meeting*. Montreal, Canada. *Poultry Science* 98 (Suppl. 1) N° 66, p. 27.

- Hosseini, SM; Afshar, M. 2017.** Effects of feed form and xylanase supplementation on performance and ileal nutrients digestibility of heat-stressed broilers fed wheat-soybean diet. *Journal of Applied Animal Research* 45(1):550-556. doi: 10.1080/09712119.2016.1224765
- Hox JJ. 2010a.** Estimation and hypothesis testing in multilevel regression. *In* Multilevel analysis. Techniques and applications. Second edition. Taylor & Francis. New York, United States of America. p. 40-53.
- Hox JJ. 2010b.** The multilevel approach to meta-analysis. *In* Multilevel analysis. Techniques and applications. Second edition. Taylor & Francis. New York, United States of America. p. 205-232.
- Hox, JJ; de Leeuw, ED. 2003.** Multilevel models for meta-analysis. *In* Reise, SP; Duan, N (eds.). Multilevel modelling. Methodological advances, issues, and applications. Lawrence Erlbaum Associates, Inc. New Jersey, United States of America. p. 90-111.
- Huedo-Medina, T; Sanchez-Meca, J; Marin-Martinez, F; Botella, J. 2006.** Assessing heterogeneity in meta-analysis: Q statistic or I2 index? Center for Health, Intervention and Prevention. Center for Health, Intervention and Prevention (CHIP) Documents 19, University of Library. Connecticut, United States of America. Consultado 09 mar. 2019. Disponible en https://opencommons.uconn.edu/chip_docs/19/
- Hughes, RJ; Choct, M; Tivey; DR. 2000.** Gastro-intestinal tract structure and energy metabolism in broilers (en línea). Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium. New South Wales. Australia. p. 166-169. Consultado 20 mar. 2019. Disponible en <https://sydney.edu.au/vetscience/apss/proceedings/2000.shtml>
- Hughes, RJ. 2003.** Energy metabolism of chickens. Physiological limitations. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Publication N° 02/151. RIRDC Project N° SAR-13^a (en línea, reporte). Australia. Consultado 2 ago. 2018. Disponible en <http://www.rirdc.gov.au/reports/CME/02-151.pdf>

- Humphrey, CD; Turk, DE. 1974.** The infrastructure of chick intestinal absorptive cells during *Eimeria acervulina* infection. Poultry Science 53(3):1001-1008. doi: 10.3382/ps.0531001
- Iji, PA; Hughes, RJ; Choct, M; Tivey, DR. 2001.** Intestinal structure and function of broiler chickens on wheat-based diets supplemented with a microbial enzyme. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 14(1):54-60. doi: 10.5713/ajas.2001.54
- Imdadullah, M; Aslam, M; Altaf, S. 2016.** mctest: an R package for detection of collinearity among regressors. The R Journal 8(2):495-505. doi: 10.32614/RJ-2016-062
- Inca, J.; Martínez, D.; Vilchez, C. 2016.** Calidad de cáscara en gallinas ponedoras de última fase de producción. Actualidad Avipecuaria. Número 54. Consultado 6 Ene. 2019. Disponible en: <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/calidadde-càscara-en-gallinas-ponedoras-de-ultima-fase-de-produccion.html>.
- Inca, JS; Martinez, DA; Vilchez, C. 2020.** Phenotypic correlation between external and internal egg quality characteristics in 85-week-old laying hens. International Journal of Poultry Science 19(8): 346-355. doi: 10.3923/ijps.2020.346.355
- IntHout, J; Ioannidis, JPA; Rovers, MM; Goeman, JJ. 2016.** Plea for routinely presenting prediction intervals in meta-analysis. BMJ Open 6(7):1-6. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010247
- Ishihara, K; Chuma, T; Andoh, M; Yamashita, M; Asakura, H; Yamamoto, S. 2017.** Effect of climatic elements on *Campylobacter* colonization in broiler flocks reared in southern Japan from 2008 to 2012. Poultry Science 96(4):931-937. doi: 10.3382/ps/pew354
- Jamroz, D; Wiliczekiewicz, A; Wertelecki, T; Orda, J; Skorupińska, J. 2005.** Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. British Poultry Science 46(4):485-493. doi: 10.1080/00071660500191056

- Jang, IS; Ko, YH; Kang, SY; Lee, CY. 2007.** Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 134(3-4):304-315. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.06.009
- Jeurissen, SHM; Lewis, F; van der Klis, JD; Mroz, Z; Rebel, JMJ; ter Huurne, AAHM. 2002.** Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 3(1):1-14. <https://www.caister.com/ciim/v/v3/01.pdf>
- Kaps, M; Lamberson, WR. 2004.** Multiple linear regression. *In* *Biostatistics for animal science*. CABI Publishing. Oxfordshire, United Kingdom. p. 154-184.
- Khodambashi, NE; Naeini, SZ; Ruiz-Feria, CA. 2013.** Growth performance, digestibility, immune response and intestinal morphology of male broilers fed phosphorus deficient diets supplemented with microbial phytase and organic acids. *Livestock Science* 157(2-3):506-513. doi: 10.1016/j.livsci.2013.08.014
- Khosravinia, H; Nourmohammadi, R; Afzali, N. 2015.** Productive performance, gut morphometry, and nutrient digestibility of broiler chicken in response to low and high dietary levels of citric acid. *The Journal of Applied Poultry Research* 24(4):470-480. doi: 10.3382/japr/pfv050
- Le'tourneau-Montminy, MP; Narcy, A; Lescoat, P; Bernier, JF; Magnin, M; Pomar, C; Nys, Y; Sauvant, D; Jondreville, C. 2010.** Meta-analysis of phosphorus utilisation by broilers receiving corn-soybean meal diets: influence of dietary calcium and microbial phytase. *Animal* 4(11):1844-1853. doi: 10.1017/S1751731110001060
- Lee, KW; Everts, H; Beynen, AC. 2004.** Essential oils in broiler nutrition. *International Journal of Poultry Science* 3(12):738-752. doi: 10.3923/ijps.2004.738.752
- Lehman, RN. 2011.** The effect of dietary phytic acid concentration and phytase supplementation on performance, bone ash, and intestinal health of broilers vaccinated with a live coccidial oocyst vaccine. Thesis Ph.D. Blacksburg,

Virginia, United States of America. Virginia Polytechnic Institute and State University. 151 p. Consultado 02 dic. 2018. Disponible en <https://vtechworks.lib.vt.edu/handle/10919/29659>

Lei, XJ; Ru, YJ; Zhang, HF. 2014. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based direct-fed microbials and antibiotic on performance, nutrient digestibility, cecal microflora, and intestinal morphology in broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research* 23(3):486-493.

Lei, X; Piao, X; Ru, Y; Zhang, H; Péron, A; Zhang, H. 2015. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based direct-fed microbial on performance, nutrient utilization, intestinal morphology and cecal microflora in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 28(2):239-246. doi: 10.5713/ajas.14.0330

Levkut, M; Marcin, A; Viera, R; Lenhardt, L; Danielovic, I; Hecl, J; Blanár, J; Levkutová M; Pistl, J. 2011. Influence of oregano extract on the intestine, some plasma parameters and growth performance in chickens. *Acta Veterinaria (Beograd)* 61(2-3):215-225. doi: 10.2298/AVB1103215L

Lopes, CDC; Rabello, CBV; da Silva Júnior, VA; de Holanda, MCR; de Arruda, EMF; da Silva, JDCR. 2011. Desempenho, digestibilidade, composição corporal e morfologia intestinal de pintos de corte recebendo dietas contendo levedura de cana-de-açúcar. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 33(1):33-40. doi: 10.4025/actascianimsci.v33i1.10787

López-López, JA; Marín-Martínez, F; Sánchez-Meca, J; Van den Noortgate, W; Viechtbauer, W. 2014. Estimation of the predictive power of the model in mixed-effects meta-regression: a simulation study. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology* 67(1):30-48. doi: 10.1111/bmsp.12002

Lott, JNA. 1984. Accumulation of seed reserves of phosphorus and other minerals. *In* Murray, DR. *Seed physiology*. Volume 1. Academic Press, New York, United States of America. p. 139-166.

- Lü, M; Li, D; Gong, L; Ru, Y; Ravindran, V. 2009.** Effects of supplemental microbial phytase and xylanase on the performance of broilers fed diets based on corn and wheat. *Journal of Poultry Science* 46(3):217-223. doi: 10.2141/jpsa.46.217
- Lyte, JM; Shrestha, S; Wagle, BR; Liyanage, R; Martinez, DA; Donoghue, AM; Daniels, KM; Lyte, M. 2021.** Serotonin modulates *Campylobacter jejuni* physiology and *in vitro* interaction with the gut epithelium. *Poultry Science* 100(3):100944. doi: 10.1016/j.psj.2020.12.041.
- Maharjan, P; Beitia, A; Weil, J; Suesuttajit, N; Hilton, K; Caldas, J; Umberson, C; Martinez, D; Kong, B; Owens, CM; Coon, C. 2021a.** Woody breast myopathy broiler show age-dependent adaptive differential gene expression in Pectoralis major and altered in-vivo triglyceride kinetics in adipogenic tissues. *Poultry Science* 100(7):101092. doi: 10.1016/j.psj.2021.101092.
- Maharjan, P; Hilton, K; Beitia, A; Weil, J; Suesuttajit, N; Martinez, D; Coon, C. 2020a.** Effects of exogenous inclusions non-starch polysaccharides in typical starter diet on performance, G.I. microbiota, nutrient digestibility, and net energy availability. Proceedings of the 2020 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. *Poultry Science* 99 (Suppl. 1) N° P339, p. 103.
- Maharjan, P; Hilton, KM; Mullenix, G; Weil, J; Beitia, A; Suesuttajit, N; Umberson, C; Martinez, DA; Caldas, JV; Kalinowski, A; Yacoubi, N; Naranjo, V; England, JA; Coon, CN. 2021b.** Effects of dietary energy levels on performance and carcass yield of 2 meat-type broiler lines housed in hot and cool ambient temperatures. *Poultry Science* 100(3):100885. doi: 10.1016/j.psj.2020.11.062.
- Maharjan, P; Martinez, DA; Weil, J; Hilton, KM; Mullenix, G; Beitia, A; Suesuttajit, N; Umberson, C; Coon, CN. 2021c.** Physiological growth trend of current meat broilers and dietary protein and energy management approaches for sustainable broiler production. *Animal*. 100284. doi: 10.1016/j.animal.2021.100284

- Maharjan, P; Mullenix, G; Hilton, K; Beitia, A; Weil, J; Suesuttajit, N; Martinez, D; Umberson, C; England, J; Caldas, J; Haro, VDN; Coon, C. 2020b.** Effects of dietary amino acid levels and ambient temperature on mixed muscle protein turnover in Pectoralis major during finisher feeding period in two broiler lines. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 00:1-14 (early view). doi: 10.1111/jpn.13363
- Maharjan, P; Weil, J; Beitia, A; Hilton, K; Suesuttajit, N; Umberson, C; Martinez, D; Caldas, J; Owens, C; Coon, C. 2020c.** Plasma metabolomics and muscle transcriptomics show potential involvement of vascularity issue for increased P. major mixed muscle degradation rate and myodegeneration in myopathy broilers. *Proceedings of the 2020 Poultry Science Association Virtual Annual Meeting. Poultry Science* 99 (Suppl. 1) N° 290, p. 142.
- Maharjan, P; Weil, J; Beitia, A; Suesuttajit, N; Hilton, K; Caldas, J; Umberson, C; Martinez, D; Owens, CM; Coon, CN. 2020d.** In-vivo collagen and mixed muscle protein turnover in two meat-type broiler strains in relation to woody breast myopathy. *Poultry Science* (In press) DOI: 10.1016/j.psj.2020.06.059.
- Manewan, B; Yamauchi, K. 2005.** Recovery of duodenal villi and cells in chickens refed protein, carbohydrate and fat. *British Poultry Science* 46(4):415-423. doi: 10.1080/00071660500158105
- Mangiafico, SS. 2015.** Multiple regression. *In An R companion for the handbook of biological statistics, version 1.3.3. Third edition.* Sparky House Publishing. New Jersey, United States of America. p. 216-228. Consultado 27 feb. 2019. Disponible en <http://rcompanion.org/documents/RCompanionBioStatistics.pdf>.
- Martínez, DA. 2012.** Evaluación de un producto a base de aceite esencial de orégano sobre la integridad intestinal, la capacidad de absorción de nutrientes y el comportamiento productivo de pollos de carne. Tesis de Magíster. Departamento de Nutrición. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. 368 p.

- Martinez, D. 2016a.** Development of nutraceutical products from plants with functionally active properties: Challenges for agroindustry. Proceedings of the II Agroindustrial Congress on Research and Social Responsibility. Trujillo, Peru.
- Martinez, D. 2016b.** Effect of oregano (*Origanum vulgare*) extract on clinical enteritis: A *Clostridium perfringens* avian model. Journal of Medicinally Active Plants 5(1) N° P13, p. 38. Proceedings of the American Council for Medicinally Active Plants - 7th Annual Conference. Lima, Peru. doi: 10.7275/R5BG2KXC
- Martinez, D. 2016c.** Mechanism of action of oregano (*Origanum vulgare*): Integrating findings on avian models. Journal of Medicinally Active Plants 5(1) N° P14, p. 38. Proceedings of the American Council for Medicinally Active Plants - 7th Annual Conference. Lima, Peru. doi: 10.7275/R5BG2KXC
- Martinez, D. 2016d.** Oregano: Experiences in the development of high added value products and in their positioning into the poultry market. Proceedings of the II Agroindustrial Congress on Research and Social Responsibility. Trujillo, Peru.
- Martinez, D; Alvarado, E; Vilchez, C. 2003.** Effect of a mixture of amoxicillin and norfloxacin in piglets feeding on productive performance and clinical signs. Anales Cientificos UNALM. May-Aug 2003. Vol. LV: 141-149.
- Martinez, D; Beitia, A; Weil, J; Hilton, K; Suesuttajit, N; Maharjan, P; Coon, C. 2020a.** Ingredient quality influence on Ark NE compared to Classic NE. Proceedings of the 2020 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, Georgia. Poultry Science 99 (Suppl. 1). N° M104, p. 33
- Martinez, D; Cisneros, E; Uculmana, C; Villegas, E; Tay, J; Caqui, F; Yupanqui, R; Vilchez, C. 2017a.** An intra-lab evaluation of performance in testing tonic immobility in broilers. Proceedings of the 2017 Poultry Science Association Annual Meeting. Orlando, USA. Poultry Science 96 (Suppl. 1) N° 261, p. 98.
- Martinez, D; Cisneros, E; Uculmana, C; Villegas, E; Tay, J; Caqui, F; Yupanqui, R; Vilchez, C. 2017b.** Effect of methionine restriction and intestinal challenge on tonic immobility in broilers. Proceedings of the 2017 Poultry

Science Association Annual Meeting. Orlando, USA. Poultry Science 96 (Suppl. 1) N° 262, p. 98.

Martinez, D; Hilton, K; Maharjan, P; Beitia, A; Weil, J; Suesuttajit, N; Coon, C. 2020b. The application of dual-energy X-absorptiometry to nutrition and yield dynamics research in poultry. Proceedings of the 2020 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, Georgia. Poultry Science. 99 (Suppl. 1). N° 184, p. 57.

Martinez, D; Hilton, K; Ponce de Leon, C; Weil, J; Beitia, A; Suesuttajit, N; Maharjan, P; Coon, C. 2019a. Heat production in broilers through the years: A meta-regression. Proceedings of the 2019 Poultry Science Association Annual Meeting. Montreal, Canada. Poultry Science 2019. 98 (Suppl. 1). N° 359, p. 144.

Martinez, D; Ponce de Leon, C; Vilchez, C. 2019a. Quantitative relationships among intestinal histology, nutrient absorption and performance of broilers: A meta-regression approach. Proceedings of the 2019 Poultry Science Association Annual Meeting. Montreal, Canada. Poultry Science 2019. 98 (Suppl. 1). N° 2018, p. 84.

Martinez, DA; Ponce-de-Leon, CL, Vilchez, C. 2020c. Meta-analysis of commercial-scale trials as a means to improve decision-making processes in the poultry industry: A phytogetic feed additive case study. International Journal of Poultry Science. 19:513-523. doi: 10.3923/ijps.2020.513.523

Martinez, D; Prado, F. 2016. Effect of organic calcium on egg production and quality. Proceedings of the 2016 Poultry Science Association Latin American Scientific Conference. Sao Paulo, Brazil. Poultry Science 95 (Suppl. 2) N° 107, p. 47.

Martinez, D; Prado, F; Vilchez, C. 2016. Relative availability of organic calcium for layer hens. Proceedings of the 2016 Poultry Science Association Latin American Scientific Conference. Sao Paulo, Brazil. Poultry Science 95 (Suppl. 2) N° 106, p. 47.

- Martinez, D; Rueda, D. 2014.** Evaluation of a phytogenic feed additive on productive performance of broilers under a subclinical hepatotoxic field challenge. Proceedings of the 2014 Ensminger School International Seminar: Advances in Animal Production. Iowa State University. Lima, Peru.
- Martinez, D; Tay, J; Caqui, F; Uculmana, C; Calagua, M. 2018.** Effect of body weight, sex, age and handling procedures on tonic immobility time and leucocyte profile in commercial broilers. Proceedings of the 2018 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 97 (Suppl. 1) N° P269, p. 341.
- Martinez, D; Uculmana, C. 2016a.** Artichoke extract (*Cynara scolymus* L.): experiences of use in animal production markets and opportunities for its production in Peru. Agroindustrial Science 6(1): 155-161. doi: 10.17268/agroind.science.2016.01.19
- Martinez, D; Uculmana, C. 2016b.** Opportunities for the use of agrifood and agroindustrial residues in the animal production industries. Proceedings of the II Agroindustrial Congress on Research and Social Responsibility. Trujillo, Peru.
- Martinez, D; Uculmana, C; R; Vilchez, C. 2017c.** Effect of color of lighting, breeder hen age and methionine restriction on performance and viscera weights of broilers. Proceedings of the 2017 Poultry Science Association Annual Meeting. Orlando, USA. Poultry Science 96 (Suppl. 1) N° 394P, p. 147.
- Martinez, D; Vilchez, C. 2013.** Evaluation of two strategies to attenuate the negative effect of Rapid Transit Syndrome on performance of broilers. Proceedings of the VII AMEVEA Peru International Seminar and V Scientific Meeting. Lima, Peru.
- Martinez, D; Vilchez, C. 2014.** Evaluation of a strategy to control coccidiosis in broilers. Proceedings of the 2014 Ensminger School International Seminar: Advances in Animal Production. Iowa State University. Lima, Peru.
- Martinez, D; Vilchez, C. 2015a.** Effect of coccidia challenge and oregano essential oil supplementation on performance and nutrient utilization of broilers.

Proceedings of the 2015 Poultry Science Association Annual Meeting. Kentucky, USA. Poultry Science 94 (Suppl. 1) N° 266, p. 90.

Martinez, D; Vilchez, C. 2015b. Effect of feeding oregano essential oil on antioxidant status of broilers. Proceedings of the XXIV Latin American Poultry Congress. Guayaquil, Ecuador.

Martinez, D; Vilchez, C. 2015c. Effect of feeding oregano essential oil on bone mineralization and skeletal integrity of broilers. Proceedings of the XXIV Latin American Poultry Congress. Guayaquil, Ecuador.

Martinez, D; Vilchez, C. 2015c. Effect of over-cooked soybean meal on gastrointestinal health and immunocompetence of broilers. Proceedings of the VIII AMEVEA Peru International Seminar and VI Scientific Meeting. Lima, Peru.

Martinez, D; Vilchez, C. 2016a. A single feces index (LIAN1.1) as indicator of intestinal health in broilers. Proceedings of the 2016 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 95 (Suppl. 1) N° T140, p. 235.

Martinez, D; Vilchez, C. 2016b. Effect of feeding oregano essential oil on efficiency and health of broilers under a mixed intestinal challenge. Proceedings of the 2016 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 95 (Suppl. 1) N° P231, p. 262.

Martinez, D; Vilchez, C. 2016c. Evaluation of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil on intestinal coccidiosis by an approximation with an avian infection model. Journal of Medicinally Active Plants 5(1) N° P11, p. 37. Proceedings of the American Council for Medicinally Active Plants - 7th Annual Conference. Lima, Peru. doi: 10.7275/R5BG2KXC

Martinez, D; Vilchez, C. 2016d. Milk Thistle (*Silybum marianum*) extract antihepatotoxic application: A poultry clinical intervention. Journal of Medicinally Active Plants 5(1) N° P12, p. 37. Proceedings of the American Council for Medicinally Active Plants - 7th Annual Conference. Lima, Peru. doi: 10.7275/R5BG2KXC

- Martínez, D; Vilchez, C. 2016e.** Oregano (*Origanum vulgare*) extract improves intestinal mucosa development in young individuals. Journal of Medicinally Active Plants 5(1) N° O33, p. 27. Proceedings of the American Council for Medicinally Active Plants - 7th Annual Conference. Lima, Peru. doi: 10.7275/R5BG2KXC
- Martínez, D; Vilchez, C. 2016f.** Oregano essential oil improves nutrient absorption capacity in healthy broilers. Proceedings of the 2016 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 95 (Suppl. 1) N° M79, p. 217.
- Martínez, D; Vilchez, C. 2016g.** Replacing inorganic with organic trace minerals in light breeder hens. Proceedings of the 2016 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 95 (Suppl. 1) N° P344, p. 293.
- Martínez, D; Vilchez, C. 2018a.** Applying meta-analysis to improve the value of commercial tests: A phytogetic feed additive case study. Proceedings of the 2018 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 97 (Suppl. 1) N° P270, p. 241.
- Martínez, D; Vilchez, C. 2018b.** Meta-analysis of the effect of phytases on intestinal histomorphology of broilers. Proceedings of the 2018 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 97 (Suppl. 1) N° M21, p. 273.
- Martínez-Tomé, M; Jiménez, AM; Ruggieri, S; Frega, N; Strabbioli, R; Murcia, MA. 2001.** Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. Journal of Food Protection 64(9):1412-1419. doi: 10.4315/0362-028x-64.9.1412
- Mathlouthi, N; Lalles, JP; Lepercq, P; Juste, C; Larbier, M. 2002.** Xylanase and β -glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal contents and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. Journal of Animal Science 80(11):2773-2779. doi: 10.2527/2002.80112773x

- McDonald, JH. 2009.** Handbook of biological statistics. Second edition. Sparky House Publishing. Maryland, United States of America. 313 p.
- McDougald, LR; Hofacre, C; Mathis, G; Fuller, L; Hargrove, JL; Greenspan, P; Hartle, DK. 2008.** Enhancement of resistance to coccidiosis and necrotic enteritis in broiler chickens by dietary muscadine pomace. *Avian Diseases* 52(4):646-651. doi: 10.1637/8306-041508-Reg.1
- McKinney, LJ; Teeter, RG. 2004.** Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: I. Pellet quality and II. Prediction of consequential formulation dead zones. *Poultry Science* 83(7):1165-1174. doi: 10.1093/ps/83.7.106
- Meloche, KJ; Kerr, BJ; Billor, N; Shurson, GC; Dozier, WA. 2014.** Validation of prediction equations for apparent metabolizable energy of corn distillers dried grains with solubles in broiler chicks. *Poultry Science* 93(6):1428-1439. doi: 10.3382/ps.2013-03712
- Miles, RD; Butcher, GD; Henry, PR; Littell, RC. 2006.** Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Poultry Science* 85(3):476-485. doi: 10.1093/ps/85.3.476
- Mitchell, MA; Moretó, M. 2006.** Absorptive function of the small intestine: adaptations meeting demand. *In* Perry, GC (eds.). *Avian gut function in health and disease*. Poultry Science Symposium Series. Volume Twenty-eight. CAB International. London, United Kingdom. p. 43-64.
- Moemeni, P; Pourreza, J; Fard, ERH; Zamiri, MJ. 2011.** Evaluation of the effects of Natuphos on ileal protein digestibility, serum level of minerals, intestinal histology and performance of broiler chicks. *Advances in Environmental Biology* 5(9):2604-2610. <http://www.aensonline.com/aeb/2011/2604-2610.pdf>
- Mohammadagheri, N; Najafi, R; Najafi, G. 2016.** Effects of dietary supplementation of organic acids and phytase on performance and intestinal histomorphology of broilers. *Veterinary Research Forum* 7(3):189-195. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5094164>

- Moran, ET. 1985.** Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. *Journal of Nutrition* 115(5):665-674. doi: 10.1093/jn/115.5.665
- Motulsky, HJ. 2007.** GraphPad Prism 5.0 Statistics Guide (en línea). San Diego, California, United States of America. Consultado 05 ene. 2019. Disponible en https://cdn.graphpad.com/faq/2/file/Prism_v5_Statistics_Guide.pdf.
- Mountzouris KC, Paraskevas V, Fegeros K. 2010.** Phytogetic compounds in broiler nutrition. *In* Steiner T, editor. *Phytogenics in animal nutrition: Natural concepts to optimize gut health and performance*. Nottingham University Press. Nottingham, United Kingdom. p. 97-110.
- Murakami, AE; Eyng, C; Torrent, J. 2014.** Effects of functional oils on coccidiosis and apparent metabolizable energy in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 27(7):981-989. doi: 10.5713/ajas.2013.13449
- Namkung, H; Leeson, S. 1999.** Effect of phytase enzyme on dietary nitrogen-corrected apparent metabolizable energy and the ileal digestibility of nitrogen and amino acids in broiler chicks. *Poultry Science* 78(9): 1317-1319. doi: 10.1093/ps/78.9.1317
- Nciri, N; Cho, N; Bergaoui, N; Mhamdi, FE; Ammar, AB; Trabelsi, N; Zekri, S; Guémira, F; Mansour, AB; Sassi, FH; Aissa-Fennira, FB. 2015.** Effect of white kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L. var. Beldia) on small intestine morphology and function in Wistar rats. *Journal of Medicinal Food* 18(12):1-13. doi: 10.1089/jmf.2014.0193
- Neuwirth, E. 2014.** RColorBrewer: ColorBrewer palettes. R package version 1.1-2 (en línea). Consultado 08 ene. 2019. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/RColorBrewer/RColorBrewer.pdf>.
- Nourmohammadi, R. & Khosravinia, H. (2015).** Acidic stress caused by dietary administration of citric acid in broiler chicken*s. *Archives Animal Breeding* 58(2):309-315. doi:10.5194/aab-58-309-2015

- Nourmohammadi, R; Afzali, N. 2013.** Effect of citric acid and microbial phytase on small intestinal morphology in broiler chicken. *Italian Journal of Animal Science* 12(e7):44-47. doi: 10.4081/ijas.2013.e7
- Nyachoti, CM; de Lange, CFM; McBride, BW; Schulze, H. 1997.** Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs: a review. *Canadian Journal of Animal Science* 77(1):149-163. doi: 10.4141/A96-044
- Onyango, EM; Asem, EK; Adeola, O. 2009.** Phytic acid increases mucin and endogenous amino acid losses from the gastrointestinal tract of chickens. *British Journal of Nutrition* 101(6):836-842. doi: 10.1017/S0007114508047740
- Ospina-Rojas, IC; Murakami, AE; Oliveira, CAL; Guerra, AFQG. 2013.** Supplemental glycine and threonine effects on performance, intestinal mucosa development, and nutrient utilization of growing broiler chickens. *Poultry Science* 92(10):2724-2731. doi: 10.3382/ps.2013-03171
- Paiva, D; Walk, C; McElroy, A. 2014.** Dietary calcium, phosphorus, and phytase effects on bird performance, intestinal morphology, mineral digestibility, and bone ash during a natural necrotic enteritis episode. *Poultry Science* 93(11):2752-2762. doi: 10.3382/ps.2014-04148
- Peceros, G; Vilchez, C; Martinez, D. 2015.** Performance and tibia characteristics of broilers fed diets formulated to contain phytase and/or 25-hydrocholecalciferol. *Proceedings of the 2015 Poultry Science Association Annual Meeting*. Kentucky, USA. *Poultry Science* 94 (Suppl. 1) N° 287, p. 98.
- Pekel, AY; Horn, NL; Adeola, O. 2017.** The efficacy of dietary xylanase and phytase in broiler chickens fed expeller-extracted camelina meal. *Poultry Science* 96(1):98-107. doi: 10.3382/ps/pew183
- Peterson, BG; Carl, P; Boudt, K; Bennett, R; Ulrich, J; Zivot, E; Cornilly, D; Hung, E; Lestel, M; Balkissoon, K; Wuertz, D. 2018.** PerformanceAnalytics: econometric tools for performance and risk analysis. R package version 1.5.2 (en línea). Consultado 08 ene. 2019. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/PerformanceAnalytics/PerformanceAnalytics.pdf>.

- Piantino, J; Chacon, J; Martinez, D; Ruelas, C. 2009a.** Effect of a commercial antibiotic based on Ceftiofur Sodium (Chickmin[®] 4) on the viability of the recombinant vaccine virus against Marek and Gumboro diseases. Proceedings of the V AMEVEA Peru International Seminar and III Scientific Meeting. Lima, Peru.
- Piantino, J; Chacon, J; Martinez, D; Ruelas, C. 2009b.** Effect of a commercial antibiotic based on Gentamycin Sulfate on the viability of the recombinant vaccine virus against Marek and Gumboro diseases. Proceedings of the V AMEVEA Peru International Seminar and III Scientific Meeting. Lima, Peru.
- Piantino, J; Chacon, J; Pimentel, M; Martinez, D; Ruelas, C. 2007.** *In vitro* evaluation of the effect of an antibiotic (Gentanhel-I[®] 5%) on the viability of the vaccine virus of Marek disease. Proceedings of the IV AMEVEA Peru International Seminar and II Scientific Meeting. Lima, Peru.
- Pirgozliev, V; Acamovic, T; Bedford, M; Oduguwa, OO. 2008.** Effects of dietary phytase on performance and nutrient metabolism in chickens. *British Poultry Science* 49(2):144-154. doi: 10.1080/00071660801961447
- Pirgozliev, V; Bedford, MR; Acamovic, T; Allimehr, M. 2011.** The effects of supplementary bacterial phytase on dietary true metabolizable energy, nutrient digestibility and endogenous losses in precision fed turkeys. *British Poultry Science* 52(2):214-220. doi: 10.1080/00071668.2011.560594
- Plate, T; Heiberger, R. 2016.** abind: combine multidimensional arrays. R package version 1.4-5 (en línea). Consultado 28 feb. 2019. Disponible en <https://cran.r-project.org/package=abind>
- Ponce de Leon, C; Caldas, J; Martinez, D; Ciriaco, P; Hill, D. 2014.** Effect of fasting after hatch and breeder age on growth performance of broilers. Proceedings of the 2014 Ensminger School International Seminar: Advances in Animal Production. Iowa State University. Lima, Peru.

- Quinn, GP; Keough, MJ. 2002.** Multiple and complex regression. *In* Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press. New York, United States of America. p. 111-154.
- Quisirumbay-Gaibor, J; Torres, R; Yupanqui, J; Martínez Patiño-Patroni, D; Vílchez Perales, C. 2019.** Nutritional supplementation of glutamine on the productive performance in broiler chickens. *Siembra* 6(2):15-24. doi: 10.29166/siembra.v6i2.1622
- Quisirumbay-Gaibor, J; Martínez Patiño-Patroni, D; Vílchez Perales, C. 2020.** Effect of selenium supplementation on productive performance in pigs: meta-analysis. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 31(1): e17551. doi: 10.15381/rivep.v31i1.17751
- R Core Team. 2018. R: a language and environment for statistical computing** (en línea, programa informático). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Consultado 08 ene. 2019. Disponible en <http://www.R-project.org>.
- Rajput, N; Muhammad, N; Yan, R; Zhong, X; Wang, T. 2013.** Effect of dietary supplementation of curcumin on growth performance, intestinal morphology and nutrients utilization of broiler chicks. *Journal of Poultry Science* 50(1):44-52. doi: 10.2141/jpsa.0120065
- Ramsey, FL; Schafer, DW. 2013.** Drawing statistical conclusions. *In* The statistical sleuth: a course in methods of data analysis. Third edition. Brooks/Cole, Cengage Learning. Massachusetts, United States of America. p. 1-27.
- Ravindran, V; Cabahug, S; Ravindran, G; Bryden, WL. 1999.** Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. *Poultry Science* 78(5):699-706. doi: 10.1093/ps/78.5.699
- Ravindran, V; Cabahug, S; Ravindran, G; Selle, PH; Bryden, WL. 2000.** Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility, and nutrient retention. *British Poultry Science* 41(2):193-200. doi: 10.1080/00071660050022263

- Ravindran, V; Morel, PCH; Partridge, GG; Hruby M; Sands JS. 2006.** Influence of an *Escherichia coli*-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. Poultry Science 85(1):82-89. doi: 10.1093/ps/85.1.82
- Remus, A; Hauschild, L; Andretta, I; Kipper, M; Lehnen, CR; Sakomura, NK. 2014.** A meta-analysis of the feed intake and growth performance of broiler chickens challenged by bacteria. Poultry Science 93(5):1149-1158. doi: 10.3382/ps.2013-03540
- Rosen, GD. 2010.** Holo-analysis of the efficacy of exogenous enzyme performance in farm animal nutrition. In Bedford, MR; Partridge, GG (eds.). Enzymes in farm animal nutrition. Second edition. CABI International. Oxfordshire, United Kingdom. p. 273-303.
- Rothstein, HR; Lortie, CJ; Stewart, GB; Koricheva, J; Gurevitch, J. 2013.** Quality standards for research synthesis. In Koricheva, J; Gurevitch, J; Mengersen, K (eds.). Handbook of meta-analysis in ecology and evolution. Princeton University Press. New Jersey, United States of America. p. 323-338.
- RStudio Team. 2016.** RStudio: integrated development for R (en línea, programa informático). RStudio, Inc., Boston, MA. Consultado 02 dic. 2018. Disponible en <http://www.rstudio.com>.
- Russo, M; Galletti, GC; Bocchini, P; Carnacini, A. 1998.** Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. 1. Inflorescences. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(9):3741-3746. doi: 10.1021/jf980087w
- Saçakli, P; Calik, A; Bayraktaroğlu, AG; Ergün, A; Şahan, Ö; Özaydin, S. 2015.** Effect of clinoptilolite and/or phytase on broiler growth performance, carcass characteristics, intestinal histomorphology and tibia calcium and phosphorus levels. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi 21(5):729-737. doi: 10.9775/kvfd.2015.13283

- Salsburg, D. 2001.** The lady tasting tea. How statistics revolutionized science in the twentieth century. W. H. Freeman and Company. New York, United States of America. 340 p.
- Sarkar, D. 2008.** Lattice: multivariate data visualization with R. Springer Science + Business Media. New York, United States of America. 265 p.
- SAS Institute Inc. 2017.** Base SAS® 9.4 procedures guide, Seventh edition. Cary, North Carolina, United States of America. 2530 p.
- Sauer, N; Emrich, K; Piepho, H-P; Lemme, A; Redshaw, MS; Mosenthin, R. 2008.** Meta-Analysis of the relative efficiency of methionine-hydroxy-analogue-free-acid compared with dl-methionine in broilers using nonlinear mixed models. Poultry Science 87(10):2023-2031. doi: 10.3382/ps.2007-00514
- Sauvant, D; Schmidely, P; Daudin, JJ; St-Pierre, NR. 2008.** Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. Animal 2(8):1203-1214. doi: 10.1017/S1751731108002280
- Sayuri, VS; Pinto GVD; do Amaral CMC; Crisci, AR; de Oliveira, WP; Guimarães, LHS. 2017.** The active role of spray-dried phytase produced by *Rhizopus microsporus* var. *microsporus* biofilm in feeding broiler chickens. Insights in Enzyme Research 1(1-6):1-8. doi: 10.21767/2573-4466.100006
- Selle, PH; Ravindran, V; Caldwell, RA; Bryden, WL. 2000.** Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. Nutrition Research Reviews 13(2):255-278. doi: 10.1079/095442200108729098
- Sharifi, SD; Dibamehr, A; Lotfollahian, H; Baurhoo, B. 2012.** Effects of flavomycin and probiotic supplementation to diets containing different sources of fat on growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy, and fat digestibility in broiler chickens. Poultry Science 91(4):918-927. doi: 10.3382/ps.2011-01844

- Simsek, N; Can, I; Karadeniz, A; Kara, A; Gumus, R. 2012.** Effects of dietary various supplementations on the mucin- and serotonin- releasing cell numbers in small intestine of quails. *Revue de Medecine Veterinaire* 163(7):328-334.
- Singh, PK. 2008.** Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. *World's Poultry Science Journal* 64(4):553-580. doi: 10.1017/S0043933908000202
- Smulikowska, S; Czerwiński, J; Mieczkowska, A. 2010.** Effect of an organic acid blend and phytase added to a rapeseed cake-containing diet on performance, intestinal morphology, caecal microflora activity and thyroid status of broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94(1):15-23. doi: 10.1111/j.1439-0396.2008.00876.x
- Stefanello, C; Vieira, SL; Rios, HV; Simões, CT; Ferzola, PH; Sorbara, JOB; Cowieson, AJ. 2017.** Effects of energy, α -amylase, and β -xylanase on growth performance of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 225:205-212. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.01.019
- Sterne, JAC; Egger, M. 2001.** Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: guidelines on choice of axis. *Journal of Clinical Epidemiology* 54(10):1046-1055. doi: 10.1016/S0895-4356(01)00377-8
- Suesuttajit, N; Beitia, A; Weil, J; Maharjan, P; Martinez, D; Coon, C. 2020a.** Determination of daily dietary energy utilization for maximal protein deposition in fast-growing male broilers from 3 to 18 days of age. *Proceedings of the 2020 Poultry Science Association Virtual Annual Meeting. Poultry Science* 99 (Suppl. 1) N° 213, p. 105.
- Suesuttajit, N; Beitia, A; Weil, J; Maharjan, P; Martinez, D; Hilton, K; Coon, C. 2020b.** Determination of daily dietary energy utilization for maximal protein deposition in fast-growing male broilers from 3 to 17 days of age. *Proceedings of the 2020 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science* 99 (Suppl. 1) N° P316, p. 97.

- Suesuttajit, N; Weil, JT; Umberson, C; Maharjan, P; Martinez, D; Coon, CN. 2021.** Effect of different soybean meal inclusions in broiler diets on the Arkansas Net Energy, performance and body composition from d0 to d56 of age. Proceedings of the 2021 Arkansas Nutrition Conference. Arkansas, USA.
- Tamim, NM; Angel, R; Christman, M. 2004.** Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. Poultry Science 83(8):1358-1367. doi: 10.1093/ps/83.8.1358
- Thompson, SG; Sharp, SJ. 1999.** Explaining heterogeneity in meta-analysis: a comparison of methods. Statistics in Medicine 18(20):2693-2708. doi: 10.1016/S0197-2456(97)91051-5
- Uculmana, C., D. Martínez, J. Tay and C. Vilchez. 2016a.** Correcting bone morphometry values for body weight differences. Proceedings of the 2016 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 95 (Suppl. 1) N° M1, p. 195.
- Uculmana, C; Martínez, D; Vilchez, C. 2015a.** Bone morphometry and allometric growth as indicators of percentage of ash in tibia in broilers. Proceedings of the XXIV Latin American Poultry Congress. Guayaquil, Ecuador.
- Uculmana, C; Martínez, D; Vilchez, C. 2015b.** Effect of calcium to available phosphorus ratio on allometric organ growth, bone morphometry and integrity of broilers. Proceedings of the VIII AMEVEA Peru International Seminar and VI Scientific Meeting. Lima, Peru.
- Uculmana, C; Martínez, D; Vilchez, C. 2016b.** A compound bone index (LIAN2.1) as indicator of bone mineralization in broilers. Proceedings of the 2016 International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 95 (Suppl. 1) N° T194, p. 251.
- Uculmana, C; Martínez-Patiño, D; Zea, O; Vilchez, C. 2018.** Efecto de la relación calcio y fósforo sobre las características óseas, porcentaje de cenizas e integridad esquelética en pollos de carne. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 29(4): 1268-1277.

- van den Noortgate, W; Onghena, P. 2003.** Multilevel meta-analysis: a comparison with traditional meta-analytical procedures. *Educational and Psychological Measurement* 63(5):765-790. doi: 10.1177/0013164402251027
- van Dijk, JE; Huisman, J; Koninkx, JFJG. 2002.** Structural and functional aspects of a healthy gastrointestinal tract. *In* Blok, MC; Vahl, HA; de Lange, L; van de Braak, AE; Hemke, G; Hessing, M (eds.). *Nutrition and health of the gastrointestinal tract*. Wageningen Academic Publishers. Wageningen, The Netherlands. p. 71-96.
- van Emmenes, L. 2014.** Evaluation of phytase enzymes on performance, bone mineralisation, carcass characteristics and small intestinal morphology of broilers fed maize soya bean diets. Thesis M.Sc. Matieland, Stellenbosch, South Africa. Stellenbosch University. 106 p. Consultado 02 dic. 2018. Disponible en <https://scholar.sun.ac.za/handle/10019.1/86691>
- Veroniki, AA; Jackson, D; Viechtbauer, W; Bender, R; Bowden, J; Knapp, G; Kuss, O; Higgins, JPT; Langan, D; Salanti, G. 2016.** Methods to estimate the between-study variance and its uncertainty in meta-analysis. *Research Synthesis Methods* 7(1):55-79. doi: 10.1002/jrsm.1164
- Viechtbauer, W. 2007.** Confidence intervals for the amount of heterogeneity in meta-analysis. *Statistics in Medicine* 26(1):37-52. doi: 10.1002/sim.2514
- Viechtbauer, W. 2010.** Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *Journal of Statistical Software* 36(3):1-48. doi: 10.18637/jss.v036.i03
- Viechtbauer, W. 2017.** *Meta-Analysis Package for R (Version 2.0-0)* (en línea, manual). Consultado 23 nov 2018. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/metafor/metafor.pdf>.
- Vieira, BS; Silva, FG; Oliveira, CFS; Correa, AB; Caramori Junior, JG; Correa, GSS. 2017.** Does citric acid improve performance and bone mineralization of broilers when combined with phytase? A systematic review and meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology* 232:21-30. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.07.016

- Vieira, SL; Stefanello, C; Rios, HV; Serafini, N; Hermes, RG; Sorbara, JOB. 2015.** Efficacy and metabolizable energy equivalence of an α -amylase- β -glucanase complex for broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science* 17(2):227-236. doi: 10.1590/1516-635x1702227-236
- Walk, CL. 2009.** Effects of dietary enzyme supplementation on performance, bone ash, small intestinal morphology, and apparent ileal amino acid digestibility of broilers exposed to a live coccidia oocyst vaccine. Thesis Ph.D. Blacksburg, Virginia, United States of America. Virginia Polytechnic Institute and State University. 168 p. Consultado 02 dic. 2018. Disponible en <https://vtechworks.lib.vt.edu/handle/10919/28923>
- Wealleans, AL; Barnard, LP; Romero, LF; Kwakernaak, C. 2016.** A value based approach to determine optimal phytase dose: A case study in turkey poult. *Animal Feed Science and Technology* 216:288-295. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.04.004
- Weber, GM; Michalczuk, M; Huyghebaert, G; Juin, H; Kwakernaak, C; Gracia, MI. 2012.** Effects of a blend of essential oil compounds and benzoic acid on performance of broiler chickens as revealed by a meta-analysis of 4 growth trials in various locations. *Poultry Science* 91(11):2820-2828. doi: 10.3382/ps.2012-02243
- Wei, T; Simko, V; Levy, M; Xie, Y; Jin, Y; Zemla, J. 2017.** R package "corrplot": visualization of a correlation matrix (Version 0.84). Consultado 08 ene. 2019. Disponible en <https://cran.r-project.org/web/packages/corrplot/corrplot.pdf>.
- Weil, J; Beitia, A; Suesuttajit, N; Hilton, K; Maharjan, P; Martinez, D; Caldas, J; Rao, S; Coon, C. 2019.** Determining amino acid requirements for broiler breeders using the nitrogen balance method. Proceedings of the 2019 Poultry Science Association Annual Meeting. Montreal, Canada. *Poultry Science* 98 (Suppl. 1) N° 382, p. 153.
- Weil, J; Beitia, A; Suesuttajit, N; Hilton, K; Maharjan, P; Martinez, D; Caldas, J; Rao, S; Coon, C. 2020a.** Determining amino acid requirements for broiler breeders using the nitrogen balance method. Proceedings of the 2020

International Poultry Scientific Forum. Atlanta, USA. Poultry Science 99 (Suppl. 1) N° M71, p. 23.

Weil, J; Beitia, A; Suesuttajit, N; Hilton, K; Maharjan, P; Martinez, D; Caldas, JV; Rao, S; Coon, C. 2020b. Determining the lysine requirement in broiler breeders using the indicator amino acid oxidation and nitrogen balance methods. Proceedings of the 2020 Poultry Science Association Virtual Annual Meeting. Poultry Science 99 (Suppl. 1) N° 136, p. 69.

Weil, J; Beitia, A; Suesuttajit, N; Hilton, K; Maharjan, P; Martinez, D; Caldas, JV; Rao, S; Coon, C. 2020c. Determination of standardized digestible amino acid requirements for broiler breeders. Proceedings of the 2020 Poultry Science Association Virtual Annual Meeting. Poultry Science 99 (Suppl. 1) N° 135, p. 68.

Weil, JT; Beitia, A; Suesuttajit, N; Hilton, K; Maharjan, P; Martinez, D; Caldas, J; Rao, S; Coon, CN. 2021. Determining standardized ileal digestible amino acid requirements for broiler breeders using the nitrogen balance method. Proceedings of the 2021 Arkansas Nutrition Conference. Arkansas, USA.

Wickham, H; Bryan, J. 2019. readxl: read excel files. R package version 1.3.0 (en línea). Consultado 28 feb. 2019. Disponible en <https://cran.r-project.org/package=readxl>.

Wickham, H. 2018. scales: scale functions for visualization. R package version 1.0.0 (en línea). Consultado 28 feb. 2019. Disponible en <https://cran.r-project.org/package=scales>.

Wickham, H; François, R; Henry, L; Müller, K. 2018. dplyr: a grammar of data manipulation. R package version 0.7.6 (en línea). Consultado 08 ene. 2019. Disponible en <https://cran.r-project.org/package=dplyr>.

Willis, BH; Riley, RD. 2017. Measuring the statistical validity of summary meta-analysis and meta-regression results for use in clinical practice. *Statistics in Medicine* 36(21):3283-3301. doi: 10.1002/sim.7372

- Woyengo, TA; Cowieson, AJ; Adeola, O; Nyachoti, CM. 2009.** Ileal digestibility and endogenous flow of minerals and amino acids: responses to dietary phytic acid in piglets. *British Poultry Science* 102(3):428-433. doi: 10.1017/S0007114508184719
- Wu, YB; Ravindran, V; Thomas, DG; Birtles, MJ; Hendriks, WH. 2004.** Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. *British Poultry Science* 45(1):76-84. doi: 10.1080/00071660410001668897
- Xu, X; Wang, HL; Pan, L; Ma, XK; Tian, QY; Xu, YT; Long, SF; Zhang, ZH; Piao, XS. 2017.** Effects of coated proteases on the performance, nutrient retention, gut morphology and carcass traits of broilers fed corn or sorghum based diets supplemented with soybean meal. *Animal Feed Science and Technology* 223:119-127. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.10.015
- Yakhkeshi, S; Rahimi, S; Shawrang, P. 2013.** Effects of electron-beam irradiation of the diet on microbial population, intestinal morphology, ileal digestibility and performance of broilers. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 3(4):747-754. http://ijas.iaurasht.ac.ir/article_513565.html
- Yamauchi, K. 2002.** Review on chicken intestinal villus histological alterations related with intestinal function. *Journal of Poultry Science* 39(4):229-242. doi: 10.2141/jpsa.39.229
- Yamauchi, K. 2007.** Review of a histological intestinal approach to assessing the intestinal function in chickens and pigs. *Animal Science Journal* 78(4):356-370. doi: 10.1111/j.1740-0929.2007.00448.x
- Yamauchi, KE; Incharoen, T; Yamauchi, K. 2010.** The relationship between intestinal histology and function as shown by compensatory enlargement of remnant villi after midgut resection in chickens. *The Anatomical Record* 293(12):2071-2079. doi: 10.1002/ar.21268

- Yew, CYC. 2008.** The green age: the application of oregano essential oil. International Aquafeed 11(6): 34-36. Consultado 28 feb. 2019. Disponible en <http://mail.aquafeed.co.uk/IAF-08-06-Web.pdf>
- Yuan, J; Wang, X; Yin, D; Wang, M; Yin, X; Lei, Z; Guo, Y. 2017.** Effect of different amylases on the utilization of cornstarch in broiler chickens. Poultry Science 96(5):1139-1148. doi: 10.3382/ps/pew323
- Zang, JJ; Piao, XS; Huang, DS; Wang, JJ; Ma, X; Ma, YX. 2009.** Effects of feed particle size and feed form on growth performance, nutrient metabolizability and intestinal morphology in broiler chickens. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 22(1):107-112. doi: 10.5713/ajas.2009.80352
- Zhang, B; Weil, J; Beita Guerra, A; Maharjan, P; Hilton, K; Suesuttajit, N; Martinez Patino Patr, D; Coon, CN. 2020.** Egg shell quality and bone status as affected by environmental temperature, Ca and non-phytate P intake and *in vitro* limestone solubility in Single-Comb White Leghorn hens. International Journal of Poultry Science 19(5): 219-231. doi: 10.3923/ijps.2020.219.231.
- Zwetsloot, P; Van Der Naald, M; Sena, ES; Howells, DW; Inthout, J; De Groot, JAH; Chamuleau, SAJ; MacLeod, MR; Wever, KE. 2017.** Standardized mean differences cause funnel plot distortion in publication bias assessments. eLife 6(e24260):1-20. doi: 10.7554/eLife.24260

VIII. ANEXOS

ANEXO 1. Efecto de un aditivo fitogénico sobre el peso corporal, consumo de alimento y conversión alimentaria de pollos de engorde

Tratamiento y repetición	Experimentos									
	EX1	EX2	EX3	EX4	EX5	EX6	EX7	EX8	EX9	
Peso corporal, kg/ave										
1	1	2.458	3.067	2.790	2.962	2.756	2.853	2.605	2.794	2.948
	2	2.645	3.177	3.005	2.894	3.023	2.911	2.795	2.986	2.771
	3	2.795	3.477	3.162	2.607	2.691	3.025	-	2.909	-
	4	-	3.297	2.554	-	2.932	2.730	-	-	-
	5	-	2.642	-	-	2.973	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	3.169	-	-	-	-
2	1	2.940	3.348	3.101	2.715	2.706	2.858	2.619	2.972	2.774
	2	2.673	2.965	3.094	2.929	3.174	3.052	2.712	3.027	2.877
	3	2.512	3.293	2.977	2.610	3.127	3.076	-	2.819	-
	4	-	3.181	2.598	-	3.087	3.141	-	-	-
	5	-	3.321	-	-	3.180	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	2.951	-	-	-	-
Consumo de alimento, kg/ave										
1	1	4.583	5.454	4.920	5.027	4.917	4.864	4.852	5.086	4.784
	2	4.987	5.238	5.046	5.139	5.331	5.150	4.930	4.895	5.072
	3	4.788	5.836	5.238	4.755	4.850	5.320	-	5.159	-
	4	-	6.023	4.660	-	5.081	5.445	-	-	-
	5	-	5.005	-	-	5.142	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	5.084	-	-	-	-
2	1	5.502	6.307	5.210	4.791	4.347	5.169	4.822	4.881	4.722
	2	4.691	4.838	5.114	4.768	4.748	5.476	4.896	5.063	4.735
	3	4.107	6.391	4.776	4.661	5.573	5.369	-	5.159	-
	4	-	5.469	4.523	-	5.321	5.497	-	-	-
	5	-	5.839	-	-	5.233	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	5.001	-	-	-	-
Conversión alimentaria										
1	1	1.865	1.779	1.763	1.697	1.784	1.705	1.863	1.820	1.623
	2	1.886	1.649	1.679	1.776	1.763	1.769	1.764	1.639	1.831
	3	1.713	1.678	1.656	1.824	1.802	1.759	-	1.773	-
	4	-	1.827	1.825	-	1.733	1.994	-	-	-
	5	-	1.894	-	-	1.729	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	1.604	-	-	-	-
2	1	1.871	1.884	1.680	1.765	1.607	1.809	1.842	1.642	1.702
	2	1.755	1.632	1.653	1.628	1.496	1.794	1.805	1.673	1.646
	3	1.635	1.941	1.604	1.786	1.782	1.746	-	1.830	-
	4	-	1.720	1.741	-	1.723	1.750	-	-	-
	5	-	1.758	-	-	1.646	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	1.695	-	-	-	-

ANEXO 2. Efecto de un aditivo fitogénico sobre la mortalidad e índice de eficiencia productiva de pollos de engorde

Tratamiento y repetición	Experimentos									
	EX1	EX1	EX1	EX1	EX1	EX1	EX1	EX1	EX1	EX1
Mortalidad, %										
1	1	4.05	2.50	3.90	5.10	12.50	4.50	4.68	3.99	4.17
	2	3.03	5.00	4.89	4.02	0.00	5.46	3.79	4.23	3.75
	3	4.69	0.00	3.81	4.43	12.50	4.12	-	3.23	-
	4	-	2.50	4.52	-	12.50	4.52	-	-	-
	5	-	0.00	-	-	0.00	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	0.00	-	-	-	-
2	1	3.17	5.00	3.17	4.65	0.00	3.91	3.01	3.99	4.56
	2	3.98	0.00	4.73	3.51	12.50	4.12	4.17	3.06	3.66
	3	4.03	2.50	4.17	4.28	12.50	4.23	-	3.75	-
	4	-	2.50	5.12	-	12.50	5.12	-	-	-
	5	-	2.50	-	-	12.50	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	0.00	-	-	-	-
Índice de eficiencia productiva										
1	1	301.2	400.2	362.1	394.3	321.8	380.5	317.3	351.0	414.4
	2	323.8	435.9	405.2	372.5	408.3	370.5	362.9	415.4	346.8
	3	370.2	493.4	437.2	325.4	311.0	392.7	-	378.0	-
	4	-	418.9	318.1	-	352.4	311.2	-	-	-
	5	-	332.2	-	-	409.3	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	470.3	-	-	-	-
2	1	362.2	402.0	425.6	349.3	401.0	361.6	328.4	413.6	370.2
	2	348.2	432.6	424.7	413.4	442.2	388.3	342.7	417.7	401.0
	3	350.9	393.9	423.5	333.1	365.6	401.8	-	353.1	-
	4	-	429.4	337.1	-	373.2	405.4	-	-	-
	5	-	438.5	-	-	402.5	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	414.6	-	-	-	-

ANEXO 3. Resumen de estadísticas de las variables empleadas en las meta-regresiones del efecto de la reducción de fósforo sobre la histología intestinal (Evaluación N° 2)

Variable	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
Efecto sobre la altura de las vellosidades				
Reducción (puntos %) en PD	0.119	0.060	0.200	0.042
% Ca en la dieta control	0.836	0.550	0.950	0.126
% PD en la dieta control	0.380	0.235	0.465	0.059
Rel. Ca/PD en dieta control	2.22	1.67	3.05	0.34
Días de edad	26.8	18	42	7.1
N° aves muestreadas	18.2	10	32	8.0
N° repeticiones	6.8	5	8	1.1
Efecto sobre la profundidad de las criptas				
Reducción (puntos %) en PD	0.119	0.060	0.200	0.042
% Ca en la dieta control	0.836	0.550	0.950	0.126
% PD en la dieta control	0.380	0.235	0.465	0.059
Rel. Ca/PD en dieta control	2.22	1.67	3.05	0.34
Días de edad	26.8	18	42	7.1
N° aves muestreadas	18.2	10	32	8.0
N° repeticiones	6.8	5	8	1.1
Efecto sobre la relación vellosidad/cripta				
Reducción (puntos %) en PD	0.119	0.060	0.200	0.042
% Ca en la dieta control	0.836	0.550	0.950	0.126
% PD en la dieta control	0.380	0.235	0.465	0.059
Rel. Ca/PD en dieta control	2.22	1.67	3.05	0.34
Días de edad	26.8	18	42	7.1
N° aves muestreadas	18.2	10	32	8.0
N° repeticiones	6.8	5	8	1.1

ANEXO 4. Resumen de estadísticas de las variables empleadas en las meta-regresiones del efecto de las fitasas *matrizadas* sobre la histología intestinal (Evaluación N° 2)

Variable	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
Efecto sobre la altura de las vellosidades				
Reducción (puntos %) en PD	0.097	0.000	0.200	0.062
Dosis (FTU/kg) de fitasa	1976	150	5000	1992
% Ca en la dieta control	0.834	0.550	0.950	0.108
% PD en la dieta control	0.360	0.235	0.465	0.076
Rel. Ca/PD en dieta control	2.39	1.67	3.05	0.42
Días de edad	25.9	18	42	8.3
N° aves muestreadas	16.3	10	32	6.4
N° repeticiones	6.9	5	8	1.0
Efecto sobre la profundidad de las criptas				
Reducción (puntos %) en PD	0.097	0.000	0.200	0.062
Dosis (FTU/kg) de fitasa	1976	150	5000	1992
% Ca en la dieta control	0.834	0.550	0.950	0.108
% PD en la dieta control	0.360	0.235	0.465	0.076
Rel. Ca/PD en dieta control	2.39	1.67	3.05	0.42
Días de edad	25.9	18	42	8.3
N° aves muestreadas	16.3	10	32	6.4
N° repeticiones	6.9	5	8	1.0
Efecto sobre la relación vellosidad/cripta				
Reducción (puntos %) en PD	0.097	0.000	0.200	0.062
Dosis (FTU/kg) de fitasa	1976	150	5000	1992
% Ca en la dieta control	0.834	0.550	0.950	0.108
% PD en la dieta control	0.360	0.235	0.465	0.076
Rel. Ca/PD en dieta control	2.39	1.67	3.05	0.42
Días de edad	25.9	18	42	8.3
N° aves muestreadas	16.3	10	32	6.4
N° repeticiones	6.9	5	8	1.0

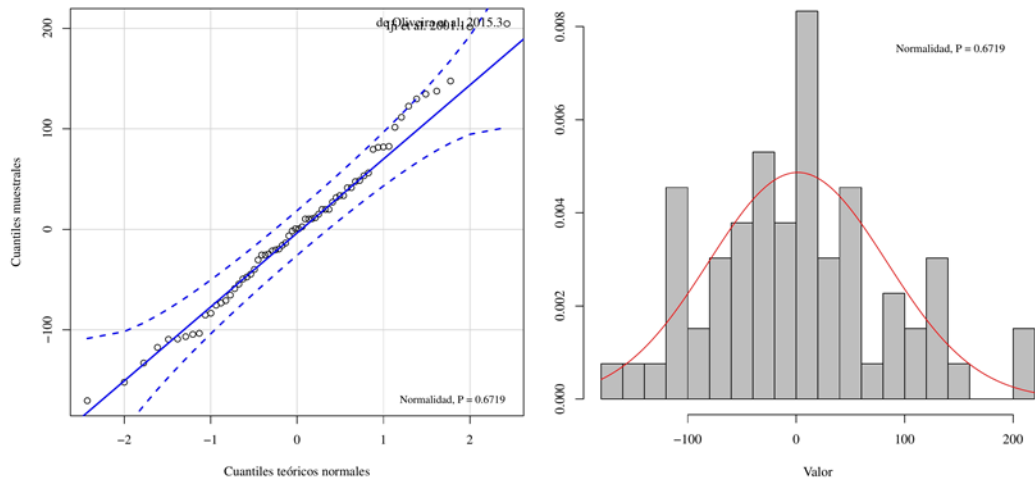
ANEXO 5. Resumen de estadísticas de las variables empleadas en las meta-regresiones del efecto de las fitasas *on top* sobre la histología intestinal (Evaluación N° 2)

Variable	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
Efecto sobre la altura de las vellosidades				
Dosis (FTU/kg) de fitasa	938	500	4000	501
% Ca en la dieta control	0.869	0.550	1.000	0.093
% PD en la dieta control	0.415	0.290	0.450	0.035
Rel. Ca/PD en dieta control	2.10	1.67	3.24	0.23
Días de edad	23.8	7	42	12.3
N° aves muestreadas	20.2	10	50	10.1
N° repeticiones	8.9	3	25	5.3
Efecto sobre la profundidad de las criptas				
Dosis (FTU/kg) de fitasa	938	500	4000	501
% Ca en la dieta control	0.869	0.550	1.000	0.093
% PD en la dieta control	0.415	0.290	0.450	0.035
Rel. Ca/PD en dieta control	2.10	1.67	3.24	0.23
Días de edad	23.8	7	42	12.3
N° aves muestreadas	20.2	10	50	10.1
N° repeticiones	8.9	3	25	5.3
Efecto sobre la relación vellosidad/cripta				
Dosis (FTU/kg) de fitasa	964	500	4000	379
% Ca en la dieta control	0.818	0.550	1.000	0.135
% PD en la dieta control	0.398	0.290	0.450	0.060
Rel. Ca/PD en dieta control	2.09	1.33	3.24	0.43
Días de edad	23.0	7	42	11.2
N° aves muestreadas	19.2	10	50	7.6
N° repeticiones	8.9	3	25	4.0

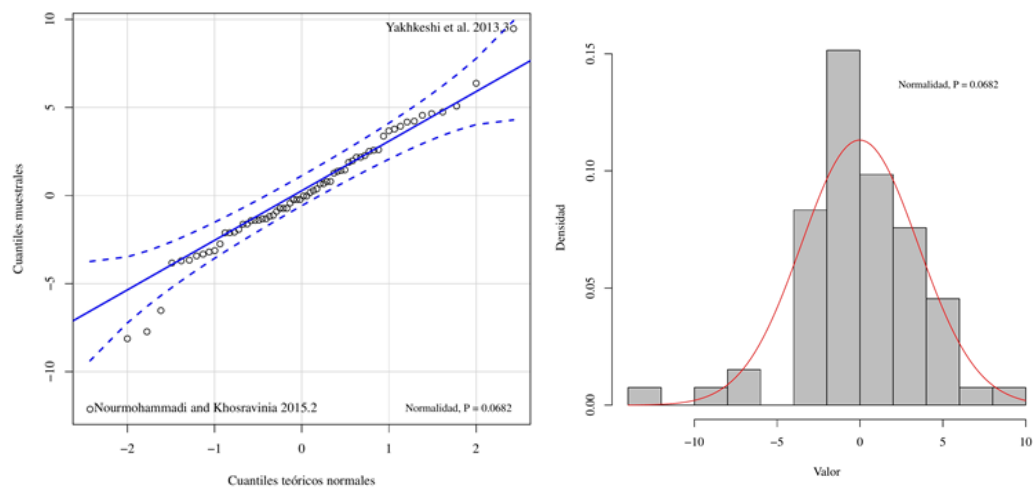
**ANEXO 6. Resumen de estadísticas de las variables empleadas en la
Evaluación N° 3**

Variable	Media	Mínimo	Máximo	Desv. estándar
ΔaVE_{DU}	4.31	-11.64	33.71	8.43
ΔaVE_{YE}	5.45	-16.28	61.43	12.79
ΔaVE_{IL}	2.25	-20.08	25.49	8.94
ΔaVE_{PR}	4.00	-11.90	20.77	7.23
ΔpCR_{DU}	4.43	-14.89	77.55	14.41
ΔpCR_{YE}	0.88	-13.11	19.44	7.21
ΔpCR_{IL}	-0.03	-23.68	30.20	9.08
ΔpCR_{PR}	1.76	-13.32	22.60	7.54
ΔRVC_{DU}	1.20	-32.71	49.57	14.92
ΔRVC_{YE}	5.76	-15.64	41.69	12.83
ΔRVC_{IL}	1.96	-27.36	28.03	10.46
ΔRVC_{PR}	2.97	-18.92	28.78	10.42
ΔEMA	1.32	-4.21	7.86	2.71
ΔGPC	3.57	-14.58	24.19	7.66
ΔCAL	-1.88	-16.91	8.05	4.57

ANEXO 7. Ploteo de cuantiles normales e histograma de distribución de los residuos del modelo aleatorio para energía metabolizable aparente del alimento (Evaluación N° 3)



ANEXO 8. Ploteo de cuantiles normales e histograma de distribución de los residuos del modelo aleatorio para ganancia de peso corporal (Evaluación N° 3)



ANEXO 9. Ploteo de cuantiles normales e histograma de distribución de los residuos del modelo aleatorio para conversión alimentaria (Evaluación N° 3)

