

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE ZOOTECNIA



**“EFICACIA TERAPÉUTICA DE DOXICICLINA SOBRE LA
INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR *Escherichia coli* EN POLLOS
DE ENGORDE”**

TESIS PARA OPTAR TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA

ANDREA CAROLINA CAVASSA GAMARRA

LIMA –PERÚ

2024

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

TESIS PREGRADO FZ ANDREA CAVASSA.pdf

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

14%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|---|---|------|
| 1 | Submitted to Universidad Privada Antenor Orrego | 1% |
| | Trabajo del estudiante | |
| 2 | elsitioavicola.com | 1% |
| | Fuente de Internet | |
| 3 | www.engormix.com | 1% |
| | Fuente de Internet | |
| 4 | Submitted to Universidad Científica del Sur | < 1% |
| | Trabajo del estudiante | |
| 5 | ec.europa.eu | < 1% |
| | Fuente de Internet | |
| 6 | cybertesis.uach.cl | < 1% |
| | Fuente de Internet | |
| 7 | creativecommons.org | < 1% |
| | Fuente de Internet | |
| 8 | vdoc.pub | < 1% |
| | Fuente de Internet | |

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

**“EFICACIA TERAPÉUTICA DE DOXICICLINA SOBRE
LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR *Escherichia coli* EN
POLLOS DE ENGORDE”**

Presentado por:

ANDREA CAROLINA CAVASSA GAMARRA

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Ph.D. Otto Zea Mendoza

PRESIDENTE

Mg.Sc. Marcial Cumpa Gavidia

MIEMBRO

M.V. Aida Cordero Ramírez

MIEMBRO

M.V. Daniel Molina Meza

CO-ASESOR

Ph.D. Carlos Vílchez Perales

ASESOR

DEDICATORIA

A mi amada madre Rocío Gamarra, una mujer fuerte y trabajadora, quien es mi motivo para dar lo mejor de mí y seguir creciendo profesionalmente.

A mi papá Robert Sánchez, quien siempre me brinda su amor y apoyo incondicional, y en especial, por brindarme su apoyo para dedicarme a culminar este proyecto.

A mi abuelita Yolanda y a mi madrina Ana Gamarra, por velar por mi bienestar y acompañarme en cada etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios, por ser guía en mi camino, por la vida, la salud y su infinita bondad. A mis padres, por brindarme su amor, su confianza y apoyarme a cumplir todas mis metas.

A mi asesor de tesis, el Dr. Carlos Vílchez, por su invaluable guía y apoyo a lo largo de este proceso. Su conocimiento, paciencia y dedicación han sido fundamentales para la realización del presente trabajo.

A los doctores de la empresa Ilender Perú: Dra. Sandra Espinoza, y mi especial agradecimiento al Dr. Daniel Molina, co-asesor de mi tesis, por confiar en mí para llevar a cabo este proyecto, así como por su tiempo y dedicación en el desarrollo de este trabajo.

A los miembros del jurado: Dr. Otto Zea, Ing. Marcial Cumpa y MV. Aída Cordero, por su tiempo y dedicación en la revisión y evaluación de mi trabajo.

A los doctores del Laboratorio de Patología aviar: Dra. Eliana Icochea, Dra. Ana Paola Apaza, Dra. Gina Sanguinetti y Dr. Alonso Callupe por haberme guiado durante la ejecución del experimento.

A mis compañeras y amigas Alma y Rosalía, por sus consejos y orientación en el proceso de sustentación de la tesis.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----|
| RESUMEN | VI |
| ABSTRACT | VII |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 3 |
| 2.1 Etiología de <i>Escherichia coli</i> | 3 |
| 2.2 Epidemiología | 4 |
| 2.3 Signos clínicos, morbilidad y mortalidad | 7 |
| 2.4 Patología y patogénesis | 8 |
| 2.5 Diagnóstico..... | 13 |
| 2.6 Estrategias de prevención | 15 |
| 2.7 Tratamiento | 18 |
| 2.7.1 Tetraciclinas | 18 |
| 2.7.2 Doxiciclina | 20 |
| 2.7.2.1 Recomendaciones de uso de doxiciclina en pollos de engorde | 21 |
| 2.7.2.2 Farmacodinamia | 22 |
| 2.7.2.3 Farmacocinética | 23 |
| 2.7.2.4 Interacción con otros fármacos | 26 |
| 2.7.2.5 Reacciones adversas y toxicidad | 27 |
| 2.8 Resistencia bacteriana | 28 |
| III. METODOLOGÍA..... | 28 |
| 3.1 Lugar y duración del experimento..... | 28 |
| 3.2 Material biológico..... | 28 |
| 3.3 Instalaciones..... | 29 |

| | | |
|--------|--|----|
| 3.4 | Materiales y Equipos | 29 |
| 3.5 | Preparación del galpón experimental | 29 |
| 3.6 | Producto a evaluar | 30 |
| 3.7 | Alimentación | 30 |
| 3.8 | Tratamientos | 32 |
| 3.9 | Preparación del inóculo de <i>Escherichia coli</i> | 32 |
| 3.10 | Desafío biológico con <i>Escherichia coli</i> | 33 |
| 3.11 | Protocolo para evaluación de lesiones macroscópicas..... | 34 |
| 3.12 | Aislamiento de la cepa <i>E. coli</i> | 34 |
| 3.13 | Mediciones..... | 35 |
| 3.14 | Análisis Estadístico..... | 38 |
| IV. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 39 |
| 4.1. | Rendimiento productivo | 39 |
| 4.1.1. | Peso Vivo | 39 |
| 4.1.2. | Consumo de alimento..... | 41 |
| 4.1.3. | Ganancia de peso..... | 42 |
| 4.1.4. | Índice de Conversión Alimenticia..... | 43 |
| 4.1.5. | Índice de Eficiencia Productiva europeo..... | 45 |
| 4.2. | Mortalidad | 46 |
| 4.3. | Grado de lesiones promedio | 48 |
| V. | CONCLUSIONES | 51 |
| VI. | RECOMENDACIONES | 52 |
| VII. | BIBLIOGRAFÍA | 53 |
| VIII. | ANEXOS | 67 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1: Composición porcentual de ingredientes y contenido nutricional de las dietas experimentales | 30 |
| Cuadro 2: Rendimiento productivo en pollos de engorde tratados con dosis máxima y mínima de doxiciclina (Período de 1 a 24 días de edad) | 40 |
| Cuadro 3: Mortalidad producto del desafío con <i>E. coli</i> en pollos de engorde tratados con dosis máxima y mínima de doxiciclina (Período de 19 a 23 días de edad) | 46 |
| Cuadro 4: Grado de lesiones promedio en órganos de pollos de engorde muertos y sobrevivientes durante el período post- desafío (Período de 19 a 24 días de edad). | 48 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Estructura de 6-desoxi-6-desmetiltetraciclina | 19 |
| Figura 2. Fórmula estructural del hclato de Doxiciclina | 21 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1: Ficha técnica de Doxil 50 PS | 68 |
| Anexo 2: Protocolo elaborado por la empresa Ilender S.A. | 69 |
| Anexo 3: Protocolo de Enteropluri-Test: Sistema de identificación de Enterobacterias | 74 |
| Anexo 4: Crianza de pollos en galpón experimental..... | 75 |
| Anexo 5: Desafío experimental con <i>E. coli</i> a los 18 días de edad en pollos | 76 |
| Anexo 6: Signos clínicos en aves enfermas post- desafío con <i>E. coli</i> | 77 |
| Anexo 7: Lesiones macroscópicas en órganos blancos de infección | 78 |
| Anexo 8: Peso vivo..... | 80 |
| Anexo 9: Ganancia de peso acumulada..... | 80 |
| Anexo 10: Consumo de alimento acumulado..... | 81 |
| Anexo 11: Índice de conversión alimenticia | 81 |
| Anexo 12: Índice de eficiencia productiva | 82 |
| Anexo 13: Grado de lesiones en órganos en pollos muertos durante el período post- desafío..... | 83 |
| Anexo 14: Grado de lesiones en órganos en pollos sobrevivientes durante el período post- desafío | 84 |
| Anexo 15: recuperación de la cepa infectiva de <i>Escherichia coli</i> | 85 |

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la eficacia terapéutica de doxiciclina sobre el rendimiento productivo, mortalidad y el grado de lesiones en órganos de pollos de engorde desafiados experimentalmente con *Escherichia coli* a los 18 días de edad. Se utilizaron 384 pollos machos de la Línea Cobb 500, los cuales fueron distribuidos al azar en cuatro tratamientos con seis repeticiones de 16 pollos cada una: T1 control no desafiado, no tratado; T2 control desafiado, no tratado; T3 desafiado, tratado con 600 g/TM de doxiciclina y T4 desafiado, tratado con 300 g/TM de doxiciclina. Se registró el peso vivo, el consumo de alimento, la ganancia de peso, el índice de conversión alimenticia y el índice de eficiencia productiva semanalmente hasta la culminación del estudio a los 24 días de edad. La mortalidad causada por efecto del desafío con la bacteria y la severidad de lesiones macroscópicas en corazón, hígado y sacos aéreos fue registrada desde las primeras 24 horas hasta los 5 días post infección. Al final del ensayo, se realizó la necropsia de las aves sobrevivientes por cada corral (n = 8) para evaluar el grado de severidad de las lesiones en órganos infectados. Los datos obtenidos fueron evaluados mediante análisis de varianza bajo un Diseño Completamente al Azar, utilizando la Prueba de Tukey para la comparación de medias de las variables del rendimiento productivo y mortalidad; mientras que, para el grado de lesiones, la Prueba de Kruskal Wallis. El tratamiento terapéutico con ambas dosis de doxiciclina mejoró significativamente el rendimiento productivo y disminuyó significativamente la mortalidad de las aves infectadas con *E. coli* a los 5 días post tratamiento respecto al grupo control de aves desafiadas no tratadas. No hubo diferencias significativas en el rendimiento productivo y porcentaje de mortalidad entre los grupos tratados con ambas dosis del antibiótico. De igual manera, el tratamiento con ambas dosis del antibiótico disminuyó la frecuencia y severidad de lesiones en sacos aéreos, hígado y corazón de las aves infectadas respecto al control no tratado, sin haber diferencias significativas entre ellos. En base a estos resultados, la administración de doxiciclina en la dosis de 600 y 300 g/TM en el alimento demostró su eficacia terapéutica al controlar y reducir significativamente la infección experimental por *Escherichia coli* en pollos de engorde, reflejado en un mejor rendimiento productivo, disminución significativa tanto de la mortalidad y de la severidad de lesiones frente a un grupo de aves desafiadas no tratadas.

Palabras clave: Doxiciclina, eficacia terapéutica, *Escherichia coli*, pollos de carne, mortalidad, rendimiento productivo.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determinate the therapeutic efficacy of doxycycline on the productive performance, mortality and the degree of lesions in organs of broiler chickens experimentally challenged with *Escherichia coli* at 18 days of age. 384 male chickens from the Cobb 500 Line were used, which were randomly distributed into four treatments with six repetitions of 16 chickens each: T1 control not challenged, not treated; T2 control challenged, not treated; T3 challenged, treated with 600 g/MT of doxycycline and T4 challenged, treated with 300 g/TM of doxycycline. Live weight, feed intake, weight gain, feed conversion ratio and productive efficiency index were recorded weekly until the end of the study at 24 days of age. Mortality caused by the effect of the challenge with the bacteria and the severity of macroscopic lesions in the heart, liver, and air sacs were recorded from the first 24 hours to 5 days post infection. At the end of the trial, the surviving birds were necropsied for each pen (n = 8) to assess the degree of severity of the lesions in the infected organs. The data obtained were evaluated by analysis of variance under a Completely Random Design, using the Tukey Test for the comparison of means of the variables of productive performance and mortality; while, for the degree of lesions, the Kruskal Wallis Test. Therapeutic treatment with both doses of doxycycline significantly improved productive performance and significantly decreased mortality of chickens infected with *E. coli* 5 days after treatment compared to the control group of non-challenged chickens treated. There were no significant differences in the productive performance and percentage of mortality between the groups treated with both doses of the antibiotic. Similarly, treatment with both doses of the antibiotic decreased the frequency and severity of lesions in the air sacs, liver, and heart of infected birds compared to the untreated control, with no significant differences between them. Based on these results, the administration of doxycycline in the doses of 600 and 300 g/T in feed demonstrated its therapeutic efficacy by significantly controlling and reducing experimental infection by *Escherichia coli* in broilers, reflected in a better productive performance, significant decrease in mortality and severity of injuries compared to a group of untreated challenged chickens.

Keywords: Doxycycline, therapeutic efficacy, *Escherichia coli*, broilers, mortality, productive performance.

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú, la carne de pollo es el producto cárnico de mayor consumo, alcanzando en el 2021 un consumo per cápita de 50.96 kg/habitante/año; y una producción nacional de 1, 639 182 toneladas (MIDAGRI, 2022). Entre las amenazas más relevantes que enfrenta el sector avícola se encuentran las enfermedades infecciosas y, entre ellas, se encuentran las infecciones causadas por *Escherichia coli*, la cual está asociada a fuertes pérdidas económicas en la producción avícola mundial, debido a la disminución del rendimiento productivo, costos elevados en el tratamiento, decomisos en los camales, incremento de la mortalidad por el deterioro de la salud general de las aves, pudiendo ser afectadas en cualquier etapa de su vida productiva (Blanco *et al.*, 2002; Lutful, 2010; Nolan *et al.*, 2020).

Para combatir el cuadro clínico producto de la infección por la bacteria en las aves y evitar su propagación en el plantel, se puede emplear una amplia gama de antibióticos como herramienta para su control, cuya eficacia estará supeditada a la sensibilidad de la bacteria a una molécula o un grupo de moléculas en específico, las cuales se han usado desde hace muchos años. Para ello, es importante elegir el tratamiento adecuado que resulte eficaz para controlar una infección por *E. coli*, de lo contrario se dará lugar a la aparición de resistencias al fármaco empleado, un alargamiento del periodo de recuperación de los animales enfermos y el riesgo de reinfecciones en la parvada (ASAV, 2017; Badiola, 2017). Por otra parte, entidades gubernamentales como la Organización Mundial de Salud Animal (OIE), la Asociación Americana Médico Veterinaria (AVMA) y la Asociación Americana de Patólogos Aviáres (AAAP) promueven un uso juicioso y responsable de éstos, siguiendo las guías y leyes existentes para la prescripción y administración de agentes antimicrobianos a través del alimento y la evaluación continua de los resultados de la terapia antimicrobiana para evitar la aparición de resistencias (OIE, 2016; Cervantes, 2018).

Una alternativa para el tratamiento de infecciones por *E. coli* es la doxiciclina, un antibiótico de amplio espectro que ha resultado eficaz en cuadros clínicos de la enfermedad en aves de corral (Akbar *et al.*, 2009; Cristina *et al.*, 2010; Sumano y Gutiérrez, 2010). Si bien a nivel comercial existen actualmente en la industria avícola presentaciones de diferentes laboratorios empleando esta molécula para su uso en el tratamiento de esta enfermedad, no existen reportes oficiales o trabajos de investigación sobre la evaluación de su eficacia en condiciones de producción moderna o a nivel experimental empleando un diseño experimental en específico.

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue determinar la eficacia terapéutica de doxiciclina sobre un cuadro infeccioso inducido de *Escherichia coli* en pollos de engorde.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Etiología de *Escherichia coli*

Escherichia coli es un bacilo Gram-negativo, anaerobio facultativo, inmóvil o móvil mediante flagelos peritricos y con dimensiones que alcanzan hasta las 2 μm (Blanco *et al.*, 2002; Díaz y Gonzáles, 2019). Es la especie bacteriana predominante de la microbiota normal aerobia y anaerobia facultativa del aparato digestivo de la mayor parte de los animales y del hombre y, por tanto, se elimina por las heces al exterior (Schroeder *et al.*, 2004; Díaz y Gonzáles, 2019).

De acuerdo con la clasificación taxonómica proporcionada por Scheutz (2005), esta especie bacteriana se categoriza dentro del género *Escherichia spp.*, que forma parte de la familia Enterobacteriaceae, el cual pertenece al orden Enterobacteria y, que a su vez pertenece a la clase Gammaproteobacteria, en el Phylum Proteobacteria.

La bacteria no presenta resistencia a los ácidos, se tiñe de manera uniforme y no forma esporas. Puede crecer en medios nutritivos convencionales a temperaturas que oscilan entre los 18 y 44 °C. Además, tiene la capacidad de fermentar la glucosa, lo cual resulta en la producción de ácido y gas (Kunert *et al.*, 2015). Asimismo, la mayoría de las cepas de *E. coli* fermentan lactosa con rapidez y producen indol, lo que, junto con otras acciones bioquímicas, permite distinguirla de otras especies (Ryan *et al.*, 2011). Por otra parte, la velocidad de crecimiento y el tiempo de generación están relacionados con la temperatura: A medida que la temperatura aumenta, se percibe un incremento de la población de *E. coli* (Nolan *et al.*, 2020).

Las especies de *E. coli* se dividen serológicamente en serogrupos y serotipos en función de su composición antigénica, de acuerdo al esquema de Kauffman: antígeno O (somático) para los serogrupos; y, antígeno H (flagelar) para los serotipos; mientras que muchas cepas expresan una tercera clase de antígenos K (capsular) (Giner, 2016). En la actualidad se han identificado 185 antígenos O, 56 H y 80 K, sin embargo, estas cifras pueden cambiar a medida que se identifican nuevos antígenos y se eliminan los anteriores que están duplicados o son atribuibles a otra especie bacteriana (Giner, 2016; Nolan *et al.*, 2020).

Por otra parte, ciertas cepas pueden causar infecciones invasivas fuera del tracto intestinal, como sucede con la *E. coli* Patógena Aviar (APEC), que puede ser total o parcialmente responsable de la enfermedad conocida como Colibacilosis (Galal *et al.*, 2021). La presencia de APEC aumenta la severidad y las complicaciones de la gripe aviar (IA) H9N2, el virus de la Bronquitis Infecciosa (IBV) y la enfermedad de Newcastle Viscerotrópica Velogénica (VVND), además de aumentar las respuestas adversas después de la vacunación en aerosol, especialmente en relación con la vacuna contra el virus de la enfermedad de Newcastle (NDV) cepa La Sota y las variantes de cepas vacunales de la Bronquitis (Galal *et al.*, 2021).

De igual manera, otros agentes bacterianos, como *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* y *Ornithobacterium rhinotracheale*, además de factores no infecciosos, como barreras cutáneas o mucosas comprometidas, un sistema de fagocitosis mononuclear deteriorado, inmunosupresión relacionada con toxinas, ventilación e higiene deficientes, generalmente predisponen a un ave a la infección o contribuyen a la gravedad de la enfermedad (Amer *et al.*, 2009; Nolan *et al.*, 2020; Christensen *et al.*, 2021).

De esta manera, la *E. coli* es considerado como un patógeno secundario y oportunista, a su vez, uno de los agentes bacterianos causantes, de mayor responsabilidad, en pérdidas económicas en la industria avícola mundial, así como de las confiscaciones más frecuentes en el camal, siendo el 43% de las carcasas incautadas por presentar lesiones compatibles con *E. coli* (Stordeur y Mainil, 2002; Peek *et al.*, 2013).

2.2 Epidemiología

2.2.1. Incidencia y distribución

Escherichia coli tiene una amplia distribución cosmopolita, que se divide en diversos serotipos y es un habitante común del intestino en una gran cantidad de animales, incluyendo el ser humano (Nolan *et al.*, 2020). Por una parte, existen serotipos comensales, que forman parte del microbiota intestinal de aves sanas, que pueden desempeñar una serie de funciones beneficiosas, incluida la biosíntesis de vitamina K (Wigley, 2015). Asimismo, su presencia en el tracto intestinal inferior contribuye al crecimiento y desarrollo e inhibe otras bacterias, como *Salmonella* (Nolan *et al.*, 2020).

No obstante, los serotipos de *E. coli* pueden portar una variedad de factores o genes de virulencia que en un determinado momento actúan simultáneamente para potenciar su patogenicidad, lo que resulta en la aparición de diferentes infecciones y síndromes, que pueden estar localizados a nivel de los cromosomas o en islas de patogenicidad en plásmidos (Gibert, 2010; Giner, 2016; Valls, 2020). Estos factores incluyen: adhesinas, protectinas, sistemas de adquisición de hierro, toxinas, sistemas de dos componentes, un sistema de detección de quórum (QS), reguladores transcripcionales, sistemas de secreción, genes asociados al metabolismo, entre otros (Giner, 2016; Christensen *et al.*, 2021; Kathayat *et al.*, 2021).

En aves comerciales, la *E. coli* suele estar presente en el tracto intestinal, las superficies mucosas, la piel y las plumas y en el intestino de los pollos contiene unas 10^6 unidades formadoras de colonias por gramo de heces con cifras más elevadas en aves más jóvenes, aves sin un microbiota normal establecida, y en el tracto intestinal inferior (Awad *et al.*, 2020). De igual modo, los coliformes patógenos son más frecuentes en el intestino de los pollitos recién eclosionados que en los huevos de los que nacieron, lo que sugiere una rápida propagación tras la eclosión, de esta manera, la fuente más importante de infección de los huevos es la contaminación fecal de la superficie del huevo con la subsiguiente penetración de la cáscara y las membranas (Nolan *et al.*, 2020). Por otra parte, los coliformes pueden encontrarse en la cama y la materia fecal, sin embargo, la *E. coli* sólo representa una pequeña parte del total de bacterias presentes en la cama (Nandi *et al.*, 2004). De igual modo, el polvo de los galpones puede contener 10^5 - 10^6 *E. coli*/g, pudiendo persistir durante largos periodos, sobre todo en condiciones secas (Nolan *et al.*, 2020).

2.2.2. Hospederos

La mayoría de las especies aviares son susceptibles a las infecciones provocadas por *E. coli*, incluyendo las que son causadas por APEC, las cuales son frecuentes en pollos, gallinas ponedoras y pavos en diversas formas (Díaz y Gonzáles, 2019; Nolan *et al.*, 2020). Las infecciones naturales pueden producirse en otras especies aviares como codornices, faisanes, palomas, avestruces, emús, pavos reales y perdices, especialmente si se crían de forma intensiva en condiciones de confinamiento (Burns *et al.*, 2003; Raue *et al.*, 2005; Barbieri *et al.*, 2012; Díaz-Sánchez *et al.*, 2012).

Todas las edades son susceptibles a la colibacilosis, pero las aves jóvenes se ven afectadas con mayor frecuencia, presentando mayor gravedad de la enfermedad (Nolan *et al.*, 2020). La forma predominante de esta enfermedad se observa con mayor frecuencia en pollos con edades comprendidas entre las 3 y las 10 semanas (Hamoudi y Aggad, 2008), mientras que, en pavos, los problemas de colibacilosis suelen presentarse en la primera semana de vida y después entre las 6 y 9 semanas (Valls, 2020). Por otra parte, la *E. coli* puede causar daño en las reproductoras al iniciar su etapa de producción, siendo la salpingitis, peritonitis o salpingo/peritonitis las principales lesiones encontradas (Díaz y Gonzáles, 2019).

2.2.3. Transmisión

En la mayoría de los animales, la *E. coli* se encuentra comúnmente en el tracto intestinal y se elimina, en cantidades considerables, a través de las heces. Como resultado, el contacto directo o indirecto con otros animales o sus heces puede ocasionar la introducción de nuevas variedades de la bacteria en la parvada de aves comerciales (Nolan *et al.*, 2020). Asimismo, las aves se infectan a través del pienso y el agua contaminada, pudiendo contagiar a otras aves por vía fecal-oral o aerosol (Guabiraba y Schouler, 2015; Kathayat *et al.*, 2021). Además, una vez que la APEC ingresa por vía oral, nasal o cloacal, se establece en las membranas mucosas de los tractos gastrointestinal, respiratorio y reproductor de los pollos sin provocar enfermedad. Sin embargo, en presencia de infecciones virales o por micoplasma concurrentes, así como en situaciones de estrés o inmunosupresión, la APEC puede invadir las membranas mucosas y alcanzar órganos extraintestinales (corazón, hígado, pulmón, bazo, riñón, órganos reproductores, etc.) dando lugar a la colibacilosis (Kathayat *et al.*, 2021).

La transmisión de *E. coli* puede darse de manera vertical u horizontal. En el primer caso, la bacteria coloniza a los pollos de un día de edad través de huevos contaminados genuinamente infectados, o contaminados superficialmente por el entorno de los reproductores (Christensen *et al.*, 2021); y, por consiguiente, la colonización de la superficie puede provocar indirectamente la infección del embrión si la *E. coli* penetra en la cáscara del huevo (Barnett *et al.*, 2004; Bain *et al.*, 2019). El riesgo de que se produzca una infección de este tipo aumenta si los huevos están agrietados; y, a su vez, también puede ser patógeno para los humanos (Barnett *et al.*, 2004; Mellata *et al.*, 2018). Por último, en la nacedora estos organismos proliferan y se propagan horizontalmente durante la eclosión y el transporte (Christensen *et al.*, 2021).

Otras rutas de transmisión para infectar a las aves con *E. coli* patógeno es a través del tracto respiratorio, por inhalación de polvo contaminado; así como mediante la piel, por heridas y otros cortes en la piel causados por rasguños (debido al amontonamiento o a jaulas rotas), el manejo brusco por parte del personal, los ectoparásitos, o el ombligo de los pollitos sin cicatrizar (Hy Line International, 2014). Asimismo, a través del tracto gastrointestinal, por coccidiosis, enteritis en general, micotoxinas, antibióticos, mala calidad del agua, y cambios bruscos en el alimento que tienen la capacidad de alterar la flora bacteriana normal del intestino facilitando la acción de *E. coli*; y por onfalitis o infección en el saco vitelino, siendo una de las principales causas de mortalidad en los pollitos durante la primera semana (Hy Line International, 2014).

2.3 Signos clínicos, morbilidad y mortalidad

El diagnóstico presuntivo puede realizarse en función de los signos clínicos hallados en la inspección de las aves. Estos signos suelen incluir estertores traqueobronquiales, dificultad para respirar, inapetencia y un estado general de depresión en las aves, manifestado por el cierre de los ojos en una posición encorvada con la cabeza, el cuello, las alas caídas, y el pico que se puede insertar en la cama para sostener la cabeza (Barnes *et al.*, 2003). Por otra parte, cuando se ven afectadas las articulaciones y huesos de las patas de las aves, éstas pueden presentar dificultad para pararse o caminar, espalda arqueada, soportar poco o ningún peso sobre las patas y sentarse sobre los corvejones, es así que, las aves con cojera crónica tienden acumular excrementos alrededor de la cloaca y en las plumas abdominales (Nolan *et al.*, 2020).

Debido al cuadro clínico producto de la colisepticemia, las aves a menudo están moribundas o muy letárgicas, y no responden a estímulos, lo cual las convierte en aves fáciles de atrapar y manipular. Asimismo, presentan retraso en el crecimiento, disminución de la producción y pérdida de peso, ubicándose generalmente a los extremos del galpón, a lo largo de las paredes laterales o debajo de los comederos y bebederos, convirtiéndolas en posibles víctimas de canibalismo por parte de las aves sanas (Barnes *et al.*, 2003, Nolan *et al.*, 2020).

Por otra parte, se produce una reducción en el consumo de agua, lo que lleva a la deshidratación que se evidencia por una piel oscura y seca, especialmente en los muslos y las patas. Además, las heces presentan un color verde con uratos de tonalidad blanca a amarilla debido a la falta de apetito y deshidratación. En caso de pollitos jóvenes deshidratados, estos suelen tener pliegues de piel prominentes, elevados a lo largo de los lados medial y lateral de las patas, así como uñas que parecen negras (Nolan *et al.*, 2020).

Las cepas patógenas de *E. coli* están relacionadas con enfermedades extraintestinales, como la colibacilosis aviar, que provoca una elevada mortalidad y morbilidad en las aves de corral como consecuencia de la septicemia, asociándose con mayor frecuencia de las aves de corral jóvenes, pero también afecta a menudo a aves maduras (Kemmett *et al.*, 2014; Guabiraba y Schouler, 2015). El mecanismo de la patogenicidad de las cepas de *E. coli* en aves puede atribuirse a la prevalencia de factores tóxicos, lo cual fue evidenciado en algunas cepas aisladas de órganos viscerales de pollos con colisepticemia y de heces de pollos sanos que fueron capaces de producir diferentes tipos de enterotoxinas (Blanco *et al.*, 1997). Asimismo, la colibacilosis disminuye el bienestar y la producción de las aves a lo largo de todo el ciclo productivo, siendo ambos altamente variables dependiendo del tipo de patología producida por *E. coli*. En lotes con colisepticemia altamente patógena, en ocasiones se puede presenciar la enfermedad y la rápida muerte de las aves en cuestión de horas, a pesar de que parecían clínicamente normales cuando fueron examinadas durante el día (Nolan *et al.*, 2020).

2.4 Patología y patogénesis

Las infecciones por *E. coli* están distribuidas considerablemente entre aves de todas las edades y categorías, las cuales están vinculadas principalmente con carentes condiciones higiénicas, métodos tecnológicos mal realizados y enfermedades respiratorias o inmunosupresoras (Dinev, 2011). Estas patologías están asociadas con diversas enfermedades en pollos de engorde, que pueden manifestarse de diferentes formas o síndromes. Algunas de ellas se manifiestan como infecciones localizadas como la onfalitis, celulitis y síndrome de la cabeza hinchada. Además, pueden causar una infección sistémica generalizada conocida como colisepticemia, y, por último, hay enfermedades que pueden desarrollarse como consecuencia de la colisepticemia, tales como la panoftalmitis, el coligranuloma o enfermedad de Hjarre, y la osteomielitis/sinovitis, que forman parte de la Colibacilosis Aviar (Schouler, 2015; Nolan *et al.*, 2020).

A) Formas localizadas

- **Onfalitis (infección del saco vitelino):** La onfalitis es la inflamación del ombligo, caracterizada por el enrojecimiento y edema tisular de la región umbilical, que se produce tras la contaminación del ombligo no cicatrizado con APEC (Dinev, 2011; Nolan *et al.*, 2020). Las fuentes de infección consideradas más importantes son la contaminación fecal de la cáscara del huevo y las condiciones antihigiénicas en la incubadora. Asimismo, las bacterias pueden adquirirse *in ovo* si la gallina tiene ooforitis o salpingitis o por contaminación después de la inseminación artificial (Nolan *et al.*, 2020). El retraso de la absorción del saco vitelino es un pre-requisito para las infecciones de *E. coli* y la peritonitis, siendo los serotipos 01: K1, 02: K1 y 078: K80 identificados a menudo en estos casos. Por otro lado, en la etapa final de la infección, el contenido de la yema liberado en la cavidad peritoneal produce procesos necróticos putrefactivos, observándose el abdomen hinchado y la pared completa del mismo afectada por gangrena húmeda o maceración (Dinev, 2011).
- **Celulitis coliforme:** Es la inflamación crónica del tejido subcutáneo en el abdomen y los muslos, también conocida como dermatitis necrótica, que se caracteriza por placas fibrinonecróticas subcutáneas e inflamación de la piel adyacente en pollos de engorde, siendo la *Escherichia coli* el microorganismo más frecuentemente aislado (Lutful, 2010; Poulsen *et al.*, 2018). La inflamación suele iniciarse por arañazos y heridas y va seguida de infección. Asimismo, las lesiones típicas incluyen la decoloración de la piel de la parte inferior del abdomen, cerca de la cloaca, que a veces también afecta a los muslos (Poulsen *et al.*, 2018). Normalmente no se considera que la celulitis provoque una enfermedad clínica o una disminución del crecimiento normal de las aves, ya que a menudo pasa desapercibida durante la producción. Por lo general, las lesiones se reconocen posteriormente en el beneficio de las aves en el procesado, lo que puede dar lugar a importantes pérdidas económicas (Poulsen *et al.*, 2018).
- **Síndrome de la cabeza hinchada:** El síndrome de la cabeza hinchada (SHS) es una forma localizada de colibacilosis producto de una celulitis aguda a subaguda que afecta los tejidos periorbitarios y subcutáneos adyacentes de la cabeza, principalmente en pollos de engorde (Lutful, 2010, Nolan *et al.*, 2020). Por otra parte, en ponedoras puede causar una reducción de la producción de huevos del 2 al 3% y una mortalidad del 3 al 4% (Lutful, 2010).

B) Forma sistémica

- **Colisepticemia:** Es la presencia de *E. coli* patógena en el torrente sanguíneo, el cual es un paso importante para la diseminación bacteriana en la colibacilosis aviar, permitiendo su posterior multiplicación en la sangre y la colonización de los órganos internos (Guabiraba y Schouler, 2015; Nolan *et al.*, 2020). La colisepticemia progresa a través de las siguientes etapas: septicemia aguda, poliserositis subaguda e inflamación granulomatosa crónica (Nolan *et al.*, 2020). Asimismo, afecta a aves de todas las edades, siendo descrita principalmente en pollos de engorde, provocando depresión, fiebre y, a menudo, una elevada mortalidad (Lutful, 2010).

Pese a que su patogenia no ha sido dilucidada con claridad, se han descrito varias posibles vías de infección: Infección a través del tracto respiratorio, infección de los órganos reproductores, infecciones a través de lesiones cutáneas e infecciones neonatales (Lutful, 2010). La forma más predominante de colisepticemia es la de origen respiratorio, la cual provoca la formación de lesiones fibrinopurulentas en los órganos internos y afecta tanto a pollos como a pavos (Guabiraba y Schouler, 2015; Nolan *et al.*, 2020).

La propagación de la infección por *E. coli* en el tracto respiratorio puede ocurrir por la inhalación de partículas de polvo que están contaminadas con la bacteria proveniente de las heces de animales sanos, siendo la colonización de la tráquea y los sacos aéreos considerada como el primer paso de una infección sistémica por APEC (Stordeur y Mainil, 2002; Guabiraba y Schouler, 2015). La bacteria, mediante las fimbrias F1, se adhiere a las células del epitelio del tracto respiratorio superior, epitelio del oviducto y mucosa del tracto digestivo iniciándose la colonización bacteriana (Gibert, 2010; Nolan *et al.*, 2020). Después de una primera multiplicación en el tracto respiratorio superior, las bacterias colonizan el tracto respiratorio profundo, es decir, los sacos aéreos y los pulmones (Stordeur y Mainil, 2002). Una vez que la mucosa respiratoria ha sido dañada, la *E. coli* logra tener acceso a la circulación sanguínea y se transloca a los órganos internos, gracias a su capacidad de adherencia mediada por las fimbrias P (Mellata *et al.*, 2003; Gibert, 2010).

Posteriormente, la infección podría propagarse y colonizar otros órganos principalmente el hígado y el pericardio, por lo tanto, las lesiones macroscópicas más frecuentemente observadas en el desarrollo de una colisepticemia en pollos de engorde están asociados a aerosaculitis, perihepatitis y pericarditis (Blanco *et al.*, 2002; Akbar *et al.*, 2009; Kemmett *et al.*, 2014; Guabiraba y Schouler, 2015).

- **Aerosaculitis**

La aerosaculitis se caracteriza por la inflamación intensa en respuesta al daño ocasionado por el ingreso de una bacteria a los sacos aéreos, los cuales están recubiertos interiormente por una sola capa de células epiteliales (Álvarez, 2006). El cuadro clínico se caracteriza por la presencia de exudado seroso, predominando los heterófilos en la luz y turbidez de los sacos aéreos, los cuales se presentan en fases iniciales de la infección bacteriana. Posteriormente, en etapas más avanzadas, se puede observar la presencia de espuma y fibrina (Majó y Dolz, 2011). Finalmente, el exudado al no ser evacuado genera un medio excelente para la multiplicación de agentes patógenos y su acumulación conlleva a la penetración hacia los capilares aéreos del pulmón, inundándolos y asfixiando al ave (Álvarez, 2006).

- **Perihepatitis**

La perihepatitis se caracteriza por la presencia de exudado fibrinoso en la superficie del hígado y se observa habitualmente en casos de poliserositis fibrinosa por septicemias bacterianas (Majó y Dolz, 2011). Además, las lesiones a nivel del hígado se localizan principalmente en la periferia del órgano, y se caracterizan por congestión, engrosamiento del tejido y depósito de fibrina. Este depósito es a veces tan importante que la superficie del órgano adquiere la apariencia de un panqueque (Stordeur y Mainil, 2002). Asimismo, se perciben otros cambios ultraestructurales en la superficie serosa del hígado como la vacuolización de las células mesoteliales, infiltración de células inflamatorias, restos celulares y, 24 horas después de la inoculación, un gran número de células bacterianas que se adhieren a las células mesoteliales de la superficie serosa en el hígado. Posteriormente, luego de 48 horas de la infección se aprecia una perihepatitis de leve a moderada (Pourbakhsh *et al.*, 1997). Finalmente, según la investigación de Akbar *et al.* (2009), se observa el hígado necrótico y hemorrágico después de las 72 horas posterior a la inoculación con *E. coli* en pollos de engorde.

- **Pericarditis**

La pericarditis es una lesión originada por una septicemia, normalmente por *Escherichia coli*, que se caracteriza por la inflamación de las serosas que recubren el corazón y forman el saco pericárdico, caracterizado por la presencia de exudado fibrinoso en la cavidad pericárdica o en la superficie del pericardio visceral (Majó y Dolz, 2011). A nivel macroscópico, en primer lugar, se acumulan masas líquidas y blandas de exudado pálido dentro del saco pericárdico, seguidas de exudado fibrinoso, el cual se aprecia adherido libremente al epicardio, al ser abierto el saco pericárdico. A medida que la enfermedad progresa, el exudado aumenta, se vuelve más celular (fibrinoheterófilo) y sufre caseificación. Finalmente, en casos crónicos, el saco pericárdico se adhiere al epicardio, que eventualmente resulta en insuficiencia cardíaca constrictiva (Nolan *et al.*, 2020).

C) Lesiones secuela de colisepticemia

- **Panoftalmitis:** Es la inflamación total de los tejidos del globo ocular, que, por lo general, se desarrolla como consecuencia de una colisepticemia secundaria (Dinev, 2011). Es un síndrome poco frecuente, sin embargo, cuando se presenta la infección, esta suele ser grave y usualmente unilateral (Dinev, 2011; Nolan *et al.*, 2020). En primer lugar, se observa el ojo hinchado, de turbio a opaco, y puede estar hiperémico. Posteriormente, el ojo se encoge a medida que se atrofia. Asimismo, se observa exudado fibrinoheterófilo y existen numerosas colonias bacterianas por todo el ojo. Finalmente, la inflamación, especialmente adyacente al tejido necrótico, se vuelve granulomatosa con el tiempo (Nolan *et al.*, 2020).
- **Coligranuloma (Enfermedad de Hjarre):** El coligranuloma de pollos y pavos se caracteriza por granulomas múltiples en el hígado, ciegos, duodeno y mesenterio, a excepción del bazo. Se presenta esporádicamente como una forma de colibacilosis sistémica en aves individuales, pero puede causar una mortalidad de hasta el 75% cuando afecta a una parvada (Lutful, 2010; Nolan *et al.*, 2020). Al principio de la enfermedad, hay necrosis por coagulación confluyente que afecta hasta la mitad del hígado. Asimismo, se observan heterófilos dispersos, y en el borde de las zonas necróticas hay algunas células gigantes. Posteriormente, aparecen los típicos granulomas heterófilos en los tejidos afectados (Nolan *et al.*, 2020).

- **Osteoartritis/ osteomielitis /sinovitis:** Una secuela común de la colisepticemia puede ocasionar inflamación de las articulaciones o artritis, inflamación de los huesos u osteomielitis e inflamación del líquido sinovial o sinovitis (Dinev, 2011; Guabiraba y Schouler, 2015). Las articulaciones coxofemorales, el fémur y las articulaciones tibio-tarsales, son las más afectadas con frecuencia, que dentro del punto de vista anatómico-patológico, se observan fracturas en la cabeza del fémur. Asimismo, la bacteria coloniza las epífisis de los huesos en crecimiento provocando una respuesta inflamatoria y además causa osteomielitis. Como consecuencia, los signos clínicos principalmente son cojera, baja postura prolongada, deshidratación y tasa de crecimiento retardada (Dinev, 2011).

2.5 Diagnóstico

El diagnóstico se basa en el aislamiento y la identificación de *E. coli* a partir de lesiones típicas de colibacilosis en órganos y tejidos de las aves afectadas, tales como pulmón, hígado, bazo, pericardio o médula ósea, además de, sangre cardiaca (Lutful *et al.*, 2010). Del mismo modo, las heces, secreciones faríngeas o traqueales sirven como muestras para el diagnóstico de la colibacilosis aviar (Blanco *et al.*, 2002). El aislamiento del organismo a partir de órganos viscerales de aves en descomposición debe interpretarse con cautela, ya que *E. coli* se propaga rápidamente desde el tracto intestinal a los tejidos circundantes de las aves muertas (Nolan *et al.*, 2020). Experimentalmente se ha demostrado que, en los casos agudos, el aislamiento es posible entre seis horas y tres días después de la infección, mientras que, en los casos subagudos sólo es posible hasta siete días después de la infección (Lutful *et al.*, 2010).

El cultivo microbiológico es el principal método para el diagnóstico de infecciones por *E. coli*, ya que todas las enterobacterias se aíslan con facilidad en los medios de cultivo habituales bajo casi cualquier condición de incubación (Ryan *et al.*, 2011). Por otra parte, para una mayor caracterización se recurre a otras herramientas y técnicas moleculares para tipificar y subtipificar el organismo (Nolan *et al.*, 2020).

2.5.1 Aislamiento e identificación bacteriológico

Posterior a la toma de muestras en la necropsia de las aves, se procede al aislamiento en medios de cultivo, siendo éste el principal método para el diagnóstico de todas las enterobacterias. Dentro de los medios indicadores selectivos tenemos el agar de MacConkey, un medio selectivo que inhibe el crecimiento de bacterias Grampositivas, especialmente enterococos y estafilococos, debido a la presencia de violeta cristal y sales biliares (Kunert *et al.*, 2015). Así mismo, es el medio de preferencia para coliformes, y se utiliza a menudo para el aislamiento primario con el fin de acelerar el aislamiento de muchas especies, generalmente de la familia *Enterobacteriaceae* (Ryan *et al.*, 2011; Apolo, 2015). Por lo general, la *E. coli* fermenta lactosa con rapidez y produce colonias ácidas, de color rojo ladrillo, rodeadas de una zona de bilis precipitada (Ryan *et al.*, 2011; Kunert *et al.*, 2015; Nolan *et al.*, 2020).

Otro medio de cultivo muy utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos entéricos Gram negativos es el agar Eosina y Azul de Metileno o agar EMB (por sus siglas en inglés), en el cual la mayoría de las colonias de *E. coli* suelen presentar un centro oscuro y un brillo metálico verdoso debido a la rápida fermentación de la lactosa (Kunert *et al.*, 2015). Por otra parte, el agar cerebro-corazón y agar tripticasa de soya son medios muy nutritivos, excelentes para el crecimiento y aislamiento de microorganismos exigentes (Blanco *et al.*, 2002).

2.5.2 Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial es de suma importancia debido que, muchos agentes infecciosos han sido aislados a partir de lesiones compatibles con colibacilosis. Entre estos agentes se encuentran *Pasteurella spp.*, *Ornithobacterium spp.* y *Riemerella spp.*, que pueden ocasionar cuadros agudos de septicemia (Barnes *et al.*, 2003; Nolan *et al.*, 2020). Además, muchos organismos, incluidos virus, micoplasmas y otras bacterias pueden causar lesiones sinoviales similares a las resultantes de la infección por *E. coli*. Del mismo modo, la pericarditis puede producirse en infecciones por *Chlamydophila*, *pasteurellae*, o *streptococci* (*Streptococcus*, *Enterococcus*), mientras que, micoplasmas y *Chlamydophila spp.* son capaces de ocasionar aerosaculitis (Nolan *et al.*, 2020). Asimismo, diversos organismos, como *Aerobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, salmonelas, *Bacillus spp.*, estafilococos, enterococos, o clostridios se aíslan a menudo (como cultivos mixtos) de los sacos vitelinos de embriones y pollitos (Rosario *et al.*, 2004).

2.6 Estrategias de prevención

En las explotaciones avícolas, las infecciones causadas por *E. coli*, son un desafío que enfrentan los veterinarios, debido a los altos costos de inversión para controlar la enfermedad y las pérdidas que representan, por ello es importante implementar protocolos de bioseguridad y normas sanitarias que deben cumplir los trabajadores en la granja (Díaz y González, 2019).

La prevención de infecciones por APEC en galpones avícolas requiere la gestión de factores de estrés ambiental, tales como un manejo adecuado, saneamiento ambiental, una buena calidad del aire y protección contra infecciones virales (Enfermedad de Marek, Gumboro, Anemia Infecciosa) o inmunodepresoras en las aves (Nolan *et al.*, 2020). Además, la reducción de la presencia de amoníaco y polvo, garantizar la calidad tanto de la cama como del aire y mantener una adecuada ventilación, temperatura, humedad y densidad de las aves reducirá drásticamente la probabilidad de colibacilosis (Kathayat *et al.*, 2021). De igual manera, se deben tomar otras medidas de bioseguridad, como evitar el ingreso de vectores como moscas domésticas, aves silvestres y roedores, para mantener alejada la APEC de las instalaciones (Christensen *et al.*, 2021). Asimismo, la cloración del agua potable y el uso de bebederos tipo niple han demostrado reducir los casos de colibacilosis y los decomisos por aerosaculitis (Nolan *et al.*, 2020).

Una buena nutrición y sistemas inmunitarios mejorados en las aves también contribuyen a reducir la incidencia de la colibacilosis (Kathayat *et al.*, 2021). Además, la transmisión vertical de la APEC puede prevenirse a nivel de la cría o en la cúspide de la pirámide de producción mediante diferentes medidas de intervención, como el desarrollo de razas con mayor resistencia a las infecciones por APEC, la limpieza y desinfección de los huevos para incubar y la reducción al mínimo del uso de huevos de suelo (Christensen *et al.*, 2021).

No existen métodos conocidos para reducir el nivel de *E. coli* patógena en el tracto intestinal y las heces, aunque no deben pasarse por alto las siguientes consideraciones: (1) el alimento peletizado tiene menos *E. coli* que, en harina, (2) los excrementos de roedores son una fuente de *E. coli* patógena, y (3) el agua contaminada puede contener una gran cantidad de la bacteria (Nolan *et al.*, 2020). No obstante, las cepas patógenas de *E. coli* se pueden excluir competitivamente de los intestinos de los pollitos sembrándolos con microbiota nativa de pollos resistentes, productos comerciales de exclusión competitiva o esporas de *Bacillus subtilis* (La Ragione *et al.*, 2001; Hofacre *et al.*, 2002; Teo *et al.*, 2006).

Por otra parte, la vacunación es una estrategia utilizada en el control de la mayoría de las infecciones, principalmente virales. Sin embargo, se han desarrollado varias vacunas para prevenir enfermedades causadas por patógenos bacterianos en aves de corral, entre las que destacan vacunas contra *Salmonella*, *E. coli*, *Pasteurella multocida* (cólera aviar), *Avibacterium paragallinarum* (coriza infeccioso), entre otras (Swelum *et al.*, 2021).

- **Vacunas contra *E. coli* aviar**

Las vacunas contra *E. coli* incluyen vacunas inactivadas, vacunas vivas atenuadas y vacunas recombinantes (Rawiwet y Chansiripornchai, 2009). Las vacunas inactivadas, incluidas las autógenas, sólo protegen contra el desafío homólogo o mismo serotipo, más no brinda protección cruzada contra los serogrupos heterólogos (Nolan *et al.*, 2020). En consecuencia, para el uso de estas vacunas es necesario conocer el serotipo o los serotipos de *E. coli*, que están implicados en los brotes reales, no obstante, la vacunación con vacunas inactivadas puede estresar a las aves; así como los adyuvantes pueden inducir reacciones locales (Christensen *et al.*, 2021). Actualmente, existe en el mercado la marca Nobilis® *E. coli* (MSD Animal Health, Summit, NJ), vacuna de subunidades inactivadas compuesta por el antígeno fimbrial F11 y una toxina flagelar (Gregersen *et al.*, 2010; Ghunaim *et al.*, 2014), en la que se ha observado que la vacunación de reproductores con esta vacuna, redujo el número de tipos de secuencia de *E. coli* aislados de reproductores enfermos en la parvada vacunada en comparación con el grupo control de aves no vacunadas, lo que indica el potencial de la vacuna de subunidades para reducir la prevalencia de determinados clones de APEC (Gregersen *et al.*, 2010).

Por otra parte, la vacuna comercial Poulvac® *E. coli* (Zoetis, Florham Park, NJ), es una vacuna viva atenuada que contiene una cepa de *E. coli* modificada genéticamente (GMO o mutante) mediante la supresión del gen *aroA* responsable de la biosíntesis de los aminoácidos en la cepa madre virulenta de *E. coli* (El mutante se denomina *aroA*- PTA-5094) (Rawiwet y Chansiripornchai, 2009). El mutante *aroA*, proviene de una cepa del serotipo O78:K80 y ST23, pero la protección no se limita a este serotipo y tipo de secuencia específicos (La Ragione *et al.*, 2013). Asimismo, atenúa la virulencia de la cepa y da lugar a una necesidad de aminoácidos aromáticos, lo que conduce a una menor supervivencia de la cepa en el pollo y en el medio ambiente (EMA, 2012). Estudios realizados por Filho *et al.* (2013), La Ragione *et al.* (2013) y Sadeyen *et al.* (2015) han reportado que la vacunación en aves de un día de vida con Poulvac® *E. coli* puede protegerlas contra el desafío de serotipos homólogos y heterólogos de *E. coli*. Asimismo, puede administrarse a pollitos en la planta de incubación por pulverización, siendo compatible con las vacunas anticoccidiales y de Newcastle/ Bronquitis. De igual modo, su eficacia no es afectada por las vacunas vivas de *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium*, de igual modo, estas vacunas no son afectadas por la vacuna viva de *E. coli* (Valls, 2020).

La tercera vacuna disponible comercialmente es una vacuna viva mutante llamada Nisseiken Avian Colibacillosis Vaccine CBL (Nisseiken Co., Ltd., Tokio, Japón). Esta consta de 10^7 - 10^9 unidades formadoras de colonias/dosis de la cepa AESN1331 O78 cepa APEC, que tiene un gen *crp* suprimido (Swelum *et al.*, 2021). Un estudio por Abd El-Mawgoud *et al.* (2020) registró la eficacia de esta vacuna contra el desafío APEC homólogo (O78); pero ineficaz para el heterólogo (O125).

A pesar de los avances en el desarrollo de diferentes vacunas contra la colibacilosis aviar, la principal limitación radica en la falta de protección contra infecciones APEC heterólogas, es decir, no ser capaces de brindar protección cruzada contra múltiples serotipos (Swelum *et al.*, 2021). De esta manera, la identificación de mecanismos comunes/conservados de virulencia y patogénesis empleados por diversos serotipos APEC para causar enfermedad en pollos facilitaría el desarrollo de nuevas vacunas de amplio espectro (Kathayat *et al.*, 2021).

2.7 Tratamiento

Los antimicrobianos se utilizan en el tratamiento del brote de una enfermedad cuando las medidas de bioseguridad y manejo resultan insuficientes para controlarla, por lo que es necesario la administración de los fármacos adecuados para mejorar la salud de las aves y mitigar las repercusiones económicas asociadas a la enfermedad (Dheilly *et al.*, 2011).

Se han documentado informes sobre la susceptibilidad de diferentes cepas de *E. coli* a penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, colistina, sulfamidas, trimetoprim y quinolonas (Blanco *et al.*, 2002; Barnes *et al.*, 2003). Las opciones terapéuticas para tratar las infecciones por *E. coli* en pollos y pavos pueden ser agrupadas en primera, segunda y última opción, en función de su importancia en la medicina humana, según lo establece la Dirección de Medicamentos Veterinarios (Lohren *et al.*, 2008; Agunos *et al.*, 2012). Sin embargo, es crucial emplear las dosis terapéuticas recomendadas según el fármaco, ya que el uso de tratamientos subdosificados conllevan un mayor riesgo de desarrollo de cepas resistentes. (Johnson *et al.*, 2004).

Los fármacos típicos de primera elección incluyen sulfas potenciadas (p. ej., ormetoprima-sulfadimetoxina, trimetoprima-sulfadiazina). Los fármacos de segunda elección son las aminopenicilinas (p. ej., ampicilina, amoxicilina), las tetraciclinas (p. ej., clortetraciclina y oxitetraciclina), la colistina y los aminoglucósidos (p. ej., neomicina, gentamicina y espectinomicina). El tercer o último fármaco de elección es la enrofloxacin, cuyo uso se recomienda únicamente cuando todas las demás opciones han fracasado (Lohren *et al.*, 2008; Agunos *et al.*, 2012).

2.7.1 Tetraciclinas

Las tetraciclinas son una de las familias de antibióticos más antigua que fue descubierta en la década de 1940, conformadas por un grupo de antibióticos derivados de diferentes especies de *Streptomyces spp.* (Vicente y Pérez, 2010; Sumano y Gutiérrez, 2010), siendo la clortetraciclina y la oxitetraciclina las primeras en ser conocidas a finales de la década (Chopra y Roberts, 2001).

Las moléculas de tetraciclina poseen un núcleo lineal de estructura tetracíclica fusionada (anillos designados como A, B, C y D) al que se unen una variedad de grupos funcionales. La figura 1 ilustra la tetraciclina más sencilla que muestra una actividad antibacteriana detectable, la 6-deoxi-6-desmetiltetraciclina, a esta estructura se la podría considerar como el grupo farmacóforo.

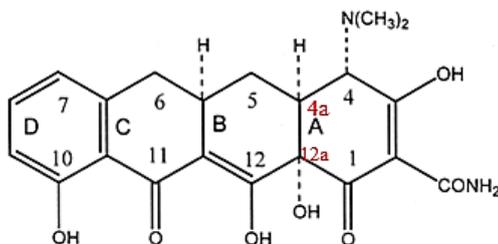


Figura 1. Estructura de 6- desoxi- 6- desmetiltetraciclina.
Grupo farmacóforo de tetraciclina.

Fuente: Adaptado de Chopra y Roberts (2001)

De acuerdo con el orden de descubrimiento, las propiedades farmacocinéticas y el espectro de actividad antimicrobiana, las tetraciclinas pueden dividirse en 3 grupos o generaciones (Vicente y Pérez, 2010):

- Primera generación: La constituyen los agentes más antiguos, además, son los menos lipofílicos y los de deficiente absorción. Aquí se incluyen tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina, demeclociclina, limeciclina, metaciclina y rolitetraciclina, las cuales pueden administrarse por vía oral, a excepción de la rolitetraciclina.
- Segunda generación: Presentan una mejor absorción y son de 3 a 5 veces más lipofílicos que los componentes del grupo anterior. En este grupo se incluyen doxiciclina y minociclina, las cuales pueden administrarse por vía oral y también por vía intravenosa.

- Tercera generación: las glicilciclinas, análogos semisintéticos obtenidos tras modificar la posición 9 del anillo tetracíclico de los compuestos de las generaciones anteriores. Además, se incluyen nuevos compuestos en desarrollo, como las aminometilciclinas, de cuyo grupo ya ha pasado a experimentación humana la PTK 0796 para administración oral e intravenosa en una sola dosis diaria.

Por otra parte, las tetraciclinas difieren en su comportamiento farmacocinético, de este modo, Sánchez *et al.* (2004) agrupa a las tetraciclinas en tres categorías, dependiendo de su vida media plasmática: 1) las de vida media corta (6-8 h), como clortetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina; 2) las de vida media intermedia (12-14h), como demeclociclina y metaciclina; y 3) las de vida media larga (16-18 h), como doxiciclina, minociclina y limeciclina.

2.7.2 Doxiciclina

La doxiciclina es una tetraciclina semisintética, de segunda generación, con una mayor biodisponibilidad oral y penetración tisular debido a una mejor lipofilia en comparación con las primeras tetraciclinas (Kogawa y Nunes, 2012). Tiene un peso molecular de 512.9, y la siguiente fórmula molecular: $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ (Cristina *et al.*, 2010; Eisen, 2018). Además, es liposoluble, anfótero básico con un valor de $pK_a = 9.5$ y principalmente con actividad bacteriostática (Sumano y Gutiérrez, 2010). En su forma farmacéutica, se describe como polvo cristalino amarillo higroscópico, el cual se recomienda almacenarse en recipientes herméticos y protegerlo de la luz (Kogawa y Nunes, 2012).

Se presenta en tres formas: hiclato, monohidrato y clorhidrato, siendo la primera su forma estructural, de ahí que es posible obtener las otras formas (Kogawa y Nunes, 2012). Como doxiciclina hiclato (alfa-6-desoxi-5-hidroxitetraciclina) (Figura 2) es más soluble, más potente, con una larga duración y menor inactivación por iones bi y trivalentes que otras tetraciclinas (Sumano y Gutiérrez, 2010).

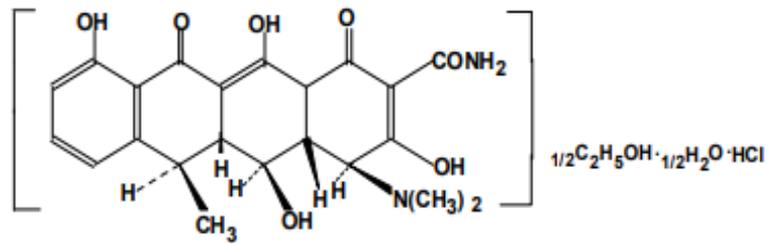


Figura 2. Fórmula estructural del hiclato de Doxiciclina.

Fuente: Cristina *et al.* (2010)

Tiene actividad contra una amplia gama de bacterias Gram-positivas, Gram negativas, así como contra algunos protozoos (Holmes y Charles, 2009). En aves comerciales, se emplea con frecuencia en el tratamiento de enfermedades infecciosas como la colibacilosis, la salmonelosis, la estafilococosis, la micoplasmosis y la clamidiosis (Gutiérrez *et al.*, 2017), para lo cual la concentración mínima inhibitoria (CMI) crítica deberá ser de 3 a 6 µg/mL, y, por consiguiente, pueda apreciarse su efecto bacteriostático (Sumano y Gutiérrez, 2010).

2.7.2.1 Recomendaciones de uso de doxiciclina en pollos de engorde

De acuerdo con la Agencia Europea del Medicamento (EMA), la doxiciclina se utiliza en el tratamiento de las infecciones de las vías respiratorias y del tracto digestivo causadas por microorganismos sensibles al fármaco. Su uso en pollos de engorde, está recomendado para el control de infecciones de las vías respiratorias causadas por *Mycoplasma spp.*, *Escherichia coli*, *Haemophilus paragallinarum* y *Bordetella avium*; así como para la enteritis causada por *Clostridium perfringens* y *Clostridium colinum* (EMA, s.f.).

En pollos de engorde, la dosis promedio de doxiciclina, en su forma de hiclato, que se recomienda usar es a partir de 300 ppm en el alimento y a razón de 10 - 20 mg/kg de peso vivo en el agua de bebida, solamente por vía oral y a una dosis diaria, con un tiempo de administración recomendado de 4 a 5 días en el agua de bebida, mientras que en el alimento de 5 a 8 días (Sumano y Gutiérrez, 2010; EMA, 2015). No obstante, en el estudio realizado por Ismail y El-Kattan (2004), se reportó que al administrar dos dosis diarias de 20 mg/kg de peso vivo se obtiene una concentración plasmática terapéutica eficaz.

Investigaciones sobre residuos tisulares han comprobado que, luego de la administración oral, la doxiciclina puede detectarse en los tejidos de los pollos hasta cinco días después, y que las concentraciones residuales dependerán de la dosis aplicada (Gagda *et al.*, 2014; Mestorino, *et al.*, 2018). Por lo tanto, de acuerdo a la investigación realizada por Atef *et al.* (2002), se recomienda un tiempo de retiro de 7 días en pollos de engorde, con el fin de alcanzar los niveles de Residuo Máximo Tolerable (MRL) establecidos por la Comunidad Europea, los cuales son de 600 ng/g para los riñones, 100 ng/g para el músculo y 300 ng/g para la piel más grasa e hígado (EMA, 2015). De igual modo, según el estudio de Mestorino, *et al.* (2018), se determinó que la concentración de doxiciclina en músculo, hígado, riñón y piel/tejidos grasos; por lo general, cae por debajo del MRL a los 7 días después de terminar la administración oral del fármaco en pollos de engorde.

No obstante, la vía de administración de doxiciclina puede influir en sus niveles de residuos en pollos de engorde, lo cual fue validado por El-Gendi *et al.* (2010), quienes encontraron que después de la administración intramuscular, se observó un período de retiro más prolongado (9 días) y la concentración más alta se detectó en el músculo del muslo, lo que confirmó una menor absorción del fármaco usando la vía intramuscular.

2.7.2.2 Farmacodinamia

La actividad de la doxiciclina y otras tetraciclinas, por lo general, siguen un patrón farmacodinámico dependiente del tiempo, en el que la eficacia depende del tiempo en que la concentración tisular del antibiótico es igual o superior a la concentración mínima inhibitoria (CMI) durante el mayor tiempo posible entre los intervalos de administración del fármaco. (Gutiérrez *et al.*, 2017). En el caso de la doxiciclina, esto es válido para concentraciones bajas, ya que a altas concentraciones su actividad es dependiente de la concentración (Vicente y Pérez, 2010).

El mecanismo de acción de la doxiciclina, en las aves de corral, se basa en la mínima quelación de iones intracelulares, inhibición de sistemas enzimáticos y supresión de la síntesis proteica (Sumano y Gutiérrez, 2010). En primer lugar, atraviesa directamente la capa bilipídica de la pared bacteriana, al inhibir la síntesis de proteínas en organismos sensibles (Cristina *et al.*, 2010). A continuación, la atraviesa a través de porinas por medio de difusión pasiva, llegando al citoplasma gracias a un mecanismo dependiente de energía (Vicente y Pérez, 2010).

Este mecanismo de transporte es propio de la doxiciclina debido a su liposolubilidad, lo cual la hace más potente y con menor tendencia a generar resistencia (Mestorino, 2009). Una vez que llega a la célula bacteriana, la doxiciclina se acopla a la unidad ribosomal 30S y 50S inhibiendo el complejo bacteriano llamado tARN-aminoacil-mARN-ribosomal, que está implicado en la fase de traducción, e impidiendo que los aminoácidos se adhieran a los extremos de las cadenas peptídicas (EMA, s.f.).

2.7.2.3 Farmacocinética

La farmacocinética es el estudio de las leyes que median la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos (Sumano y Gutiérrez, 2010). En el caso de la doxiciclina, posee propiedades farmacocinéticas superiores que las tetraciclinas más antiguas, debido a una mejor absorción, mayor solubilidad lipídica, mejor distribución y penetración tisular, vida media de eliminación más prolongada y baja afinidad por el calcio (Hantash *et al.*, 2008).

A) Absorción

La doxiciclina cuando es administrada por vía oral se absorbe rápidamente y cuando se secreta al lumen intestinal vía secreciones intestinales (equivalente al 15% del peso del ave), su ciclo enterohepático es muy bajo, de esta manera limita la cantidad de doxiciclina que alcanza la circulación sistémica o biodisponibilidad, asegurando concentraciones importantes en el tracto gastrointestinal de forma rápida (Ismail y El-Kattan, 2004; Sumano y Gutiérrez, 2010). Asimismo, se reporta una mayor unión a proteínas plasmáticas, que contribuye a mantener la concentración plasmática durante largos periodos de tiempo requiriendo dosis menos frecuentes que otras tetraciclinas (Mestorino *et al.*, 2018).

La biodisponibilidad (F) se define como la velocidad y el grado de absorción de un principio activo. En las aves de corral, la biodisponibilidad de las tetraciclinas ha sido reportada como muy baja, debido a que los iones bivalentes del alimento reaccionan por quelación con estos medicamentos y no logran absorberse, a excepción de la doxiciclina y minociclina que sufren menor quelación (Sumano y Gutiérrez, 2010).

En un estudio realizado por Gutiérrez *et al.*, (2017), han reportado una biodisponibilidad del 13%, con una concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) de 2.7 $\mu\text{g/ml}$ y el tiempo para alcanzar la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) de 1.7 h tras la administración oral de doxiciclina 20% con una dosis de 400 g/T alimento tras el primer día de administración, mientras que, al quinto día, se reportó una biodisponibilidad del 23%, con una concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y tiempo para alcanzar la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) de 2.4 $\mu\text{g/ml}$ y 1h respectivamente. Asimismo, El-Gendi *et al.* (2010) reporto una biodisponibilidad (%) de 22.41 ± 3.86 , tras una dosis única de doxiciclina (20 mg/kg peso corporal) por vía intravenosa.

Por otro lado, Yang *et al.*, (2018) mencionan que la administración oral de doxiciclina en múltiples dosis registra tasas de absorción más lentas que la administración oral del antibiótico en una sola dosis. Asimismo, reportaron valores de concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), vida media de eliminación ($T_{1/2 \beta}$) y tiempo alcanzar la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) de 5,65 $\mu\text{g/ml}$, 7,78 h y 3,50 h, respectivamente, tras la administración oral de la primera dosis de doxiciclina a una dosis de 20 mg/kg de peso vivo en pollos, mientras que, después del quinto día de administración, reportaron valores de $C_{m\acute{a}x}$, vida media de eliminación ($T_{1/2 \beta}$) y tiempo alcanzar la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) de 5.71 $\mu\text{g/ml}$, 19.90 h y 7.25 h, respectivamente.

B) Distribución

La doxiciclina posee una mayor penetración y distribución tisular, en comparación a otras tetraciclinas, debido a que tiene mayor lipofilia, siendo entre 5-10 veces mayor que la oxitetraciclina y clortetraciclina (Hantash *et al.*, 2008; Kogawa y Nunes, 2012; Mileva y Milanova, 2020). Por lo tanto, la distribución tisular de la doxiciclina es mejor que la de otras tetraciclinas (incluso en el interior de las células) y el volumen de distribución es mayor (Mileva y Milanova, 2020). Esta distribuye ampliamente en el cuerpo con niveles más altos en los riñones, hígado, en los huesos y la dentina en bovinos, porcinos, aves de corral, pavos, perros y gatos, asimismo, en la piel se pueden encontrar altos residuos del fármaco, puesto que la polaridad de la doxiciclina no es detectable en gran medida en la grasa (EMA, 1997).

En pollos de engorde, se ha encontrado altas concentraciones residuales del fármaco en el riñón, hígado, pulmón y músculo (en ese orden), después de un régimen de dosificación de 20 mg/kg peso vivo por cuatro días (Ismail y El-Kattan, 2004). Por el contrario, en el estudio realizado por Hsiao *et al.* (2016), de farmacocinética y eliminación tisular de doxiciclina administrada a una dosis alta a través del agua de bebida (40 mg/kg peso vivo) en pollos de engorde, reportaron que la concentración de doxiciclina fue más alta en el corazón, seguida de la molleja, los riñones, el hígado, el músculo de la pata y el músculo de la pechuga al tercer día de administración.

La vía de administración del fármaco desempeña un papel importante en la distribución de los antibióticos a los tejidos, siendo la distribución más lenta por administración oral de doxiciclina a pollos de engorde, que por dosificación intravenosa (Laczay *et al.*, 2001). Asimismo, Ismail y El-Kattan (2004) han sugerido que el volumen de distribución del fármaco se ve incrementado en los pollos enfermos en comparación a los sanos, lo cual atribuyen a una mayor capacidad de penetración de las membranas celulares, evidenciándose en un mayor valor de K_{12}/K_{21} en las aves enfermas, que podría deberse a la menor capacidad del fármaco para unirse a proteínas séricas en aves enfermas.

C) Metabolismo y excreción

Muchos de los fármacos que se administran en aves sufren un proceso de cambio llamado biotransformación, el cual se refiere a la modificación de una sustancia liposoluble a hidrosoluble para facilitar su excreción (Sumano y Gutiérrez, 2010). En el caso de las tetraciclinas, la biotransformación parece ser limitada en la mayoría de los animales domésticos y, por lo general, alrededor de un tercio de la dosis dada se excreta sin cambios. Sin embargo, la doxiciclina, al igual que la minociclina, puede biotransformarse más extensamente que otras tetraciclinas, logrando metabolizarse hasta en un 40%. (Mercer, 2022). Por otro lado, la eliminación de la doxiciclina se da a través de las secreciones intestinales y las heces, principalmente en una forma microbiológicamente inactiva; mientras que, una mínima parte de la dosis administrada se elimina con la orina (Sumano y Gutiérrez, 2010; Mileva y Milanova, 2020).

La doxiciclina se elimina de manera más lenta tras la administración oral en pollos de engorde, validado en el estudio realizado por Hantash *et al.* (2008), en donde se evaluó la farmacocinética y bioequivalencia de dos productos comerciales de doxiciclina: Providox® (200 mg/g) y Doxyvet 0-50 S® (500 mg/g), reportándose vidas medias de eliminación largas (13,93 h + 0,84 y 10,06 h + 1,27 h, respectivamente), tras una sola dosis oral (20 mg/kg de peso corporal) en pollos de engorde. De manera similar, el estudio llevado a cabo por Yang *et al.* (2018), que tuvo como objetivo examinar la farmacocinética de la doxiciclina en pollos de engorde después de la administración oral, reportaron una vida media de eliminación larga (19.90 ± 8.46 h) después del quinto día de administración con una dosis 20 mg/kg peso vivo.

2.7.2.4 Interacción con otros fármacos

Las tetraciclinas son incompatibles con iones bi y trivalentes como Mg, Al, Fe y Ca, para lo cual se recomienda usar acidificantes en el alimento para promover la absorción de la oxitetraciclina o clortetraciclina, no obstante, este efecto es mucho menos marcado con doxiciclina (Sumano y Gutiérrez, 2010). Asimismo, la Comunidad Europea (CE) menciona que las tetraciclinas pueden quelar cationes (p. ej. Mg, Mn, Fe y Al), lo que podría reducir su biodisponibilidad (EMA, s.f.). De igual modo, el tratamiento con tetraciclinas es incompatible con la administración de antibióticos β -lactámicos y cloranfenicol, además, administrar simultáneamente tetraciclinas con corticosteroides puede conllevar una elevación anormal de compuestos nitrogenados en la sangre (azoemia) por un aumento del catabolismo, lo cual puede dar lugar a la pérdida de peso, sobre todo en animales débiles (Lemos, 2013).

Por otro lado, son compatibles en forma dinámica con fármacos como sulfonamidas, tilosina y tiamulina. Se menciona que la combinación de tetraciclinas con tilosina o tiamulina resulta sinérgica y eficaz en el tratamiento contra *Pasteurella sp.* y en general bacterias y micoplasmas de pollos (Sumano y Gutiérrez, 2010). Asimismo, hay combinaciones mixtas de tetraciclinas y aminoglucósidos que han demostrado tener una buena sinergia (Lorenzo, 2017). En el caso de la doxiciclina, ha demostrado ser sinérgica con clindamicina para el control de la enfermedad crónica complicada de las aves (Paredes, 2010).

2.7.2.5 Reacciones adversas y toxicidad

La doxiciclina, debido a su mayor lipofilia, puede causar alteraciones digestivas como frecuentes cuadros diarreicos, en muchos animales (Lemos, 2013). Asimismo, su uso está contraindicado en hembras gestantes y durante el período reproductor en las aves y en animales con insuficiencia hepática o renal graves (Lemos, 2013; EMA, s.f.).

En las aves, se ha demostrado que las tetraciclinas tienen un efecto ligeramente inmunodepresor si se dan de manera continua, pero bajo las condiciones de campo, el beneficio de añadir tetraciclinas al alimento supera el efecto inmunosupresor, como se detalla en las indicaciones de uso (Sumano y Gutiérrez, 2010).

2.8 Resistencia bacteriana

Los agentes antimicrobianos tienen una importancia crítica en la prevención y el tratamiento de enfermedades en la producción avícola, sin embargo, su uso excesivo e incorrecto ha acelerado significativamente la aparición y propagación de microorganismos resistentes a los antimicrobianos, lo cual representa una amenaza considerable para la salud humana y la salud animal (OIE, 2016; Badiola, 2017; Cervantes, 2018). Asimismo, la subdosificación de un antibiótico puede dar lugar a una eficacia clínica deficiente, a menudo interpretada erróneamente como falta de eficacia debido a la resistencia bacteriana (Johnson *et al.*, 2004; Sumano y Gutiérrez, 2010).

La tendencia más moderna, para el uso de antimicrobianos en la industria avícola, se inclina principalmente a utilizarlos con fines terapéuticos, es decir para controlar el brote de una enfermedad en particular (Sumano y Gutiérrez, 2010; Cervantes, 2018). Asimismo, sólo se deben prescribir para tratar infecciones causadas por bacterias y cuando esas bacterias sean susceptibles al antibiótico específico, que implica el diagnóstico preciso del proceso infeccioso y la confirmación de la sensibilidad de las bacterias involucradas. De igual manera, se debe implementar un “programa de rotación de antibióticos” con el objetivo de mantener la eficacia a largo plazo, ya que esto reduce la presión selectiva que conduce al aumento de la resistencia (Badiola, 2017).

III. METODOLOGÍA

3.1 Lugar y duración del experimento

El presente estudio fue llevado a cabo en el Galpón Experimental de Aves del Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM), ubicado en el distrito de San Borja, Lima-Perú. El estudio tuvo una duración de 24 días, correspondientes a la crianza de pollos de engorde, inoculación de la cepa de *E. coli*, administración del antibiótico, y necropsia programada a los 5 días post tratamiento.

3.2 Material biológico

- **Animales**

Se utilizaron 384 pollos machos de un día de edad de la línea Cobb Vantress 500, provenientes de un mismo lote de reproductoras, distribuidos en 4 tratamientos de 6 repeticiones con 16 pollos por repetición.

- **Bacteria**

La cepa de *E. coli* empleada provino de un aislamiento de un caso clínico de campo en pollos de engorde compatible con colisepticemia, la cual fue identificada utilizando una herramienta de diagnóstico conocida como Enteropluri-test®, la cual es fabricada por la compañía italiana Liofilchem, especializada en productos microbiológicos.

El proceso de identificación con el Enteropluri-test®, consistió en inocular la cepa en un minipanel de identificación con 12 sectores que contienen medios de cultivo diferenciales para identificar Enterobacteriaceae y otras bacterias gramnegativas, oxidasas negativas aisladas de un agar de cultivo (Anexo 3). De este modo, ocurre la inoculación simultánea de todos los medios presentes en los sectores y 15 reacciones bioquímicas, en el cual la cepa es identificada evaluando el cambio de color de cada medio de cultivo después de 18-24 horas de incubación a $36\pm 1^\circ\text{C}$ (Enteropluri-test, 2018; Enteropluri-test, s.f.)

Mediante el código numérico de 5 cifras obtenido con la ayuda del Manual de Códigos para la interpretación de resultados, suministrado por la compañía, se determinó que la cepa utilizada en el estudio se trataba de una *Escherichia coli* (código 54350).

3.3 Instalaciones

La crianza de las aves se llevó a cabo en un galpón abierto sobre piso de cemento con cama de viruta de madera de primer uso hasta los 24 días. Cada unidad experimental fue alojada en corrales divididos con malla de plástico, que incluyeron bebederos semi-automáticos tipo campana y comederos con tolva de acero inoxidable. La temperatura y la humedad durante todo el período de crianza correspondieron a las recomendaciones hechas por la casa genética Cobb-Vantress (Cobb-Vantress, 2018a) y fueron registradas diariamente.

3.4 Materiales y Equipos

Para la crianza, se utilizaron campanas a gas para pollitos BB, nordéx plásticos para división de las unidades experimentales, cortina para galpón de crianza avícola, viruta de madera, bebederos y comederos tipo tolva, bebederos tipo Plasson semi-automático (Anexo 4), desinfectante a base de glutaraldehído y amonio cuaternario, termohigrómetros digitales, balanza digital con capacidad máxima de 30 kg, hojas de registro, materiales de escritorio y materiales de limpieza.

Por otra parte, para la preparación del inóculo, se utilizaron caldo infusión cerebro corazón, agares McConkey y TSA, solución PBS, placas Petri, asa de Kolle, frascos de vidrio con tapa de 250 ml, pipetas Pasteur, tubos de prueba (plástico y de vidrio), vórtex, incubadora y centrífuga de laboratorio.

3.5 Preparación del galpón experimental

Previo a iniciar la crianza, se realizó la eliminación de polvo y se procedió con el lavado, con agua y detergente del interior del galpón, así como de los bebederos y comederos, con el fin de remover las impurezas.

La adecuación de los corrales se realizó considerando la densidad recomendada por la casa genética Cobb Vantress (Cobb-Vantress, 2018b) de 30 kg/m², en galpones simples sin ventilación automatizada, para lo cual se tomó una longitud de 1.50 metros, 1.50 metros de ancho y una altura de 70 centímetros por corral. Para la colocación de la cama, se utilizó viruta de madera de primer uso, tomando como referencia la altura del dedo índice para el espesor de la misma (Anexo 4). Además, se implementó un sistema de microclima utilizando clavos, alambres y costales que se colocaron en el techo, tanto en el interior como en el exterior del galpón, formando una doble capa, con el fin de mantener una temperatura óptima. Este microclima se retiraba gradualmente a medida que la edad de los pollos aumentaba.

Una vez completada la instalación, se llevó a cabo la desinfección completa de los corrales, bebederos, comederos y del entorno del galpón días antes de recibir a los pollitos de un día de edad. Para ello, se utilizó una mochila fumigadora y desinfectante a base de glutaraldehído y amonio cuaternario con una dosis de 4 ml por litro de agua.

3.6 Producto a evaluar

Se evaluó la eficacia terapéutica del producto comercial Doxil 50 (Ilender Perú S.A.) a base de doxiciclina hiclato en su dosis mínima y máxima, a razón de 300 gramos y 600 gramos por tonelada de alimento, respectivamente, (150 y 300 ppm p.a.) según especificaciones técnicas de uso en aves comerciales para el tratamiento contra *E. coli* (Véase en el Anexo 1). El producto fue administrado durante el período máximo permitido de 5 días, entre los 19 hasta los 23 días de edad.

3.7 Alimentación

Durante todo el período experimental se suministró un alimento estándar comercial a base de soya y maíz para la fase nutricional de inicio. Las dietas experimentales fueron formuladas tomando en consideración las especificaciones nutricionales indicadas en el manual de la línea Cobb 500 (Cobb-Vantress, 2018b). Durante el periodo de administración del antibiótico, el producto fue incluido en la dieta a expensas del contenido de maíz, tal como se presenta en el Cuadro 1. El alimento y agua de bebida fueron suministrados *ad libitum* de acuerdo con los requerimientos nutricionales según edad y manejo de las aves.

Cuadro 1. Composición porcentual de ingredientes y contenido nutricional de las dietas experimentales para etapa inicio en pollos de engorde.

| Ingredientes (%) | T1 - T2 | T3 | T4 |
|---------------------------------|----------------|---------------|---------------|
| Maíz | 58.219 | 58.159 | 58.189 |
| Torta de soya | 34.114 | 34.114 | 34.114 |
| Aceite crudo de soya | 3.453 | 3.453 | 3.453 |
| Fosfato dicálcico | 1.711 | 1.711 | 1.711 |
| Carbonato de calcio | 0.883 | 0.883 | 0.883 |
| Sal común | 0.341 | 0.341 | 0.341 |
| DL-Metionina | 0.296 | 0.296 | 0.296 |
| Lisina-HCl | 0.213 | 0.213 | 0.213 |
| Bicarbonato de sodio | 0.180 | 0.180 | 0.180 |
| Premezcla Vitaminas-Minerales | 0.100 | 0.100 | 0.100 |
| 1Cloruro de colina 60 | 0.100 | 0.100 | 0.100 |
| Secuestrante de Micotoxinas | 0.250 | 0.250 | 0.250 |
| Antioxidante | 0.020 | 0.020 | 0.020 |
| L-Treonina | 0.120 | 0.120 | 0.120 |
| Doxil 50 PS | - | 0.060 | 0.030 |
| TOTAL | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| Valor nutricional (%) | | | |
| Lisina dig. | 1.220 | 1.220 | 1.220 |
| Metionina dig. | 0.605 | 0.605 | 0.605 |
| Met + Cis dig. | 0.910 | 0.910 | 0.910 |
| Treonina dig. | 0.830 | 0.830 | 0.830 |
| Triptófano dig. | 0.223 | 0.223 | 0.223 |
| Valina dig. | 0.906 | 0.906 | 0.906 |
| Energía metabolizable (Kcal/Kg) | 2,975.000 | 2,975.000 | 2,975.000 |
| Proteína cruda | 21.500 | 21.500 | 21.500 |
| Extracto Etéreo | 6.124 | 6.124 | 6.124 |
| Ca | 0.900 | 0.900 | 0.900 |
| Na | 0.200 | 0.200 | 0.200 |
| P disp. | 0.450 | 0.450 | 0.450 |

* Contenido por Kg de producto: Vit. A: 12 000 000 UI; Vit. D3: 5 000 000 UI; Vit. E: 30 000 UI; Vit. K3: 3 g; Tiamina: 2 g; Riboflavina: 10 g; Piridoxina: 3 g; Vit. B12: 0.015 g; Ácido fólico: 2 g; Niacina: 30 g; Ácido pantoténico: 11 g; Biotina: 0.15 g; Zinc: 80 g; Hierro: 50 g; Manganeso: 80 g; Cobre: 12 g; Yodo: 1 g; Selenio: 0.30.

3.8 Tratamientos

- **T1:** Control negativo; no desafiadas con *E. coli*, no tratadas con antibiótico en el alimento.
- **T2:** Control positivo; desafiadas con *E. coli* a los 18 días de edad, no tratadas con antibiótico en el alimento.
- **T3:** Desafiados con *E. coli* a los 18 días de edad, tratadas con dosis máxima de doxiciclina (600 g/TM alimento).
- **T4:** Desafiados con *E. coli* a los 18 días de edad, tratadas con dosis mínima de doxiciclina (300 g/TM alimento).

3.9 Preparación del inóculo de *Escherichia coli*

Para preparar los inóculos de *E. coli*, un asa del cultivo madre, previamente descongelado, se sembró en placas de agar McConkey, como medio de cultivo diferencial, y en agar TSA (Agar Tripticasa de Soya), como medio de cultivo nutritivo, y fueron incubados a 37 °C durante 24 horas. El propósito de sembrar la bacteria en un medio de cultivo diferencial y nutritivo simultáneamente, fue la confirmación de las características de una *E. coli*, mediante el agar McConkey, y el aislamiento de la colonia, usando el agar TSA, como parte del protocolo del Laboratorio de Patología aviar.

En el día del desafío, a las 6:00 a.m., se inoculó un asa de las colonias de *E. coli* del agar TSA en tubos de prueba con caldo BHI (infusión cerebro corazón) y se incubó a 37 °C durante 4 horas para su crecimiento. Una vez retirado los tubos de la incubadora, estos fueron centrifugados a una velocidad de 3500 xg durante 15 minutos, con el fin de obtener una suspensión bacteriana. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante a cada tubo, se extrajo la suspensión, con ayuda de la pipeta Pasteur, y fueron transferidas a tubos estériles con 40 ml de solución PBS (solución salina tamponada con fosfato). Se homogenizó adecuadamente la mezcla de cada tubo, con ayuda del vórtex y finalmente se transfirieron a un frasco de vidrio, alcanzando un volumen total de 240 ml.

La concentración de la suspensión bacteriana fue calculada mediante el sistema de recuento en placa por siembra en profundidad (Ramírez *et al.*, s.f.). Las muestras para el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) fueron tomadas de las diluciones 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9} , utilizándose como referencia la Escala 5 de McFarland (1907), cuyo principio se basa en la comparación visual de la turbidez de los tubos de una suspensión bacteriana con tubos patrones de sulfato de bario, que poseen características similares. Finalmente, mediante el recuento microscópico, se determinó una concentración final de *E. coli* de 2.1×10^9 UFC /ml.

3.10 Desafío biológico con *Escherichia coli*

La edad de los pollos y la dosis de infección son factores importantes a tener en cuenta cuando se busca reproducir exitosamente una enfermedad (Antão *et al.*, 2008). Numerosos diseños experimentales de desafíos biológicos con cepas de *E. coli* patógena fueron llevados a cabo con éxito en pollos de tres semanas de edad, con una ruta de infección a través del saco aéreo y, generalmente, administrando una dosis de entre 10^6 y 10^8 de bacterias por mililitro (Kariyawasam *et al.*, 2002; Mellata *et al.*, 2003; Lamarche *et al.*, 2005; Chouikha *et al.*, 2006).

Por lo tanto, el desafío de las aves de los tratamientos T2, T3 y T4 se llevó a cabo a los 18 días de edad. Para ello, se administraron 0.2 ml de una concentración de *E. coli* de 2.1×10^9 UFC /ml en cada ave, a través del saco aéreo torácico posterior izquierdo como vía de infección, de acuerdo con una adaptación al modelo sugerido por Fernández *et al.* (2002).

Durante la aplicación del inóculo, las aves se mantuvieron recostadas lateralmente con las alas y patas extendidas, tomando como referencia anatómica las dos últimas costillas palpables en el flanco izquierdo, siendo el inóculo introducido a través de una aguja calibre 25 con un tope de goma fijado a 5 mm desde la punta (Anexo 5).

3.11 Protocolo para sacrificio de aves y evaluación de lesiones macroscópicas en órganos

Se realizó una necropsia programada en las aves sobrevivientes a los 5 días post desafío (24 días) para evaluar la severidad de lesiones macroscópicas en órganos infectados (corazón, hígado y sacos aéreos) para lo cual se consideró el siguiente procedimiento:

- Sacrificio de las aves mediante la técnica de dislocación cervical, método físico aprobado y descrito en la Guía de la American Veterinary Medical Association (AVMA) para la Eutanasia de los Animales (Underwood *et al.*, 2013).
- Colocación del ave sacrificada en decúbito supino y dislocación de la cabeza del fémur de ambas patas para facilitar la evaluación in situ de los órganos toraco-abdominales del animal.
- Apertura de la cavidad celómica; se realizó un corte con la tijera en la zona debajo de la pechuga y luego dos pequeños cortes laterales hasta llegar a las costillas, cortándolas en dirección craneal y separándolas de la clavícula y coracoides para exponer los órganos de la cavidad celómica.
- Evaluación “in situ” de lesiones macroscópicas en corazón, hígado y sacos aéreos de cada ave y su registro en el formato de evaluación.

3.12 Aislamiento de la cepa *E. coli*

Para la recuperación de la cepa infectiva de *Escherichia coli*, se tomará 1 ave por repetición en cada grupo experimental, con las lesiones más representativas de la infección, el día de la necropsia programada (día 24). En el caso del grupo control no desafiado no tratado, se tomará igual un ave al azar para descartar contaminación cruzada por *E. coli*. Para la toma de muestras se empleará torundas estériles aplicadas directamente a los órganos lesionados (sacos aéreos, hígado y corazón) para luego ser cultivadas en agares McConkey y TSA, para su diferenciación y crecimiento, respectivamente (Anexo 15).

3.13 Mediciones

3.13.1 Rendimiento productivo

1. Peso vivo promedio

Se determinó registrando, semanalmente, el peso vivo de las aves de forma grupal en cada unidad de observación (repetición) perteneciente a cada tratamiento. El promedio se calculó dividiendo el peso del grupo entre el número de aves del grupo.

2. Ganancia de peso

La ganancia de peso se determinó por medio de la diferencia de los promedios de los pesos semanales, y la ganancia de peso acumulada de peso se obtuvo mediante la diferencia entre el peso registrado en la semana y el peso inicial (día de la recepción) en cada unidad de observación (repetición) perteneciente a cada tratamiento para ambos casos.

3. Consumo de alimento

El alimento se suministró de forma diaria, el cual fue pesado y registrado por cada unidad de observación (repetición) perteneciente a cada tratamiento, de igual manera, se registró el saldo de alimento de cada semana, con el fin de determinar el consumo de alimento semanal, el cual se obtuvo restando el saldo de alimento semanal a la cantidad total de alimento suministrado en la semana y posteriormente se calculó el consumo promedio por ave:

$$\text{Consumo de alimento (g/pollos/semana)} = \frac{\text{Consumo de alimento semanal (g)}}{\text{Número de pollos}}$$

El número de pollos fue ajustado por la mortalidad registrada en cada semana para cada repetición perteneciente a cada tratamiento.

4. Índice de conversión alimenticia

Este parámetro se delimita como la cantidad de alimento que consume el animal para obtener un kilogramo de peso vivo. El cálculo del índice de conversión alimenticia (I.C.A) se obtuvo mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{I. C. A. semanal} = \frac{\text{Consumo de alimento semanal (g)}}{\text{Ganancia de peso semanal (g)}}$$

$$\text{I. C. A. acumulado} = \frac{\text{Consumo de alimento acumulado (g)}}{\text{Ganancia de peso acumulado (g)}}$$

5. Mortalidad

La mortalidad se registró desde el primer día de alojamiento de las aves hasta el término del estudio, determinándose la causa de muerte a través de una necropsia y, de ser necesario, con pruebas de laboratorio complementarias. El porcentaje de mortalidad fue obtenido mediante la división del número de aves muertas entre el número de aves iniciales, multiplicado por cien. La mortalidad causada por efecto del desafío con la bacteria en las aves fue la comprendida desde las primeras 24 horas hasta los 5 días post infección con diagnóstico presuntivo a la necropsia por colibacilosis.

6. Índice de Eficiencia Productiva Europeo

El índice de Eficiencia Productiva Europeo (I.E.P.E.) evalúa el rendimiento del lote y se calculó en base a los parámetros anteriores:

$$\text{I. E. P. E} = \frac{\text{Peso vivo (Kg)} * \text{Viabilidad (\%)}}{\text{I. C. A. Acumulado} * \text{Edad (días)}}$$

Donde la viabilidad será: 100% del lote - % de mortalidad.

3.13.2 Grado de lesiones

El grado de severidad de las lesiones macroscópicas ha sido evaluado en diferentes estudios *in vivo* para demostrar la eficacia de un fármaco contra la infección inducida por una cepa de *E. coli* patógena, siendo principalmente las lesiones encontradas en corazón, hígado y sacos aéreos (Fernández *et al.*, 2002; Madian *et al.*, 2008; Akbar *et al.*, 2009; Peek *et al.*, 2013).

En el presente estudio, esta medición fue evaluada en las aves muertas post- inoculación y en las aves sobrevivientes para cada tratamiento, tomando como referencia una adaptación a la puntuación descrita por Madian *et al.* (2008), cuyo principio se basa en la observación de contenido fibrinoso en corazón e hígado y contenido de espuma y/o exudado en sacos aéreos (Anexo 7). Asimismo, esta puntuación fue evaluada por el M.V. Alonso Callupe, persona encargada de realizar las necropsias en el Laboratorio de Patología Aviar. De esta manera, los datos del estudio fueron presentados de manera objetiva, ya que el evaluador desconocía qué aves correspondían a cada tratamiento en el estudio.

El grado de lesiones fue clasificada de menor a mayor gravedad, de la siguiente manera:

a. Corazón

0 = No lesión.

1 = leve a moderado cantidad de fluido claro en cavidad pericárdica.

2 = excesiva cantidad de fluido claro y/u opacidad del pericardio.

3 = fluido opaco en cavidad pericárdica y /u opacidad del pericardio.

4 = material fibrinoso en cavidad pericárdica.

b. Hígado

0 = no lesión.

1 = leve presencia de fibrina.

2 = moderada presencia de fibrina en la superficie del hígado.

3 = fibrina extensa definida en la superficie del hígado.

4 = Excesiva presencia de fibrina (a veces con adhesiones e hinchazón del hígado).

c. Sacos aéreos

0 = no lesión.

1 = presencia leve de espuma en sacos aéreos.

2= presencia obvia de espuma espesa, sacos aéreos resbalosos al tacto.

3 = pudrición húmeda lechosa en sacos aéreos confinados a uno solo.

4 = presencia de exudado con apariencia lechosa o de queso en los sacos aéreos.

3.14 Análisis Estadístico

Los datos registrados se sometieron a análisis de varianza bajo un Diseño Completamente al Azar con cuatro tratamientos y seis repeticiones por tratamiento. Se empleó la prueba de Tukey para la comparación de medias de las variables de rendimiento productivo; mientras que, para el grado de lesiones en órganos se usó la prueba no paramétrica de Kruskall Wallis. Para ambos casos se usó el programa estadístico MINITAB® 19, con un nivel de significancia del 5 %.

El Modelo Aditivo Lineal General aplicado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta.

μ = Media general.

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento ($i = 1, 2, 3, 4$)

ε_{ij} = Error experimental.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Rendimiento productivo

Los resultados del rendimiento productivo obtenidos en cada tratamiento evaluado a los 24 días de edad de las aves, esto es, al culminar el periodo de administración de ambas dosis de doxiciclina en pollos infectados experimentalmente con *E. coli*, se presentan en el Cuadro 2 y, en mayor detalle, en los anexos del 8 al 12.

4.1.1. Peso Vivo

El peso vivo promedio fue mejorado significativamente ($p < 0.05$) en los tratamientos que fueron desafiados con *E. coli* y recibieron doxiciclina en su dosis máxima y mínima (1245 g/ave y 1217 g/ave, respectivamente) en relación con el valor obtenido en el control desafiado y no tratado (951 g/ave). Adicionalmente, no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos desafiados y tratados con doxiciclina en cualquiera de las dosis evaluadas. Los pollos del tratamiento control no desafiado y no tratado obtuvieron el mejor rendimiento de peso vivo promedio con 1330 g/ave, siendo significativamente superior a los demás tratamientos ($p < 0.05$).

Resultados similares fueron reportados por Eid *et al.* (2022), quienes encontraron una mejora significativa en el peso vivo en pollos de 15 a 21 días de edad, desafiados vía intratraqueal al primer día de edad con el serotipo *E. coli* O78 a una concentración de 10^8 UFC/ml y tratados con doxiciclina 20% por cinco días en comparación con el grupo desafiado y no tratado. Asimismo, el grupo no desafiado y no tratado obtuvo un peso vivo significativamente superior a los tratamientos mencionados anteriormente. Por otra parte, en un estudio realizado por Amer *et al.* (2009) para el control de la Enfermedad Respiratoria Crónica (*E. coli* asociado con *Mycoplasma spp.*), en pollos infectados verticalmente, el peso corporal medio fue mayor en los corrales tratados con una dosis de doxiciclina al 20% (20 mg/ kg de peso vivo) con respecto al grupo infectado y no tratado (1802 g y 1708 g, respectivamente).

La infección por *E. coli* en pollos de engorde induce a una respuesta inmunitaria, la cual disminuye la disponibilidad de energía para el crecimiento y, a su vez, también provocará una reasignación de recursos de las reservas corporales para los mecanismos de defensa (Ask *et al.*, 2006), lo cual es evidenciado con el menor peso vivo registrado en el grupo control desafiado no tratado, en comparación a los grupos desafiados y tratados con doxiciclina en ambas dosis y en el grupo control negativo.

Cuadro 2. Rendimiento productivo en pollos de engorde tratados con dosis máxima y mínima de doxiciclina (Período de 1 a 24 días de edad)

| Parámetros productivos | Tratamientos ¹ | | | |
|---------------------------------|---------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | T1 | T2 | T3 | T4 |
| Peso vivo inicial, g/ ave | 39.17 ² | 38.67 | 38.50 | 38.67 |
| Peso vivo a los 18 días, g/ ave | 753.00 ² | 752.00 | 751.50 | 746.33 |
| Peso vivo final, g/ave | 1330 ^a | 951 ^c | 1245 ^b | 1217 ^b |
| Consumo de alimento, g/ave | 1684 ^a | 1533 ^b | 1630 ^a | 1638 ^a |
| Ganancia de peso, g/ave | 1291 ^a | 912 ^c | 1206 ^b | 1178 ^b |
| Conversión Alimenticia, g/g | 1.31 ^c | 1.68 ^a | 1.35 ^{bc} | 1.39 ^b |
| Eficiencia Productiva Europeo | 421 ^a | 194 ^c | 374 ^{ab} | 351 ^b |

¹T1: Control negativo (No desafiado y no tratado); T2: Control positivo (Desafiado y no tratado); T3: Desafiado y tratado (600 g doxiciclina / TM alimento); T4: Desafiado y tratado (300 g doxiciclina / TM alimento).

²Valores son el promedio de seis repeticiones (dieciséis aves por repetición) por tratamiento.
a, b, c Valores dentro de una fila con superíndice no común difieren significativamente (p<0.05).

4.1.2 Consumo de alimento

El consumo de alimento fue mejorado significativamente ($p < 0.05$) en los tratamientos desafiados tratados con doxiciclina en su dosis máxima y mínima (1630 g/ave y 1638 g/ave, respectivamente) en comparación al valor obtenido en el control desafiado no tratado (1533 g/ave). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los grupos tratados con el antibiótico y el control no desafiado y no tratado, el cual registró un consumo final de 1684 g/ave.

El consumo de alimento se ve afectado por el estrés inmunológico causado por un antígeno (patógeno o de vacunación) que induce una respuesta inmune, disminuyendo el apetito, siendo la respuesta inmune innata más demandante nutricionalmente y adversa al consumo de alimento que la respuesta inmune adquirida (Quishpe, 2006). En otras palabras, se espera que los pollos infectados con *E. coli* presenten una respuesta inmunitaria, lo que se traduce en una reducción del apetito y, a su vez, en el consumo de alimento (Ask *et al.*, 2006), lo cual es evidenciado con la reducción significativa del consumo de alimento en el grupo control desafiado no tratado, en comparación con los grupos desafiados y tratados con doxiciclina en ambas dosis y con el grupo control negativo.

Resultados similares fueron reportados por Amer *et al.* (2009), en el cual un grupo de pollos infectados verticalmente con *E. coli* asociado con *Mycoplasma spp.* y tratados con una dosis de doxiciclina al 20% (20 mg/ kg de peso vivo) por tres días consecutivos, evidenció un consumo de alimento mayor comparado con el grupo de pollos infectados no tratados, pero significativamente menor al consumo de alimento estándar de la granja. Por otra parte, en pollos diagnosticados con colibacilosis a los 20 días de edad y tratados con una dosis de doxiciclina al 20% (10 mg/kg de peso vivo) durante cinco días, se obtuvo una buena recuperación biológica de las aves, la cual se evidenció con un peso corporal y consumo de alimento promedio dentro de los parámetros de la Línea Cobb a partir de los 30 días de edad (Cristina *et al.*, 2010).

4.1.3 Ganancia de peso

La ganancia de peso acumulada fue mejorada significativamente ($p < 0.05$) en los tratamientos que recibieron doxiciclina en su dosis máxima y mínima (1206 g/ave y 1178 g/ave, respectivamente) comparado al valor obtenido en el control desafiado y no tratado (912 g/ave). No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ambos grupos tratados con doxiciclina. El grupo control no desafiado y no tratado fue significativamente superior ($p < 0.05$) a los demás tratamientos, obteniendo un peso vivo promedio de 1291 g/ave.

Estos resultados fueron semejantes a los reportados por Eid *et al.* (2022), quienes observaron una mejora significativa en la ganancia de peso promedio en el grupo de pollos desafiados con el serotipo *E. coli* O78 a una concentración de 10^8 UFC/ml y tratados con una dosis de doxiciclina al 20% por cinco días (265.6 g), en comparación con el grupo desafiado y no tratado (193.3 g). Además, en el mismo estudio se encontraron diferencias significativas con el grupo control no desafiado y no tratado (315.3 g).

De manera similar, Peek *et al.* (2013) administraron dos dosis de doxiciclina al 50% (125 mg/L y 250 mg/L) durante cuatro días consecutivos para el tratamiento terapéutico en pollos desafiados vía intratraqueal a los ocho días de edad con el serotipo *E. coli* O78:K80 en tres concentraciones diferentes. En un primer estudio, se administró una dosis de doxiciclina al 50% (125 mg/L) en pollos desafiados con *E. coli* a una concentración de $10^{7.5}$ CFU en 0.3 ml por ave, obteniendo una mejora significativa en la ganancia de peso en comparación con el grupo control desafiado no tratado, mientras que, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo desafiado tratado con doxiciclina y el grupo control no desafiado y no tratado. En un segundo y tercer estudio, se duplicó la dosis de doxiciclina al 50% (250 mg/L), sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos controles y el grupo desafiado y tratado con doxiciclina durante el segundo ensayo, debido que la concentración de *E. coli* fue menor ($10^{6.2}$ CFU en 0.3 ml por ave). No obstante, durante el tercer ensayo se inoculó *E. coli* a una concentración de $10^{6.4}$ CFU en 0.3 ml por ave, en el cual el grupo desafiado tratado con doxiciclina 50% (250 mg/L) no difirió significativamente del grupo control desafiado no tratado, asimismo, no hubo diferencias significativas con el grupo control no desafiado no tratado, sin embargo, los grupos controles si difirieron significativamente.

En otro estudio, Velkers *et al.* (2005) llevaron a cabo dos experimentos en pollos de engorde desafiados experimentalmente a los 8 días de edad vía intratraqueal con el serotipo *E. coli* O78 a diferentes concentraciones (2.5×10^7 UFC/ml y 1.2×10^5 UFC/ml), donde obtuvieron mejoras significativas en la ganancia de peso promedio en el grupo de pollos machos y hembras desafiados y tratados con una dosis de doxiciclina al 50% (250 mg/L) por cinco días consecutivos, en comparación con el grupo de pollos machos y hembras desafiados no tratados, además, se encontraron diferencias significativas con el grupo control no desafiado y no tratado durante el primer experimento. Sin embargo, en su segundo experimento, el grupo control no desafiado y no tratado (220 g) no difirió significativamente del grupo desafiado tratado con la misma dosis de doxiciclina al 50% (224 g), lo cual podría deberse que en este experimento se inoculó una menor concentración de *E. coli*, lo que aseguró un óptimo resultado en el tratamiento de las aves tratadas con doxiciclina.

Del mismo modo, George *et al.* (1977) en un ensayo en pollos de carne desafiados experimentalmente con la cepa virulenta *E. coli* O2:KI:H5 a una concentración de 1×10^4 UFC/ave a los 15 días de edad, encontraron una mejora significativa en ganancia de peso promedio en el grupo de pollos desafiados tratados con una dosis de doxiciclina a 50 ppm por tres días consecutivos (185 g) en comparación con el grupo desafiado no tratado (137 g). En contraste, en otro ensayo en el mismo estudio, el grupo de pollos desafiados experimentalmente con la cepa virulenta *E. coli* O2:KI:H5 a una concentración de 1.40×10^5 UFC/ave a los 15 días de edad, se encontró que la ganancia de peso en el grupo desafiado tratado con una dosis de doxiciclina a 50 ppm por tres días consecutivos fue mayor al grupo control desafiado no tratado pero esta diferencia no fue significativa.

4.1.4 Índice de Conversión alimenticia

El índice de conversión alimenticia fue mejorado significativamente ($p < 0.05$) en los tratamientos que recibieron doxiciclina en su dosis máxima y mínima (1.35 g/g y 1.39 g/g, respectivamente) respecto al valor obtenido en el control desafiado y no tratado (1.68 g/g), sin observarse diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ambos grupos tratados. Los pollos del tratamiento control no desafiado y no tratado obtuvieron un mejor índice de conversión alimenticia (1.31 g/g) diferenciándose significativamente ($p < 0.05$) del resto de grupos evaluados, con excepción del grupo desafiado y tratado con dosis máxima de doxiciclina, con quien no difirió significativamente ($p > 0.05$).

La conversión del alimento en peso vivo es un proceso complejo y cuando aumenta, la causa suele ser multifactorial, entre las cuales destacan el manejo en la granja, factores nutricionales, la mortalidad y enfermedades. Por lo tanto, cuando el porcentaje de mortalidad es alto, el índice de conversión alimenticia aumenta significativamente (Aviagen, 2011), lo cual es evidenciado con el ICA significativamente mayor en el grupo control desafiado no tratado, en comparación con los grupos desafiados y tratados con doxiciclina en ambas dosis y con el grupo control negativo.

Resultados similares a este estudio fueron reportados por Eid *et al.* (2022), quienes reportaron una mejora significativa en el índice de conversión alimenticia de un grupo de pollos desafiados con el serotipo *E. coli* O78 a una concentración de 10^8 UFC/ml y tratados con doxiciclina 20% (1 g/L cada 12 horas) por cinco días, cuando fueron comparados con el grupo desafiado y no tratado (ICA = 1.75 y 1.95, respectivamente), asimismo, el grupo control no desafiado y no tratado obtuvo un mejor índice de conversión alimenticia (ICA= 1.54) diferenciándose significativamente de los grupos anteriormente mencionados. De manera similar, en los estudios reportados por George *et al.* (1977) el tratamiento terapéutico con una dosis de 50 ppm de doxiciclina por tres días consecutivos mejoró significativamente el índice de conversión alimenticia del grupo de pollos desafiados experimentalmente con la cepa virulenta *E. coli* O2:KI:H5 a concentraciones bacterianas diferentes (1×10^4 UFC/ave y 1.40×10^5 UFC/ave) a los 15 días de edad, en comparación con el grupo de pollos desafiados no tratados.

En contraste a lo anterior, Amer *et al.* (2009), no reportaron una mejora significativa en el índice de conversión alimenticia acumulada en el grupo de pollos infectados verticalmente con *E. coli* asociado a *Mycoplasma spp.* tratados con una dosis de doxiciclina al 20% (20 mg/ kg de peso vivo) cuando fue comparado al grupo control infectado no tratado (ICA = 1.65 y 1.64), siendo ambos inferiores al estándar de la granja (ICA =1.56).

4.1.5 Índice de Eficiencia Productiva Europeo

El Índice de Eficiencia Productiva Europeo (IEPE) fue mejorado significativamente ($p < 0.05$) en los tratamientos que recibieron la dosis máxima y mínima de doxiciclina (374 y 351, respectivamente) en comparación con el valor obtenido en el control desafiado y no tratado (194), sin observarse diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ambos. Por otro lado, los pollos del tratamiento control no desafiado y no tratado obtuvieron un mejor IEPE (421) respecto a los otros grupos evaluados, sin embargo, éste no difirió significativamente ($p > 0.05$) del tratamiento desafiado y tratado con dosis máxima de doxiciclina.

El IEPE evalúa el rendimiento productivo del lote con el fin de estimar la rentabilidad económica. Para un buen nivel de la granja de pollos de engorde, el IEPE debe ser un índice superior a 260, por lo que el objetivo de cada granja debe ser superar dicho valor (Mavromati *et al.*, 2018). Por el contrario, una granja de baja eficiencia productiva tendrá un valor de IEPE menor a 220 (Amer *et al.*, 2009).

Para el presente estudio, los pollos del tratamiento desafiado y tratado con dosis máxima y mínima de doxiciclina al 50% (600 y 300 g/TM de alimento, respectivamente) mostraron un buen rendimiento productivo, ya que los valores de IEPE superan el valor de 350. Asimismo, los valores que se obtuvieron en el tratamiento control no desafiado no tratado y en los tratamientos desafiados y tratados con doxiciclina en cualquiera de las dosis evaluadas, son similares con el valor de IEPE reportado por Marcu *et al.* (2013) en pollos de 1 a 35 días de edad de la Línea Cobb 500 (353.81). De manera similar, Amer *et al.* (2009) obtuvieron una buena eficiencia productiva (298) en el grupo de pollos infectados verticalmente con *E. coli* asociado a *Mycoplasma spp.* tratados con una dosis de doxiciclina al 20% (20 mg/ kg de peso vivo) por tres días consecutivos.

4.2 Mortalidad

La mortalidad post-desafío obtenida en cada uno de los tratamientos evaluados se presenta en el Cuadro 3. Se observa que, al culminar el período de tratamiento antibiótico a los 23 días de edad, no se registró mortalidad alguna en el control no desafiado no tratado y el grupo desafiado y tratado con dosis máxima de doxiciclina, mientras que, el grupo desafiado y tratado con dosis mínima de doxiciclina solo registró una mortalidad, la cual representó el 1.04%, no encontrándose diferencias significativas ($p > 0.05$) entre estos tres tratamientos. Por otra parte, estos valores contrastaron con el registrado por el grupo control desafiado y no tratado, el cual presentó una mortalidad significativamente alta ($p < 0.05$) con un porcentaje del 13.54%.

Cuadro 3. Mortalidad producto del desafío con *E. coli* en pollos de engorde tratados con dosis máxima y mínima de doxiciclina (Período de 19 a 23 días de edad)

| Tratamiento ¹ | Día 19 | Día 20 | Día 21 | Día 22 | Día 23 | Mortalidad | % |
|--------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|--------------------|
| | (1 dpi) | (2 dpi) | (3 dpi) | (4 dpi) | (5 dpi) | Total | Mortalidad |
| T1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 ^a |
| T2 | 7 | 3 | 2 | 1 | 0 | 13 | 13.54 ^b |
| T3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 ^a |
| T4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1.04 ^a |

dpi: días post- inoculación

¹T1: Control negativo (No desafiado y no tratado); T2: Control positivo (Desafiado y no tratado); T3: Desafiado y tratado (600 g doxiciclina / TM alimento); T4: Desafiado y tratado (300 g doxiciclina / TM alimento).

^{a, b, c} Valores dentro de una columna con superíndice no común difieren significativamente ($p < 0.05$).

La mortalidad, producida por la colibacilosis aviar, en su mayoría está asociada a una infección sistémica o septicemia, que se produce cuando un gran número de *E. coli* patógenas acceden al torrente sanguíneo a través de las vías respiratorias o los intestinos (Jaleel *et al.*, 2017). En pollos de engorde, esta mortalidad puede variar entre el 20% y el 40% en función de la gravedad de la enfermedad y, en su mayoría, afecta a pollos de engorde de 3 a 12 semanas de edad (Eid *et al.*, 2022).

Resultados similares al presente estudio fueron reportados en los experimentos de Velkers *et al.* (2005), quienes no reportaron mortalidad en el grupo de pollos de engorde tratados con una dosis de doxiciclina al 50% (250 mg/L) y desafiados experimentalmente a los 8 días de edad vía intratraqueal con el serotipo *E. coli* O78, mientras que, los grupos controles desafiados y no tratados registraron altos valores de mortalidad, difiriendo significativamente al grupo desafiado y tratado con doxiciclina. De igual manera, Peek *et al.* (2013) no reportaron mortalidad en pollos infectados experimentalmente con el serotipo *E. coli* O78 (10⁶ UFC/ml vía intratraqueal, 10^{6.2} y 10^{6.4} UFC 0.3 ml/ave) a las 3 semanas de edad, tratados a una dosis de doxiciclina al 50% (250 mg/L) por cuatro días, mientras que, los grupos controles desafiados y no tratados, registraron altas tasas de mortalidad de 28%, 33% y 10% a concentraciones de 10^{7.5}, 10^{6.2} y 10^{6.4} UFC en 0.3 ml por ave, respectivamente. Por otra parte, Jaleel *et al.* (2017), reportaron una similar tasa de mortalidad (16%) en el grupo control desafiado experimentalmente a las 3 semanas de edad, con el serotipo *E. coli* O78 a una concentración de 10⁶ UFC/ml vía intratraqueal y no tratado, en comparación con la mortalidad registrada en el grupo control desafiado y no tratado del presente estudio (13.54%).

Si bien es cierto, la terapia antimicrobiana es una herramienta importante para reducir la incidencia y la mortalidad de la colibacilosis aviar (Haniya *et al.*, 2015), esta solo tendrá éxito cuando se administre en fase temprana de infección, por lo general, infecciones crónicas de *E. coli* son resistentes a los tratamientos (Barnes *et al.*, 2003; Apolo, 2015). Lo anteriormente mencionado fue validado por el estudio realizado por Cristina *et al.* (2010), al demostrar la eficacia del tratamiento con una dosis de doxiciclina al 20% (10 mg/ kg de peso vivo) administrada durante cinco días, en pollos de engorde de 20 días de edad diagnosticados con colibacilosis, ya que se observó una disminución en la mortalidad de los pollos enfermos a partir del tercer día de tratamiento, alcanzando un 0% de mortalidad al finalizar el tratamiento. Aunque el tratamiento demostró ser eficaz, se reportó una alta tasa de mortalidad el primer día de tratamiento (14.2%) debido a la presencia de diferentes estadios evolutivos de los síntomas de la colibacilosis en los pollos (Cristina *et al.*, 2010).

4.3 Grado de lesiones promedio en órganos infectados

El grado de lesiones promedio en órganos infectados de los pollos muertos y sobrevivientes durante el período post- desafío (19 a 24 días) de cada tratamiento se presenta en el Cuadro 4 y, en mayor detalle, en los anexos 13 y 14. Los tratamientos que fueron desafiados con *E. coli* y recibieron doxiciclina en su dosis máxima y mínima (T3 y T4), evidenciaron una disminución significativa ($p < 0.05$) en el grado de lesiones promedio en sacos aéreos, hígado y corazón de las aves comparado con los valores registrados por el grupo control desafiado y no tratado (T2), el cual presentó las lesiones más severas entre todos los grupos evaluados. Por otro lado, no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) para el promedio del grado de lesiones en órganos entre los grupos tratados con el antibiótico. Finalmente, las aves del grupo control no desafiado y no tratado no evidenciaron lesiones en el hígado y sacos aéreos, mientras que, el promedio de lesiones en el corazón en este grupo fue de 0.04. De este modo, este grupo control fue el que obtuvo el menor promedio de grado de lesiones frente a los otros grupos evaluados, siendo esta diferencia significativa ($p < 0.05$).

Cuadro 4. Grado de lesiones promedio en órganos de pollos de engorde muertos y sobrevivientes durante el período post- desafío (Período de 19 a 24 días de edad).

| Lesiones en órganos | Tratamiento ¹ | | | |
|---------------------|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | T1 | T2 | T3 | T4 |
| Sacos aéreos | 0 ^{2, a} | 2.00 ^c | 0.71 ^b | 1.10 ^b |
| Hígado | 0 ^a | 1.38 ^c | 0.29 ^b | 0.47 ^b |
| Corazón | 0.04 ^a | 1.93 ^c | 0.56 ^b | 0.51 ^b |

¹T1: Control negativo (No desafiado y no tratado); T2: Control positivo (Desafiado y no tratado); T3: Desafiado y tratado (600 g doxiciclina / TM alimento); T4: Desafiado y tratado (300 g doxiciclina / TM alimento).

² Valores son el promedio de seis repeticiones (dieciséis aves por repetición) por tratamiento.

^{a, b, c} Valores dentro de una fila con superíndice no común difieren significativamente ($p < 0.05$).

El cuadro clínico de una infección producida por *E. coli* puede ser inducida mediante la elección del modelo de infección apropiado que permite reproducir la enfermedad de manera precisa (Antão *et al.*, 2008). El modelo experimental que emplea la infección de las aves a través del saco aéreo induce exitosamente colibacilosis clínica en pollos de engorde, ya que, los sacos aéreos son altamente susceptibles a la colonización e invasión bacteriana, debido a la inexistencia de macrófagos alveolares para contener la infección a este nivel, así como la finura extrema de la barrera existente entre la región capilar aérea y la sangre, por lo tanto, las bacterias pueden fácilmente infectar la sangre y diseminarse por el torrente sanguíneo al resto de órganos (Barnes *et al.*, 2003; Mellata *et al.*, 2003). Además, este modelo experimental produce el paso de una gran cantidad de bacterias a través de las paredes capilares aéreas, favoreciendo la diseminación y colonización de la bacteria en diferentes órganos, por ende, puede ser empleado para estudiar la eficacia de los medicamentos (Pourbakhsh *et al.*, 1997).

La colisepticemia inducida a través de la inoculación vía saco aéreo presenta una rápida evolución, entre 1 a 3 horas después de la inoculación, por lo que no será necesario inocular previamente a las aves con un virus inmunosupresor para reproducir el cuadro clínico de la colibacilosis (Fernández *et al.*, 2002). Las lesiones macroscópicas típicas de una colisepticemia, fueron observadas en el presente estudio, tanto en aves muertas y sobrevivientes, que incluyeron aerosaculitis, pericarditis y perihepatitis en diferentes grados, concordando con lo reportado previamente por Velkers *et al.* (2005); Akbar *et al.* (2009) y Peek *et al.* (2013). De igual manera, Abd El-Aziz *et al.* (2014) reportaron las lesiones previamente mencionadas, además de hiperemia de la mucosa intestinal, hígado congestionado con hemorragia equimótica y distensión del intestino con líquido y gas. Además, mencionan que estas lesiones se producen a causa de que, la *E. coli* tiene la capacidad de atravesar la barrera mucosa de las vías respiratorias debido a sus factores de virulencia, ingresando al torrente sanguíneo y diseminándose por todo el organismo, provocando lesiones en diversos órganos.

El grado de lesión promedio se calculó sumando las puntuaciones de las lesiones del órgano o tejido examinado y dividiendo por la suma del número total de pollos muertos y sobrevivientes sometidos a examen post mortem, de acuerdo con el método utilizado previamente por Fernández *et al.* (2002) y Madian *et al.* (2008).

Resultados similares al presente estudio fueron reportados por Peek *et al.* (2013), en donde la puntuación media lesiones en sacos aéreos, corazón e hígado fue reducida significativamente en el grupo de pollos tratados con una dosis de doxiciclina al 50% (125 mg/L) luego del desafío experimental con el serotipo *E. coli* O78:K80, y obteniendo una puntuación media de 2.3, en comparación con el grupo de pollos desafiados y no tratados los cuales obtuvieron una puntuación media 9.7. De igual manera, en un segundo experimento, Peek *et al.* (2013), reportaron que el grado de lesión promedio en sacos aéreos, corazón e hígado fue reducido significativamente en el grupo de pollos tratados con una dosis de doxiciclina más concentrada (250 mg/L) obteniendo una puntuación media de 0.3, en comparación con el grupo de pollos desafiados y no tratados los cuales obtuvieron una puntuación media de 5.4.

De manera similar, Velkers *et al.* (2005) reportó una reducción significativa en la puntuación media de lesiones en sacos aéreos, corazón e hígado en el grupo de pollos desafiados experimentalmente con una cepa de *E. coli* (2.5×10^7 UFC/ml) y tratados con una dosis de doxiciclina al 50% (250 mg/L) por cinco días consecutivos, tanto en hembras y machos (0.9 y 0.4, respectivamente) en comparación con el grupo de pollos hembras y machos de un grupo control desafiado y no tratado (7.1 y 7.4, respectivamente). No obstante, en un segundo experimento, no se encontraron diferencias significativas de la puntuación media de lesiones en estos órganos entre el grupo de pollos desafiados con *E. coli* (1.2×10^5 UFC/ml) y no tratados, con respecto al grupo de pollos desafiados y tratados con la misma dosis de doxiciclina.

Cabe mencionar que las lesiones pueden ser más severas a los cuatro días después de la infección experimental con patógenos respiratorios, mientras que, pasado los ocho días post inoculación estas lesiones suelen ser menos prominentes (Jaleel *et al.*, 2017). Los resultados de este estudio demuestran que en fases tempranas de infección por *E. coli* en pollos de engorde, los sacos aéreos son los tejidos afectados con mayor severidad, seguido del corazón y; con menor severidad, el hígado. Además, en el presente estudio, la severidad de lesiones fue reducida significativamente con una dosis máxima de doxiciclina (600 g/TM de alimento), sin embargo, no difirió significativamente con la dosis mínima (300 g/TM de alimento).

V. CONCLUSIONES

En base a las condiciones en que se llevó a cabo el presente estudio, se concluye que:

1. La administración de doxiciclina a 300 y 600 g/TM de alimento a las aves luego del desafío con *E. coli*, mejoró significativamente el peso vivo promedio, ganancia de peso, conversión alimenticia y eficiencia productiva en comparación con el grupo control desafiado no tratado.
2. La administración de doxiciclina en ambas dosis redujo significativamente la mortalidad de las aves desafiadas experimentalmente con la bacteria en comparación con el grupo control desafiado no tratado.
3. El grado de severidad en sacos aéreos, corazón e hígado de las aves desafiadas experimentalmente con *E. coli* se vieron reducidas significativamente por la administración del antibiótico en ambas dosis evaluadas en comparación con el grupo control desafiado no tratado.

VI. RECOMENDACIONES

En base a las conclusiones del presente estudio, se recomienda determinar:

1. La eficacia de doxiciclina frente a diferentes cepas patógenas de *E. coli* y a mayores dosis de infección en pollos de engorde.
2. La eficacia de doxiciclina en interacción con otros fármacos para el control de las infecciones por *E. coli* en pollos de engorde.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abd El-Aziz, N.K.; Eldesoky, I.E.; Ammar, A. M.; Eissa, S. I.; Mohamed, Y.H. (2014). Molecular studies on *M. gallisepticum* and avian pathogenic *E. coli* induced infections in broilers. *European Journal of Veterinary Medicine*, 2014, 4.
2. Abd El-Mawgoud, A.I.; El-Nahass, E.E.; Shany, S.A.S.; ELSawah, A. A.; Dahshan, A.M.; Nasef, S.A.; Ali, A. (2020). Efficacy of live attenuated vaccine and commercially available lectin against avian pathogenic *E. coli* infection in broiler chickens. *Vet. Sci.* 7:65.
3. Agunos, A.; Léger, D.; Carson, C. (2012). Review of antimicrobial therapy of selected bacterial diseases in broiler chickens in Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(12), 1289–1300 p.
4. Akbar, H., Khan, M.A., Khan, A.A., Khan, M.A., Shuaib, M., Akbar, S.F., Manzoor, S., Irshad-ur-rehman, Ahmad, S., Ali, L., Khalid, R., y Idrees, M. (2009). Comparative efficacy of doxycycline and flumequine against experimentally induced colibacillosis in broiler chicks. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 1, 017-022.
5. Álvarez, V. (2006). Infección experimental con *Escherichia coli* y virus de la Bronquitis Infecciosa en pollos libres de patógenos específicos. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
6. Amer, M. M., El-Bayomi, K. M., Gera, M. S., y Hanafei, A. E. A. (2009). Field study on control of chronic respiratory disease in vertically infected broiler chicks. *Journal of Veterinary Medical Research*, 19(1), 27-33.
7. Antão, E.-M., Glodde, S., Li, G., Sharifi, R., Homeier, T., Laturnus, C., Diehl, I; Bethe, A.; Philipp, H.; Preisinger, R.; Wieler, L.; Ewers, C. (2008). The chicken as a natural model for extraintestinal infections caused by avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Microbial Pathogenesis*, 45(5-6), 361–369.

8. Apolo, J. (2015). Aislamiento de *Escherichia coli* en pollos de engorde con afección respiratoria y determinación de la sensibilidad frente a los antibióticos utilizados en el cantón balsas, provincia de el oro. Tesis de Grado previa a la obtención del Título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Nacional De Loja. Loja, Ecuador.
9. Ask, B.; Van der Waaij, E. H.; Van Eck, J. H. H.; Van Arendonk, J. A. M.; Stegeman, J. A. (2006). Defining susceptibility of broiler chicks to colibacillosis. *Avian Pathology*, 35(2), 147–153.
10. [ASAV] Asociación Avícola Valenciana. (2017). Guía de prescripción de antibióticos en avicultura de puesta. Plataforma Tecnológica Española de Sanidad Animal. Madrid, España. Recuperado de: <https://www.asav.es/guias-nacionales/>
11. Atef, M.; Youssef, S.; El-Eanna, H.; El-Maaz, A. (2002). Influence of aflatoxin B1 on the kinetic disposition, systemic bioavailability and tissue residues of doxycycline in chickens. *British Poultry Science*, 43(4), 528-532 p.
12. Aviagen Brief (2011). Cómo optimizar la conversión alimenticia en el pollo de engorde. Recuperado de: http://eu.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/AviagenBriefFCRJuly2011-ES.PDF
13. Badiola, J. (2017). Guía de Uso Responsable de Medicamentos Veterinarios: Avicultura. Plataforma Tecnológica Española de Sanidad Animal. Madrid, España; 29 oct.
14. Bain, M.M.; Zheng, J., Zigler, M.; Whenham, N.; Quinlan Pluck, F.; Jones, A.C.; Roberts, M.; Icken, W.; Olori, V.E.; Dunn, I.C. (2019). Cuticle deposition improves the biosecurity of eggs through the laying cycle and can be measured on hatching eggs without compromising embryonic development. *Poultry Science*, 98, 1775–1784.
15. Barbieri, N.L.; Tejkowski, T.M.; D' Oliveira, A.L.; D' Brito, B.G.; Horn, F. (2012). Characterization of extraintestinal *Escherichia coli* isolated from a peacock (*Pavo cristatus*) with colisepticemia. *Avian Dis.* 56:436–440.

16. Barnes, H. J., Vaillancourt, J. P., Gross, W. B. (2003). Colibacillosis: Diseases of Poultry. 11th Edition, Section II, Chapter 18.
17. Barnett, D.M.; Kumpula, B.L.; Petryk, R.L.; Robinson, N.A.; Renema, R.A.; Robinson, F.E. (2004). Hatchability and early chick growth potential of broiler breeder eggs with hairline cracks. *Journal of Applied Poultry Research*, 13, 65–70.
18. Blanco, J.E.; Blanco, M.; Mora, A.; Blanco, J. (1997). Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *Journal of clinical microbiology*, 35(8), 2184-2185.
19. Blanco, J.; Mora, A.; Alonso, M.P.; González, E.A.; Bernárdez, M. (2002). Enterobacterias: características generales. Género *Escherichia*. Manual de Microbiología Veterinaria. Capítulo 21. España. 301- 325 p.
20. Burns, K.E., Otalora, R.; Glisson, J.R.; Hofacre, C.L. (2003). Cellulitis in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Avian Dis.* 47:211–214.
21. Cervantes, H. M. (2018). Uso racional de antibióticos en la producción avícola. *AviNews América Latina*. Pp. 41 – 46. Recuperado de: <https://avicultura.info/uso-racional-de-antibioticos-en-la-produccion-avicola/>
22. Chopra, I.; Roberts; M. (2001). Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2), 232–260 p.
23. Chouikha, I.; Germon, P.; Bree, A.; Gilot, P.; Moulin-Schouleur, M., Schouler, C. (2006). A selC associated genomic island of the extraintestinal avian pathogenic *Escherichia coli* strain BEN2908 is involved in carbohydrate uptake and virulence. *J Bacteriol*; 188:977–87.
24. Christensen, H.; Bachmeier, J.; Bisgaard, M. (2021). New strategies to prevent and control avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC), *Avian Pathology*, 50:5, 370-381.
25. Cobb-Vantress. (2018a). Broiler management guide. Cobb-Vantress. 112 p.

26. Cobb-Vantress. (2018b). Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición de pollos de engorde. Cobb-Vantress. 14p.
27. Cristina, R.; Schmerold, I.; Dumitrescu, E.; Lazarescu, C.; Petrovis, S.; Netotea, A. (2010). Study of doxycycline efficacy in broilers' colibacillosis. *Animal Science and Biotechnologies*, 43 (1), 469-473 p.
28. Davis, M.F., Ebako, G.M.; Morishita, T.Y. (2003). A golden comet hen (*Gallus gallus forma domestica*) with an impacted oviduct and associated colibacillosis. *J Avian Med Surg.* 17:91–95.
29. Dheilily, A.; Bouder, A.; Le Devendec, L.; Hellard, G. y Kempf, I. (2011). Clinical and microbial efficacy of antimicrobial treatments of experimental avian colibacillosis. *Veterinary Microbiology*. 149 (3-4):422-9.
30. Díaz, M.; González, G. (2019). Colibacillosis en gallinas reproductoras pesadas en reproducción. *Rev Sist Prod Agroecol.* 10: 2. Recuperado de: <https://revistas.unillanos.edu.co/index.php/sistemasagroecologicos/article/download/732/790/2979>
31. Díaz-Sánchez, S.; Sánchez, S.; Ewers, C.; Höfle, U. (2012). Occurrence of avian pathogenic *Escherichia coli* and antimicrobial-resistant *E. coli* in red-legged partridges (*Alectoris rufa*): sanitary concerns of farming. *Avian Pathol.* 41:337–344.
32. Dinev, I. (2011). Enfermedades de las aves: Atlas a color. Segunda Edición. Stara Zagora, Bulgaria. Pp. 8 – 17.
33. Eid, S.; Tolba, H. M., Hamed, R. I.; y Al-Atfeehy, N. M. (2022). Bacteriophage therapy as an alternative biocontrol against emerging multidrug resistant *E. coli* in broilers. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3380-3389.
34. Eisen, D.P. (2018). Tetracycline. In Grayson, M.L. (Ed.), *Kucers' s the use of antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs* (pp. 1195- 1201). Taylor & Francis Group, LLC.

35. El-Gendi, A. Y. I.; Atef, M., Amer, A. M.; Kamel, G. M. (2010). Pharmacokinetic and tissue distribution of doxycycline in broiler chickens pretreated with either: Diclazuril or halofuginone. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3209-3214.
36. [EMA] Agencia Europea del Medicamento (2015). European public MRL assessment report: Doxycycline (all food producing species). Recuperado de: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/doxycycline-all-food-producing-species-european-public-maximum-residue-limit-assessment-report-epmar_en.pdf
37. [EMA] Agencia Europea del Medicamento. (1997). Doxycycline, summary report. Recuperado de: https://www.ema.europa.eu/documents/mrl-report/doxycycline-hyclate-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf
38. [EMA] Agencia Europea del Medicamento. (s.f.). Doxycycline 50% WSP Article 34 referral - Annexes I, II and III. Recuperado de: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/doxycycline-50-wsp-article-34-referral-annex-i-ii-iii_es-0.pdf
39. [EMA]. Agencia Europea del Medicamento. (2012). CVMP Assessment Report for Poulvac *E. coli* (EMEA/V/002007). London: European Medicines Agency. Recuperado de: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/poulvac-e-coli-epar-public-assessment-report_en.pdf
40. EnteroPluri-Test (s.f.). Liofilmchem. Recuperado de <https://www.liofilchem.com/solutions/clinical/microbial-identification/id-systems/id-ast-systems-pure-colony/enteropluri-test>
41. EnteroPluri®-Test, galería de identificación de enterobacterias. (2018, 19 de junio). Microplanet. Recuperado de <https://www.microplanet-psl.com/es/noticias/item/74-enteropluritest-identificacion-enterobacterias>.

42. Fernández, A.; Lara, C.; Loste, A.; Marca, M.C. (2002). Efficacy of Calcium Fosfomycin for the Treatment of Experimental Infections of Broiler Chickens with *Escherichia coli* O78:K80. *Veterinary Research Communications*. 26(6): 427-436.

43. Filho, T. F.; Favaro, C.; Ingberman, M.; Beir~ao, B.C.B.; Inoue, A.; Gomes, L.; Caron, L F. (2013). Effect of spray *Escherichia coli* vaccine on the immunity of poultry. *Avian Dis*. 57:671–676.

44. Gajda, A.; Posyniak, A.; Tomczyk, G. (2014). LC-MS/MS analysis of doxycycline residues in chicken tissues after oral administration. *Journal of Veterinary Research*, 58(4), 573-579.1

45. Galal, H.M.; Abdrabou, M.I.; Faraag, A.H.I.; Mah, C.K.; Tawfek, A. M. (2021). Evaluation of commercially available aroA delated gene *E. coli* O78 vaccine in commercial broiler chickens under Middle East simulating field conditions. *Scientific Reports*, 11(1) :1938.

46. George B.A; Fagerberg D.J, Quarles C.L.; Fenton, J.M. (1977). Comparison of therapeutic efficacy of doxycycline, chlortetracycline and lincomycin-spectinomycin on *E. coli* infection of young chickens. *Poult Sci*. (2):452-8.

47. Ghunaim, H.; Abu-Madi, M.A.; Kariyawasam, S. (2014). Advances in vaccination against avian pathogenic *Escherichia coli* respiratory disease: Potentials and limitations. *Vet. Microbiol*. 172, 13–22.

48. Gibert, M. (2010). Detección y caracterización de aislados de *Escherichia coli* de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras. Trabajo de Doctorado previo a la obtención del grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.

49. Giner, A. (2016). Colibacilosis en pollos de engorde y aves de larga vida: Estrategias para un mejor control. *Revista Avinews*. Recuperado de: <https://avinews.com/download/colibacilosis-zoetis.pdf>

50. Gregersen, R.H.; Christensen, H.; Ewers, C.; Bisgaard, M. (2010). Impact of *Escherichia coli* vaccine on parent stock mortality, first week mortality of broilers and population diversity of *E. coli* in vaccinated flocks. *Avian Pathol.* 39:287–295.
51. Guabiraba, R.; Schouler, C. (2015). Avian colibacillosis: still many black holes. *FEMS Microbiology Letters*, 362(15), fnv118.
52. Gutiérrez, L.; Zermeño, J.; Alcalá, Y.; Sumano, H. (2017). Higher bioavailability of doxycycline in broiler chickens with a novel in-feed pharmaceutical formulation. *Poultry Science*, 96(8), 2662-2669 pp.
53. Hamoudi, A.; Aggad, H. (2008). Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated from Chicken Colibacillosis in Western Algeria. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 32(2), 123-126.
54. Haniya, F; Hamza, H; Awamil, A. (2015). The use of doxycycline for the treatment of experimentally induced colibacillosis in broilers with doxycycline. *Advances in Animal Science, Theriogenology, Genetics and Breeding*, 3 (1), 6-11 p.
55. Hantash, T.M.; Abu-Basha, E.A.; Roussan, D.A.; Abudabos, A.M. (2008). Pharmacokinetics and Bioequivalence of Doxycycline (Providox® and Doxyvet 0-50 S®) Oral Powder Formulations in Chickens. *International Journal of Poultry Science*, 7: 161-164.
56. Hofacre, C.L.; Johnson, A.C.; Kelly, B.J.; Froyman, R. (2002). Effect of a commercial competitive exclusion culture on reduction of colonization of an antibiotic-resistant pathogenic *Escherichia coli* in day-old broiler chickens. *Avian Dis.* 46:198–202.
57. Holmes, N.; Charles, P.G. (2009). Safety and Efficacy Review of Doxycycline. *Clinical Medicine. Therapeutics*, 1(), CMT.S2035–.
58. Hsiao, Pai-Feng; Chang, Shao-Kuang; Hsu, Tien-Huan; Li, Kuang-Po; Chou, Chi-Chung. (2016). Pharmacokinetics and tissue depletion of doxycycline administered at high dosage to broiler chickens via the drinking water. *Acta Veterinaria Hungarica*, 64(4), 472–481.

59. Hy Line International (2014). Colibacilosis en ponedoras: Un resumen. Boletín Técnico. 8 Pp. Recuperado de: <https://www.hyline.com/Upload/Resources/TU%20COL%20SPN.pdf>
60. Ismail, M.; El-Kattan, Y. (2004). Disposition kinetics of doxycycline in chickens naturally infected with *Mycoplasma gallisepticum*. *British Poultry Science*, 45(4), 550–556 p.
61. Jaleel, S., Younus, M., Idrees, A., Arshad, M., Khan, A. U., Ehtisham-ul-Haque, S., Zaheer, M.I.; Tanweer, M.; Towakal, F.; Munibullah; Tipu, M.Y.; Sohail, M.L.; Umar, S. (2017). Pathological alterations in respiratory system during co-infection with low pathogenic avian influenza virus (H9N2) and *Escherichia coli* in broiler chickens. *Journal of Veterinary Research*, 61(3), 253–258.
62. Joerger, R.D.; Ross, T. (2005). Genotypic diversity of *Escherichia coli* isolated from cecal content and mucosa of one- to six-week-old broilers. *Poult Sci.* 84:1902–1907.
63. Johnson, T. J.; Skyberg, J.; Nolan, L. K. (2004). Multiple antimicrobial resistance region of a putative virulence plasmid from an *Escherichia coli* isolate incriminated in avian colibacilosis”. *Avian Diseases*, 48 (2): 351-60.
64. Kariyawasam, S; Wilkie, B.N.; Hunter, D.B.; Gyles, C.L. (2002). Systemic and mucosal antibody responses to selected cell surface antigens of avian pathogenic *Escherichia coli* in experimentally infected chickens. *Avian Dis*; 46:668–78.
65. Kathayat, D.; Lokesh, D.; Ranjit, S.; Rajashekara, G. (2021). Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC): An Overview of Virulence and Pathogenesis Factors, Zoonotic Potential, and Control Strategies. *Pathogens*, 10, 467.
66. Kemmett, K.; Williams, N.J.; Chaloner, G.; Humphrey, S.; Wigley, P.; Humphrey, T. (2014). The contribution of systemic *Escherichia coli* infection to the early mortalities of commercial broiler chickens. *Avian Pathology*, 43, 37–42.

67. Kogawa, A. C.; Salgado, H. R. N. (2012). Doxycycline hyclate: a review of properties, applications and analytical methods. *International Journal of Life science and Pharmaceutical Research*, ISSN, 2250-0480.
68. Kunert, H.C.; Carvalho, D.; Grassotti, T.T.; Soares, B.D.; Rossato, J.M.; Cunha, A.C.; Brito, K.C.T.; Cavalli, L.S.; Brito, B.G. (2015). Avian pathogenic *Escherichia coli* - methods for improved diagnosis. *World's Poultry Science Journal*, 71(2), 249–258.
69. La Ragione, R.M.; Casula, G.; Cutting, S.M.; Woodward, M.J. (2001). *Bacillus subtilis* spores competitively exclude *Escherichia coli* O78:K80 in poultry. *Vet Microbiol.* 79:133–142.
70. La Ragione, R.M.; Woodward, M.J.; Kumar, M.; Rodenberg, J.; Fan, H.; Wales, A.D.; Karaca, K. (2013). Efficacy of a live attenuated *Escherichia coli* O78:K80 vaccine in chickens and turkeys. *Avian Diseases*, 57, 273–279.
71. Laczay, P.; Semjen, G.; Lehel, J.; Nagy, G. (2001). Pharmacokinetics and bioavailability of doxycycline in fasted and non fasted broiler chicken. *Acta Vet Hung.* 49(1):31–37.
72. Lamarche, M.G.; Dozois, C.M., Daigle, F.; Caza, M.; Curtiss, R.; Dubreuil, J.D. (2005). Inactivation of the pst system reduces the virulence of an avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strain. *Infect Immun*; 73:4138–45.
73. Lemos, M.L. (2013). Antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteínas. En Botana, L.M.; Landoni, F.; Martín-Jiménez, T. (Ed.), *Farmacología y Terapéutica Veterinaria* (pp. 469 – 472). Editorial Mc Graw Hill.
74. Lohren, U; Ricci, A; Cummings, T.S. (2008). Guidelines for antimicrobial use in poultry. In: Guardabassi L, Jensen LB, Kruse H, eds. *Guide to Antimicrobial Use in Animals*. Oxford, UK: Blackwell Publishing. Pp 126–142.
75. Lorenzo, N. (2017, 20 de julio). Combinaciones de antibióticos y quimioterápicos. *Veterinaria Digital*. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/combinaciones-de-antibioticos-y-quimioterapicos/>

- 76.** Lutful, S. (2010). Avian Colibacillosis and Salmonellosis: A Closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. *International Journal Environmental Research and Public Health*, 7, 89-114 p.
- 77.** Madian, K.; El-Ghany, W. A. A.; Kamel, G. M. (2008). Efficacy of pefloxacin for the treatment of broiler chickens experimentally infected with *Escherichia coli* O78: K80. In *Proceeding of the 3rd Scientific Congress of the Egyptian Society for Animal Management*. October, 28th–29th (pp. 94-105).
- 78.** Majó, N. y Dolz, R. (2011). *Atlas de la necropsia aviar: Diagnóstico macroscópico y toma de muestras*. Editorial Servet. Zaragoza, España.
- 79.** Marcu, A.; Vacaru-Opriş, I.; Dumitrescu, G.; Ciochină, L. P.; Marcu, A.; Nicula, M.; Peţ, I.; Dronca, D.; Kelcirov, B.; Mariş, C. (2013). The influence of genetics on economic efficiency of broiler chickens' growth. *Animal Science and Biotechnologies*, 46(2), 339-346.
- 80.** Mavromati, E.; Sena, L.; Gjeta, Z.; Mavromati, J. (2018). Assessing the economic efficiency in some broiler farms through the European production efficiency factor (EPEF). *European Academic Research*, 6(9), 5354-5362.
- 81.** Mc Farland, J. (1907). The nephelometer: An instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*, XLIX (14), 1176-1178.
- 82.** Mellata, M.; Dho-Moulin, M.; Dozois, C.M.; Curtiss, R.; Brown, P.K.; Arne, P. (2003). Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* to serum and in pathogenicity. *Infect Immun*; 71:536–40.
- 83.** Mellata, M.; Johnson, J.R.; Curtiss, R. (2018). *Escherichia coli* isolates from commercial chicken meat and eggs cause sepsis, meningitis and urinary tract infection in rodent models of human infections. *Zoonoses and Public Health*, 65, 103–113.

- 84.** Mercer, M. (2022, noviembre). Tetracyclines Use in Animals. *MSD Veterinary Manual*.
<https://www.msdsvetmanual.com/pharmacology/antibacterial-agents/tetracyclines-use-in-animals>.
- 85.** Mestorino, N. (2009). Antimicrobianos en avicultura. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.
- 86.** Mestorino, O.N.; Zeinsteger, P.A.; Buchamer, A.V.; Buldain, D.C.; Aliverti, F.; Marchetti, M.L. (2018). Tissue depletion of doxycycline after its oral administration in food producing chicken for fattening. *International Journal of Avian & Wildlife Biology*, 3.
- 87.** MIDAGRI (2022). Boletín Estadístico Mensual: Producción y comercialización de productos avícolas. Mayo 2022. Recuperado de: https://apa.org.pe/wp-content/uploads/2022/08/Boletin-Avicola_052022.pdf
- 88.** Mileva, R.; Milanova, A. (2020). Doxycycline pharmacokinetics in mammalian species of veterinary interest—an overview. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 1311(1477), 1-20.
- 89.** Nandi, S.; Maurer, J.J.; Hofacre, C.; Summers, A.O. (2004). Gram-positive bacteria are a major reservoir of Class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101:7118–7122.
- 90.** Nolan, L.; Vaillancourt, J.P; Barbieri, N.L.; Logue, C.M. (2020). “Colibacillosis”. In *Diseases of Poultry*. 14th Edition, Section III, Chapter 18. 770–830 p.
- 91.** [OIE] Oficina Internacional de Epizootias. (2016). Estrategia de la OIE sobre la resistencia a los agentes antimicrobianos y su uso prudente. Recuperado de: <https://www.oie.int/app/uploads/2021/03/es-oie-amrstrategy.pdf>
- 92.** Paredes, V. (2010). *Farmacología Veterinaria II*. Universidad Nacional Agraria. Managua- Nicaragua. Pp. 38 – 45. Recuperado de: <https://repositorio.una.edu.ni/2460/1/nl70p227fa.pdf>

93. Peek, H. W., Halkes, S. B. A., Tomassen, M. M. M., Mes, J. J., y Landman, W. J. M. (2013). In vivoscreening of five phytochemicals/extracts and a fungal immunomodulatory protein against colibacillosis in broilers. *Avian Pathology*, 42(3), 235–247.
94. Poulsen, L.; Bisgaard, M.; Jørgensen, S.L.; Dideriksen, T.; Pedersen, J.R.; Christensen, H. (2018). Characterization of *Escherichia coli* causing cellulitis in broilers. *Veterinary microbiology*, 225, 72-78.
95. Pourbakhsh, S.; Boulianne, B.; Martineau, B.; Dozois, Ch.; Desautels, C; Fairbrother, J. (1997). Dynamics of *Escherichia coli* Infection in Experimentally Inoculated Chickens. *American Association of Avian Pathologists*, 41 (1), 221-233p.
96. Quishpe, G. J. (2006). Factores que afectan el consumo de alimento en pollos de engorde y postura. Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura. Zamorano, Honduras.
97. Ramírez, J; Parra, J.; Álvarez; A. (s.f.). Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos. Universidad Libre Pereira. Recuperado de: https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/mente_joven/article/download/3665/3060
98. Raue, R.; Schmidt, V.; Freick, M.; Reinhardt, B.; R. Johne, R.; Kamphausen, L.; Kaleta, E.F.; Muller, H.; Krautwald-Junghanns, M.E. (2005). A disease complex associated with pigeon circovirus infection, young pigeon disease syndrome. *Avian Pathol.* 34:418–425.
99. Rawiwet, V.; Chansiripornchai, N. (2009). The Efficacy of *Escherichia coli* AroA-Live Vaccine in Broilers against Avian *E. coli* Serotype O78 Infection. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 39(4), 337–342.
100. Ryan, K.; Ray, C.; Ahmad, N.; Drew, W.; Plorde, J. (2011). Sherris: Microbiología médica, Quinta edición. Capítulo 33. México. 441-464 p.

- 101.** Sadeyen, J.R.; Wu, Z.; Davies, H.; Van Diemen, P. M.; Milicic, A.; La Ragione, R.M. Kaiser, P.; Stevens, M.P.; Dziva, F. (2015). Immune responses associated with homologous protection conferred by commercial vaccines for control of avian pathogenic *Escherichia coli* in turkeys. *Vet. Res.* 46:1–14.
- 102.** Sánchez, L.; Sáenz, E.; Pancarba, J.; Lanchipa, P.; Zegarra, R. (2004). Antibióticos sistémicos en dermatología. *Dermatología Peruana*, 14(3), 161-179 p. Recuperado de: https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v14_n3/Pdf/a03.pdf
- 103.** Scheutz, F.; Strockbine N. (2005). Genus I. *Escherichia*. *The Proteobacteria Part B. The Gammaproteobacteria*. Springer (2): 607-623.
- 104.** Schroeder, C. M.; Meng, J.; Zhao, S.; DebRoy, C.; Torcolini, J.; Zhao, C.; McDermott, P. F.; Wagner, D. D.; Walker, R. D.; White, D. G. (2004). “Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128, and O145 from animals and humans” *Emerging Infectious Diseases*, 8 (12):1409-14.
- 105.** Stordeur, P.; Mainil, J. (2002). La colibacillose aviaire. *Ann. Méd. Vét.*; 146: 11-18.
- 106.** Sumano, H.; Gutiérrez, L. (2010). *Farmacología Clínica en Aves Comerciales*. Cuarta Edición. México D.F., México. Editorial Mc Graw Hill.
- 107.** Swelum, A. A.; Elbestawy, A. R.; El-Saadony, M. T.; Hussein, E. O., Alhotan, R.; Suliman, G.M.; Taha, A.E.; Ba-Awadh, H.; El-Tarabily, K.A.; Abd El-Hack, M.E. (2021). Ways to minimize bacterial infections, with special reference to *Escherichia coli*, to cope with the first-week mortality in chicks: an updated overview. *Poultry science*, 100(5), 101039.
- 108.** Teo, A.Y.L.; H.M. Tan. (2006). Effect of *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT) on broilers infected with a pathogenic strain of *Escherichia coli*. *J Appl Poult Res.*15:229–235.

109. Underwood, W.; Anthony, R.; Cartner, S.; Corey, D.; Grandin, T.; Greenacre, C. B.; Miller, D. (2013). AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. Schaumburg, IL: American Veterinary Medical Association.
110. Valls, J.L. (2020). Reduciendo la colibacilosis aviar mediante la vacunación. Revista Avinews. Recuperado de: <https://avinews.com/reduciendo-la-colibacilosis-aviar-mediante-la-vacunacion/>
111. Vicente, D; Pérez, E. (2010). Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. Elsevier Doyma, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 28(2), 122–130 p.
112. Wigley, P. (2015) Blurred lines: pathogens, commensals, and the healthy gut. Front. Vet. Sci. 2:40.
113. Yang, F.; Yang, F.; Wang, G.; Kong, T. (2018). Pharmacokinetics of doxycycline after oral administration of single and multiple doses in broiler chickens. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, 41(6), 919-923.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Ficha técnica de Doxil 50 PS (Ilender Perú S.A.)

| COMPOSICIÓN | Cada kilogramo contiene: |
|----------------------|--|
| Doxiciclina Hiclato* | 577.3 g |
| Excipientes c.s.p. | 1000 g |
| Forma farmacéutica | Polvo homogéneo color amarillo |
| Indicaciones de uso | Antibiótico de amplio espectro contra bacterias Gram + y Gram - |
| Administración | Durante 3 - 5 días |
| Dosis / TM alimento | 300 – 600 g de Doxil 50 PS ** |
| Periodo de retiro | Aves: 5 días antes del beneficio |

*** Equivalente a Doxiciclina base 500**

**** 150 - 300 ppm de doxiciclina.**

Anexo 2: Protocolo elaborado por la empresa Ilender S.A. para la ejecución del proyecto: Eficacia terapéutica de dos formulaciones antibióticas sobre la infección experimental por *Escherichia coli* en pollos de engorde

1. OBJETIVO

Demostrar la eficacia terapéutica de dos formulaciones antibióticas en el control de una infección experimental por *Escherichia coli* en pollos de engorde bajo condiciones experimentales hasta los 26 días de edad en una granja experimental en Lima.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Lugar y fecha del estudio

El estudio se realizará en un ambiente semi - controlado para aves del Laboratorio de Patología Aviar, el cual pertenece a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y se ubica en el distrito de San Borja, Lima-Perú. El estudio se llevará a cabo durante los meses de junio, julio y agosto del 2021.

2.2 Animales

Se utilizarán 576 pollos de engorde machos de 1 día de edad de la línea Cobb 500, provenientes de un mismo lote de reproductoras.

2.3 Alimentación

Para el presente ensayo se empleó una dieta comercial tipo inicio para pollos de engorde a base de maíz y soya, la cual fue administrada durante todo el período experimental. El alimento y agua de bebida fueron administrados *ad libitum* de acuerdo con los requerimientos nutricionales según edad y manejo de las aves.

2.4 Grupos experimentales

Las aves serán distribuidas en un Diseño Completamente Aleatorio de 6 grupos experimentales de 6 repeticiones con 16 pollos por repetición, alojadas en piso con cama de viruta de primer uso. El diseño del estudio y la distribución de cada tratamiento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1. Distribución de tratamientos a evaluar y diseño experimental del estudio.

| GRUPOS | DOSIS DEL PRODUCTO | EDAD DE DESAFÍO CON <i>E. coli</i> | VIA DE INOCULACIÓN <i>E. coli</i> | NECROPSIA PROGRAMADA (días post desafío) |
|--------|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|---|
| 1 | Control no desafiado, no tratado | No aplica | No aplica | Día 24 y 26 (5 y 7 dpd) |
| 2 | Control desafiado, no tratado | No aplica | | Día 24 y 26 (5 y 7 dpd) |
| 3 | Clortetraciclina dosis máxima | 2.5 Kg/T alimento | | Día 26 (7 dpd) |
| 4 | Clortetraciclina dosis mínima | 1 Kg/T alimento | 18 días | Saco aéreo torácico posterior izquierdo Día 24 (7 dpd) |
| 5 | Doxiciclina dosis máxima | 600 g/T alimento | | Día 24 (5 dpd) |
| 6 | Doxiciclina dosis mínima | 300 g/T alimento | | Día 24 (5 dpd) |

2.5 Desafío biológico con *Escherichia coli*

A los 18 días de edad, una dosis de 0.2 ml de inóculo con una concentración (tomar como referencia la concentración del piloto) de *E. coli*/ml será inyectado a través del saco aéreo torácico posterior izquierdo en los grupos experimentales a ser infectados, de acuerdo con una adaptación al modelo sugerido por Piercy y West (1976). La cepa bacteriana para emplear en el desafío será un aislamiento de un caso clínico de campo en pollos de carne compatible con colisepticemia (código de laboratorio si amerita).

Para la aplicación del inóculo las aves se mantendrán recostadas lateralmente con alas y patas extendidas, teniendo como referencia anatómica las dos últimas costillas palpables en el flanco izquierdo, siendo el inóculo introducido a través de una aguja calibre 25 con untope de goma fijado a 5mm desde la punta.

2.6 Agentes terapéuticos

Las aves del grupo 3 recibirán vía oral el producto a base de clortetraciclina en la dosis máxima de 2.5 kilogramos por tonelada de alimento balanceado por 5 días consecutivos luego del desafío (19 a 24 días de edad), mientras que, el grupo 4 recibirá el mismo producto en la dosis mínima de 1 kilogramo por tonelada por 7 días consecutivos (19 a 26 días). Las aves de los grupos 5 y 6 recibirán el producto a base de doxiciclina en las dosis de 300 y 600 gramos por tonelada de alimento respectivamente, por 5 días consecutivos luego del desafío (19 a 24 días).

2.7 Variables por evaluar

2.7.1 Mortalidad

La mortalidad causada por efecto del desafío con la bacteria en las aves será la comprendida desde las primeras 24 horas hasta los 5 y 7 días post infección (24 y 26 días de edad, según el grupo tratamiento que corresponda), con diagnóstico presuntivo a la necropsia por colibacilosis. El porcentaje de mortalidad a los 3 días post inoculación para las aves tratadas con doxiciclina tanto en su dosis mínima y máxima (300 y 600 g/Ton) será calculada sobre el del valor de la mortalidad acumulada registradas hasta esa edad. Todas las aves muertas serán necropsiadas, además, para registrar el escore de lesiones encontrados en los órganos blancos de la infección.

2.7.2 Escore de lesiones

Se realizará la necropsia de todas las aves de la mortalidad post inoculación y de las aves sobrevivientes por cada tratamiento a los 24 o 26 días de edad (5 o 7 días post desafío), evaluándose las lesiones en órganos blancos de la infección como corazón, hígado y sacos aéreos; tomando como referencia una adaptación al escore de lesiones propuesto por Goren (1978).

Corazón:

0 = No lesión.

1 = leve a moderado cantidad de fluido claro en cavidad pericárdica.

2 = excesiva cantidad de fluido claro y/u opacidad del pericardio.

3 = fluido opaco en cavidad pericárdica y /u opacidad del pericardio.

4 = material fibrinoso en cavidad pericárdica.

Hígado:

0 = no lesión.

1 = leve presencia de fibrina.

2 = moderada presencia de fibrina en la superficie del hígado.

3 = fibrina extensa definida en la superficie del hígado.

4 = Excesiva presencia de fibrina (a veces con adhesiones e hinchazón del hígado).

Sacos aéreos:

0 = no lesión;

1 = presencia leve de espuma en sacos aéreos;

2 = presencia obvia de espuma espesa, sacos aéreos resbalosos al tacto;

3 = pudrición húmeda lechosa en sacos aéreos confinados a uno solo;

4 = presencia de exudado con apariencia lechosa o de queso en los sacos aéreos.

2.7.3 Desempeño productivo

El peso vivo promedio se registrará desde el día de recepción del pollito y de forma semanal, junto con la ganancia de peso, consumo de alimento, índice de conversión alimenticia e índice de eficiencia productivo. Estas variables se medirán también a la culminación de la administración de cada tratamiento, correspondiente a los 24 y 26 días de edad (5 y 7 días post desafío).

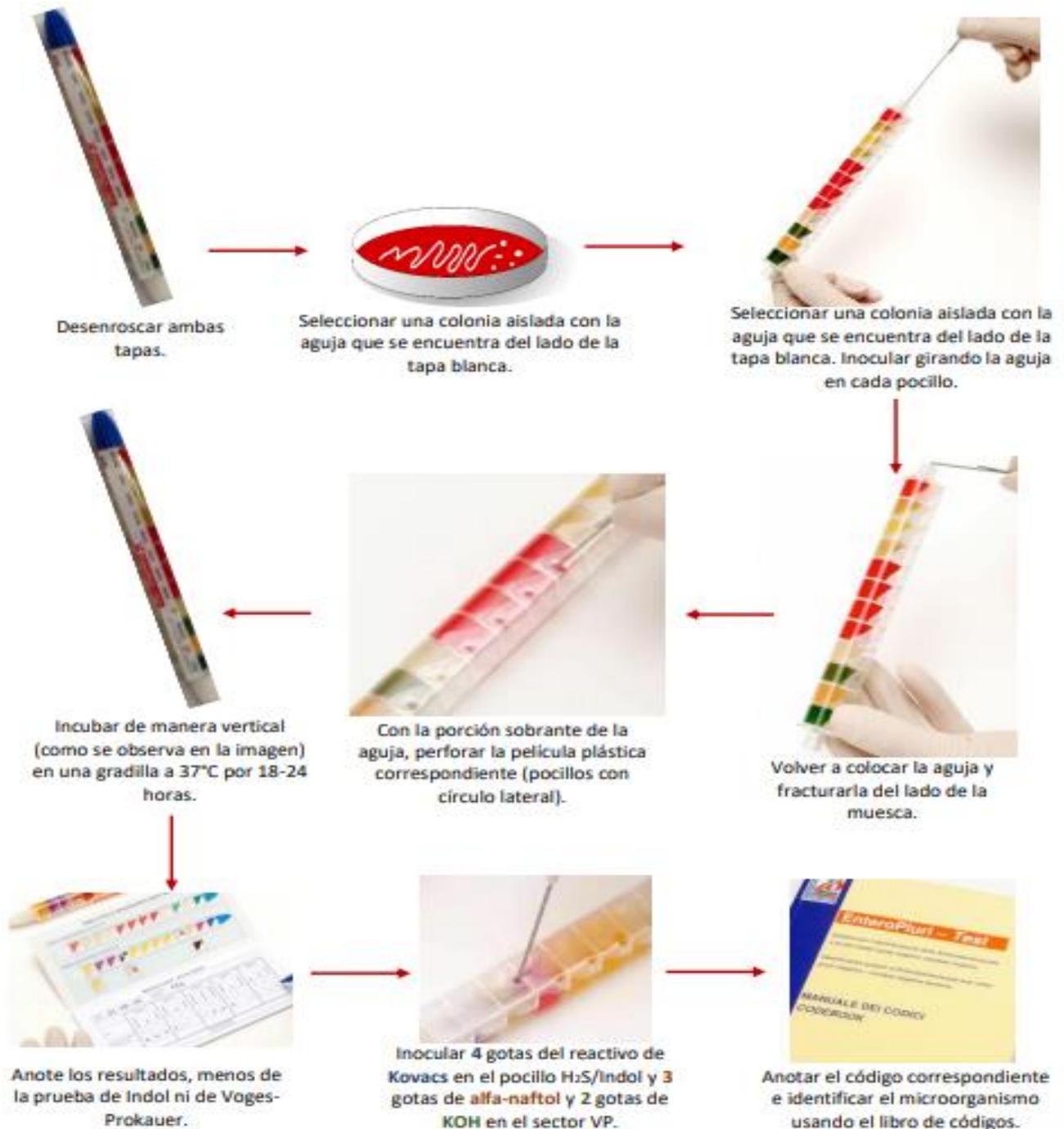
2.7.4 Aislamiento *E. coli*

Para la recuperación de la cepa infectiva de *Escherichia coli*, se tomará 1 ave por repetición en cada grupo experimental, con las lesiones más representativas de la infección, el día de la necropsia programada (día 24). En el caso del grupo control no desafiado no tratado, se tomará igual un ave al azar para descartar contaminación cruzada por *E. coli*. Para la toma de muestras se empleará torundas estériles aplicadas directamente a los órganos lesionados (sacos aéreos, hígado y corazón) para luego ser cultivadas en agares McConkey y TSA, para su diferenciación y crecimiento, respectivamente.

Anexo 3: Protocolo de Enteropluri-Test: Sistema de identificación de Enterobacterias

Marca: Diagnosis Liofilchem

Antes de iniciar: Preparar la cabina para comenzar con el ensayo y tener en placa colonias aisladas del microorganismo a analizar (todo se realiza en cabina).



Anexo 4: Crianza de pollos en galpón experimental



Crianza de pollitos BB primera semana, con comederos bandeja circular y bebederos tonguitos



Crianza de pollitos con bebederos Plasson semi-automáticos y comedero tipo tolva

Anexo 5: Desafío experimental con *E. coli* a los 18 días de edad en pollos de engorde



Kit de inoculación bacteriana



Inoculación de *E. coli* a través del saco aéreo torácico posterior izquierdo

Anexo 6: Signos clínicos en aves enfermas post- desafío con *E. coli*

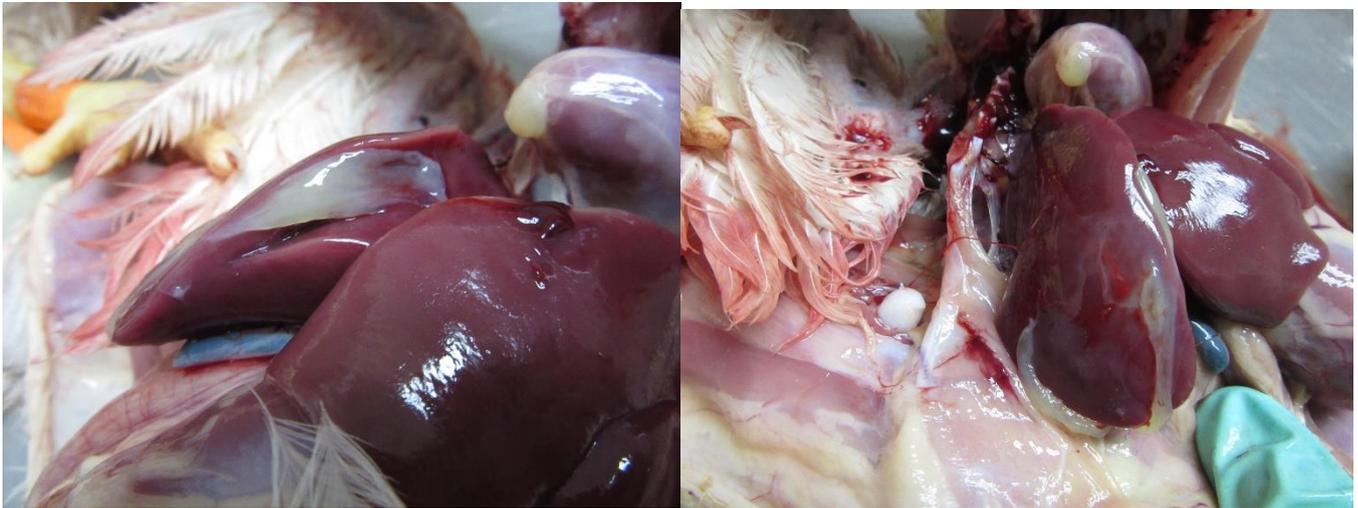


Pollos con los ojos cerrados en posición encorvada con la cabeza, el cuello y las alas caídas

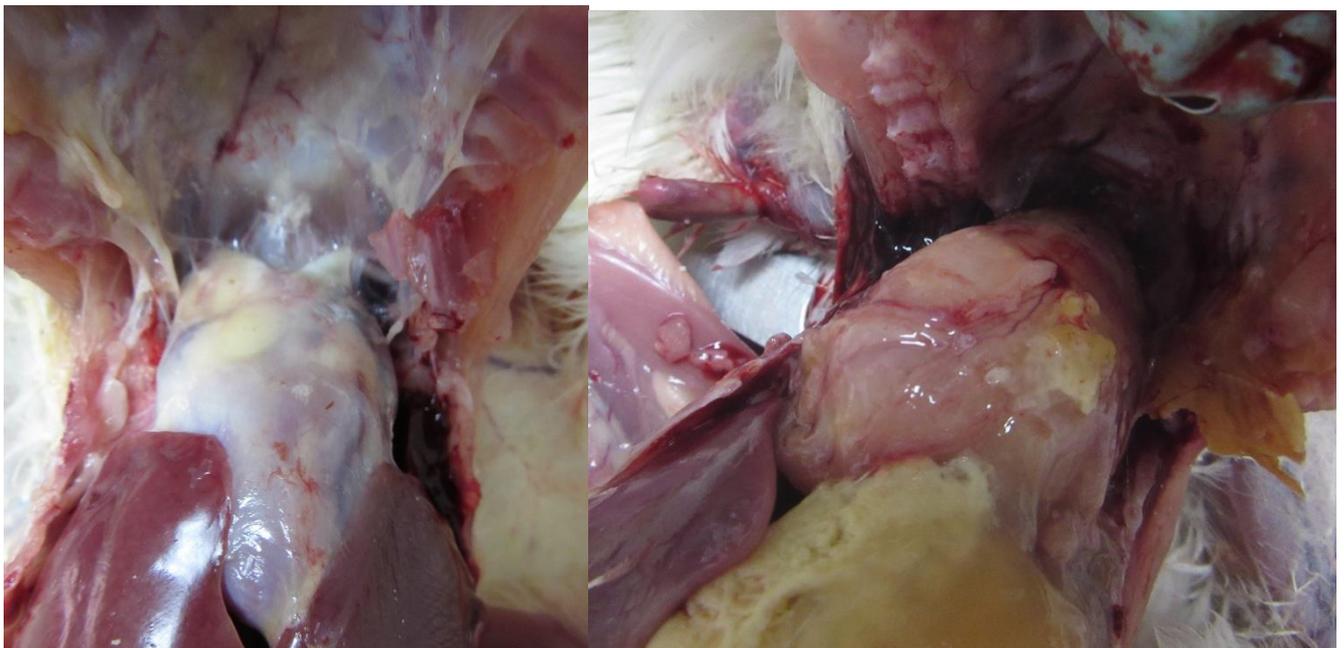


Depresión general de las aves con los ojos cerrados

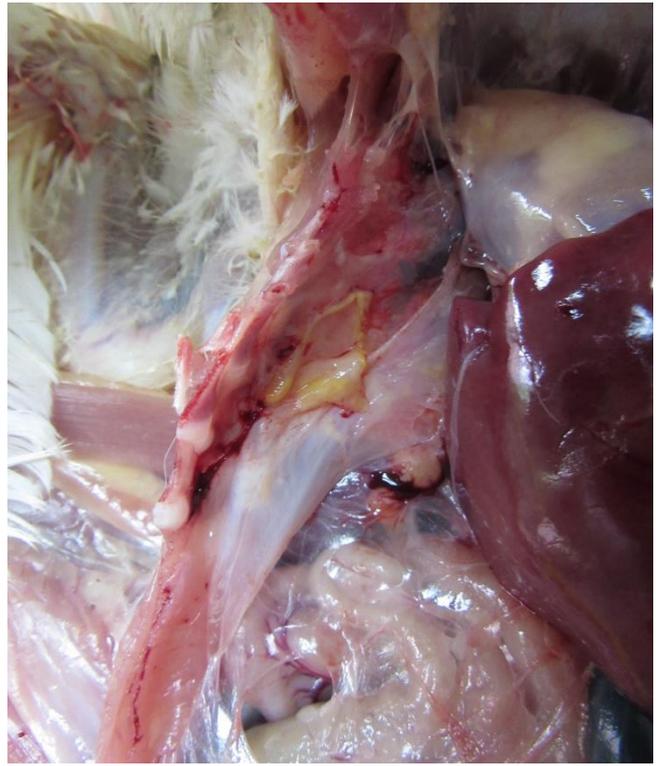
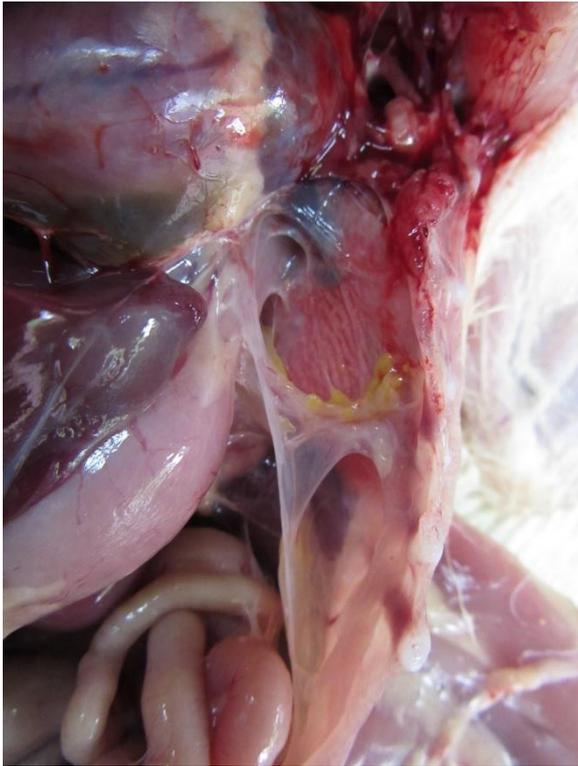
Anexo 7: Lesiones macroscópicas en órganos blancos de infección



Presencia de exudado fibrinoso en la superficie del hígado



Presencia de exudado fibrinoso en la cavidad pericárdica



Presencia de exudado fibrinoso al interior de los sacos aéreos

Anexo 8: Peso vivo

| Tratamientos | Peso vivo (g/ ave) | | | | | |
|-----------------|--------------------|--------|--------|--------|---------|---------|
| | Día 0 | Día 7 | Día 14 | Día 18 | Día 21 | Día 24 |
| T1 | 39.17 | 174.17 | 508.50 | 753.00 | 1014.50 | 1330.17 |
| T2 | 38.67 | 174.17 | 501.33 | 752.00 | 827.33 | 951.00 |
| T3 | 38.50 | 171.50 | 504.50 | 751.50 | 948.00 | 1245.00 |
| T4 | 38.67 | 174.67 | 504.17 | 746.33 | 941.83 | 1217.00 |
| <i>P- value</i> | 0.5247 | 0.3937 | 0.4971 | 0.7189 | 0.0001 | 0.0001 |

Anexo 9: Ganancia de Peso Acumulada

| Tratamientos | Ganancia de peso acumulada (g/ ave) | | | |
|-----------------|-------------------------------------|----------|----------|---------|
| | Semana 1 | Semana 2 | Semana 3 | Día 24 |
| T1 | 135.17 | 469.83 | 975.50 | 1291.33 |
| T2 | 135.50 | 462.50 | 788.67 | 912.33 |
| T3 | 133.33 | 466.00 | 909.67 | 1206.83 |
| T4 | 135.67 | 465.33 | 903.00 | 1178.17 |
| <i>P- value</i> | 0.5519 | 0.4448 | 0.0001 | 0.0001 |

Anexo 10: Consumo de Alimento Acumulado

| Tratamientos | Consumo de alimento acumulada (g/ ave) | | | |
|-----------------|--|----------|----------|---------|
| | Semana 1 | Semana 2 | Semana 3 | Día 24 |
| T1 | 148.00 | 579.17 | 1287.00 | 1683.67 |
| T2 | 145.50 | 561.83 | 1207.33 | 1533.17 |
| T3 | 145.33 | 563.83 | 1243.67 | 1630.33 |
| T4 | 147.83 | 572.50 | 1252.17 | 1638.17 |
| <i>P- value</i> | 0.6199 | 0.2414 | 0.0049 | 0.0012 |

Anexo 11: Índice de Conversión Alimenticia Acumulada

| Tratamientos | Índice de Conversión Alimenticia Acumulada (g/ ave) | | | |
|-----------------|---|----------|----------|--------|
| | Semana 1 | Semana 2 | Semana 3 | Día 24 |
| T1 | 1.09 | 1.23 | 1.32 | 1.31 |
| T2 | 1.07 | 1.22 | 1.53 | 1.68 |
| T3 | 1.09 | 1.21 | 1.37 | 1.35 |
| T4 | 1.09 | 1.23 | 1.39 | 1.39 |
| <i>P- value</i> | 0.4860 | 0.1261 | 0.0001 | 0.0001 |

Anexo 12: Índice de Eficiencia Productiva Europeo

| Tratamientos | Índice de Eficiencia Productiva Europeo | | | |
|-----------------|---|----------|----------|--------|
| | Semana 1 | Semana 2 | Semana 3 | Día 24 |
| T1 | 225.17 | 291.33 | 362.83 | 421.33 |
| T2 | 229.83 | 289.00 | 220.50 | 193.67 |
| T3 | 225.17 | 289.00 | 321.00 | 373.83 |
| T4 | 226.83 | 283.67 | 310.33 | 350.67 |
| <i>P- value</i> | 0.7729 | 0.8212 | 0.0001 | 0.0001 |

Anexo 13: Grado de lesiones en órganos de pollos muertos producto del desafío con *E. coli* por cada grupo experimental (Período de 19 a 24 días de edad).

| Órgano | Grado de lesión | Total (n = 14) | Control No desafiado, no tratado (n =13) | Desafiado tratado con doxiciclina 300 g/TM (n = 1) |
|-----------------|-----------------|-------------------|---|---|
| | | n (%) | n (%) | n (%) |
| Sacos aéreos | 0 | 1 (7.1) | 1 (7.7) | 0 (0.0) |
| | 1 | 6 (42.9) | 5 (38.5) | 1 (100.0) |
| | 2 | 2 (14.3) | 2 (15.4) | 0 (0.0) |
| | 3 | 3 (21.4) | 3 (23.1) | 0 (0.0) |
| | 4 | 2 (14.3) | 2 (15.4) | 0 (0.0) |
| Hígado | 0 | 3 (21.4) | 2 (15.4) | 1 (100.0) |
| | 1 | 6 (42.9) | 6 (46.2) | 0 (0.0) |
| | 2 | 1 (7.1) | 1 (7.7) | 0 (0.0) |
| | 3 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| | 4 | 4 (28.6) | 4 (30.8) | 0 (0.0) |
| Corazón | 0 | 4 (28.6) | 3 (23.1) | 1 (100.0) |
| | 1 | 4 (28.6) | 4 (30.8) | 0 (0.0) |
| | 2 | 1 (7.1) | 1 (7.7) | 0 (0.0) |
| | 3 | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| | 4 | 5 (35.7) | 5 (38.5) | 0 (0.0) |

Anexo 14: Grado de lesiones en órganos de pollos sobrevivientes durante el período post- desafío por cada grupo experimental (Necropsia programada al día 24).

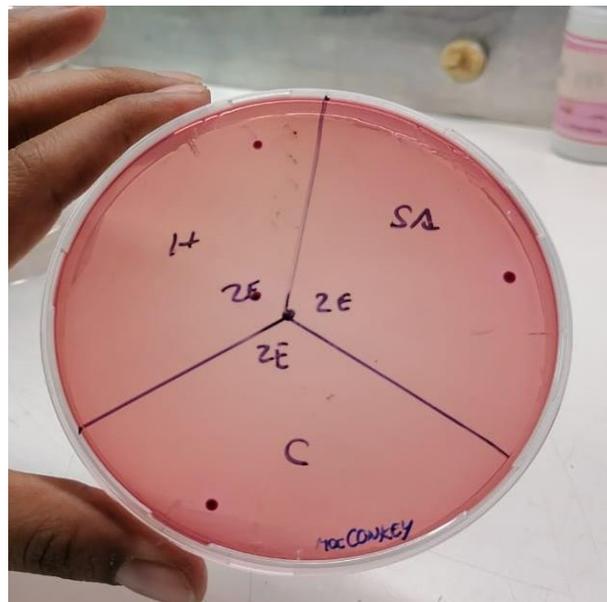
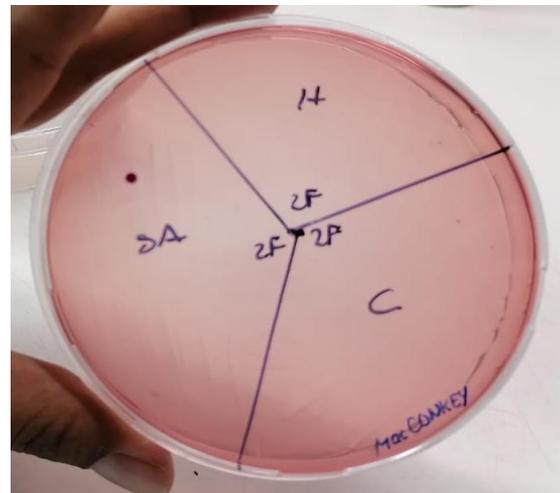
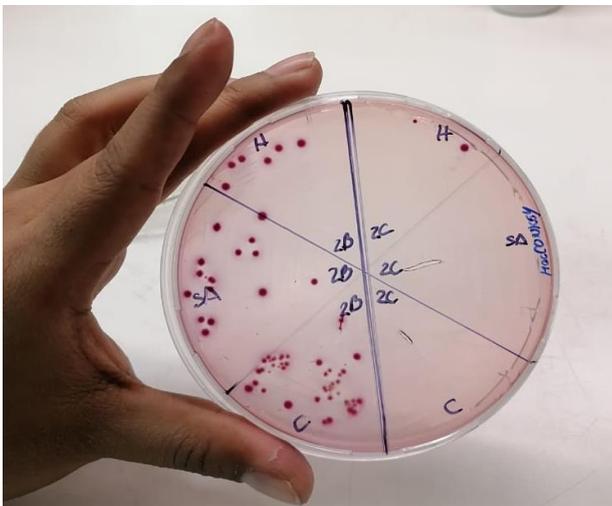
| Órgano | Grado de lesión | Total | Control No desafiado, no tratado (n = 48) | Control Desafiado, no tratado (n = 48) | Desafiado tratado con doxiciclina 600 g/TM (n = 48) | Desafiado tratado con doxiciclina 300 g/TM (n = 48) |
|--------------|-----------------|------------|---|--|---|---|
| | | | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) |
| Sacos aéreos | 0 | 85 (44.3) | 48 (100.0) | 1 (2.1) | 23 (47.9) | 13 (27.1) |
| | 1 | 51 (26.7) | 0 (0.0) | 16 (3.3) | 16 (33.3) | 19 (39.6) |
| | 2 | 41 (21.4) | 0 (0.0) | 18 (37.5) | 9 (18.8) | 14 (29.2) |
| | 3 | 12 (6.3) | 0 (0.0) | 10 (20.8) | 0 (0.0) | 2 (4.2) |
| | 4 | 3 (1.6) | 0 (0.0) | 3 (6.2) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Hígado | 0 | 113 (58.9) | 48 (100.0) | 4 (8.3) | 34 (70.8) | 27 (56.3) |
| | 1 | 65 (33.9) | 0 (0.0) | 31 (64.6) | 14 (29.2) | 20 (41.7) |
| | 2 | 12 (6.3) | 0 (0.0) | 11 (22.9) | 0 (0.0) | 1 (2.1) |
| | 3 | 1 (0.5) | 0 (0.0) | 1 (2.1) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| | 4 | 1 (0.5) | 0 (0.0) | 1 (2.1) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Corazón | 0 | 95 (49.5) | 46 (95.8) | 0 (0.0) | 23 (47.9) | 26 (54.2) |
| | 1 | 70 (36.5) | 2 (4.2) | 24 (50.0) | 23 (47.9) | 21 (43.8) |
| | 2 | 14 (7.3) | 0 (0.0) | 12 (25.0) | 2 (4.2) | 0 (0.0) |
| | 3 | 5 (2.6) | 0 (0.0) | 5 (10.4) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| | 4 | 8 (4.2) | 0 (0.0) | 7 (14.6) | 0 (0.0) | 1 (2.1) |

Anexo 15: Recuperación de la cepa infectiva de *Escherichia coli*

| Corral | Hígado | Sacos aéreos | Corazón |
|--------|--------|--------------|---------|
| 1D | - | + | + |
| 2B | + | + | + |
| 2C | + | - | - |
| 2E | + | + | + |
| 2F | - | + | - |

+ : Presencia de colonias de *E. coli*

- : Ausencia de colonias de *E. coli*



Formación de Colonias de *E. coli* en Agar McConkey tras 24 horas de incubación, aislados de corazón, hígado y sacos aéreos.