

NATÁLIA GALDI QUEL

Escherichia coli Vacuolating Factor (ECVF) como fator associado a celulite aviária

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Tomomasa Yano

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2013

RESUMO

QUEL, N. G. ***Escherichia coli* Vacuolating Factor (ECVF) como fator associado a celulite aviária.** 2013. 88 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Escherichia coli isoladas de lesões de celulite aviária em frangos de corte produzem uma citotoxina, denominada ECVF (*Escherichia coli* Vacuolating Factor), que causa intensa vacuolização citoplasmática em células de origem aviária, mas não em células de mamíferos. A importância de ECVF na patogenia da celulite foi avaliada por meio de ensaios de citotoxicidade em cultura de células e ensaios *in vivo*. ECVF purificado foi inoculado subcutaneamente em frangos de corte, e induziu alterações nos tecidos subcutâneo, adiposo e conjuntivo, com sinais de inflamação e presença de infiltrados de heterofilos, linfócitos e plasmócitos. Em ensaios de citotoxicidade, foi verificado que ECVF induz alterações no citoesqueleto e no núcleo de fibroblastos aviários, bem como apoptose, tempo-dependentes. Por microscopia eletrônica de transmissão, verificamos que ECVF induz alterações citoplasmáticas e nucleares que podem afetar diretamente o metabolismo celular, entre elas condensação da cromatina e fragmentação nuclear, intensa vacuolização citoplasmática, e desorganização do citoesqueleto e das organelas. Também foi verificada interação de ECVF com proteínas de células aviárias, em detrimento das de células de mamíferos, sugerindo uma especificidade da toxina a este tipo celular. Essas proteínas podem estar envolvidas na interação de ECVF com a célula, durante a indução de citotoxicidade que leva ao dano tecidual. Nossos resultados, apoiados por dados de estudos anteriores, permitem sugerir um importante papel de ECVF na patogenia da celulite aviária, podendo contribuir para elucidação do mecanismo de desenvolvimento da doença.

Palavras-chave: *Escherichia coli* patogênica aviária (APEC). *Escherichia coli* Vacuolating Factor (ECVF). Celulite aviária.

ABSTRACT

QUEL, N. G. ***Escherichia coli* Vacuolating Factor (ECVF) as a factor associated to avian cellulitis.** 2013. 88 f. Dissertation (Masters thesis in Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Escherichia coli isolated from cellulitis lesions in broiler chickens produce a citotoxin, called ECVF (*Escherichia coli* Vacuolating Factor), which causes intense cytoplasm vacuolization in cells of avian origin, but not in mammalian cells. The importance of ECVF in the pathogenesis of avian cellulitis was assessed by citotoxicity assays in cell culture and in vivo assays. Purified ECVF was inoculated subcutaneously in broiler chickens, and induced alterations on subcutaneous, adipose and connective tissues, with signs of inflammation and infiltrates of heterophile, lymphocytes and plasma cells. In citotoxicity assays, we verified that ECVF induced alterations at cytoskeleton and nucleus of avian fibroblasts, such as apoptosis, time-dependent. In transmission electronic microscopy, we verified that ECVF induced citoplasmic and nuclear alterations, which can affect cellular metabolism directly, including chromatin condensation and nuclear fragmentation, intense cytoplasm vacuolization, and disorganization of cytoskeleton and organelles. It was also verified the interaction of ECVF with proteins of avian cells, instead of those from mammalian cells, suggesting the specificity of this toxin to this cells. These proteins may be involved in the interaction of ECVF with the cell, during the induction of citotoxicity, which will lead to the tissue damage. Our results, supported by data from previous studies, suggest an important role of ECVF in the pathogenesis of avian cellulitis, which may contribute to the elucidation of the mechanism of disease development.

Keywords: Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Escherichia coli* Vacuolating Factor (ECVF). Avian cellulitis.

1 INTRODUÇÃO

Celulite refere-se a um processo inflamatório do tecido subcutâneo, caracterizado pela presença de placas fibrino-caseosas (JEFFREY; CHIN; SINGER, 1999; NORTON; BILGILI; MCMURTREY, 1997). Foi descrita pela primeira vez em aves por Randall, Meakins e Watt (1984) na Inglaterra e consiste em uma das maiores causas de perda econômica na avicultura de muitos países (FALLAVENA, 2000). O problema só é detectado na inspeção durante o abate e ocorre mesmo nas aves provenientes de lotes com bom desempenho. A manifestação dessa afecção está relacionada a múltiplos fatores que incluem condições de produção, tais como: nutrição, manejo, saúde e ambiência (NORTON, 1997). *Escherichia coli* tem sido o microrganismo mais comumente associado à celulite (BRITO; VIDOTTO, 2003), entretanto, outros patógenos, como *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter agglomerans*, *Proteus vulgaris* e *Streptococcus dysgalactiae*, podem estar associados à manifestação dessas lesões (NORTON; HESS, 1999).

No Brasil, a celulite é uma causa crescente de condenação de carcaças de aves. Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), dos 5,09 bilhões de aves abatidas no Brasil em 2012, 2,67% foram condenados (total e parcialmente), sendo 6,91% desses devido à celulite. Seriam 9,4 milhões de carcaças afetadas pela celulite ao ano, configurando uma das mais importantes causas de condenação, ficando atrás somente da contaminação, responsável por 30% dos descartes, contusão e dermatose, responsáveis por 12,7% e 12,5%, respectivamente (BRASIL, 2013).

O papel da *E. coli* na celulite tem sido investigado em diversos trabalhos. Estudos demonstram que a infecção por *E. coli* leva a produção de lesões de celulite em frangos de corte (NORTON; BILGILI; MCMURTREY, 1997; PEIGHAMBARI et al., 1995b). Salvadori et al. (2001) descreveram que *E. coli* isoladas de lesões de celulite aviária produzem uma citotoxina que causa intensa vacuolização citoplasmática em células de origem aviária, mas não em células de mamíferos, e a denominaram ECVF (*Escherichia coli* Vacuolating Factor). Estudos anteriores sugerem que esta citotoxina está envolvida no desenvolvimento da celulite aviária (ARAGÃO, 2010; QUEL, 2010; SALVADORI, 2003), entretanto, estudos sobre a caracterização da atividade citotóxica da ECVF, bem como o estudo do efeito da toxina *in vivo*, se faziam necessários, a fim de confirmar ECVF como um importante fator associado à patogênese da celulite aviária.

7 CONCLUSÃO

1. ECVF induz alterações citoplasmáticas e nucleares em fibroblastos aviários, incluindo desorganização das organelas e do núcleo, fragmentação nuclear, condensação da cromatina, intensa vacuolização citoplasmática e contração do citoesqueleto de actina;
2. ECVF induz apoptose em fibroblastos aviários;
3. ECVF induz lesões de celulite, a nível microscópico, nos tecidos subcutâneo, adiposo e conjuntivo de frangos de corte inoculados com a toxina purificada;
4. ECVF apresenta especificidade a células aviárias, sendo identificadas proteínas que possivelmente interagem com ECVF durante a indução de citotoxicidade que leva ao dano tecidual;

Em síntese, nossos resultados demonstram a participação de ECVF no desenvolvimento da celulite aviária. Estudos futuros permitirão elucidar o papel desta citotoxina na patogenia da doença e, assim, talvez ECVF possa ser alvo de novas drogas que previnam a celulite em frangos de corte.

REFERÊNCIAS*

REFERÊNCIAS*

- ADIRI, R. S.; GOPHNA, U.; RON, E. Z. Multilocus sequence typing (MLST) of *Escherichia coli* O78 strains. **FEMS Microbiology Letters**, v. 222, p. 199-203, 2003.
- ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: Roca, 2006. 314 p.
- ARAGÃO, A. Z. B. **Vat (vacuolating autotransporter toxin) produzida por APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*): efeitos intracelulares e distribuição filogenética**. 2010. 56f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- AUFIERO, B. M.; TSOKOS, G. C.; TSOKOS, M.; WONG, H. K. Apoptosis in tissue injury. In: TSOKOS, M. (Ed.). **Forensic pathology reviews**. Hamburg: Humana Press, 2006. v. 4, p. 331-351.
- BINGEN, E.; PICARD, B.; BRAHIMI, N.; MATHY, S.; DESJARDINS, P.; ELION, J.; DENAMUR, E. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains causing neonatal meningitis suggests horizontal gene transfer from a predominant pool of highly virulent B2 group strains. **J. Infect. Dis.**, v. 177, p. 642–650, 1998.
- BLUM, H.; BEIER, H.; GROSS, H. J. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. **Electrophoresis**. v. 8, p. 93-99, 1987.
- BOGAARD, A. E. V. D.; LONDON, N.; DRIESSEN, C.; STOBBERINGH, E. E. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers e poultry slaughters. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 47, p. 763-771, 2001.
- BONACORSI, S.; BINGEN, E., Molecular epidemiology of *Escherichia coli* causing neonatal meningitis. **Int. J. Med. Microbiol.**, v. 295, p. 373–381, 2005.
- BOYD, E. F.; HARTL, D. L. Chromosomal regions specific to pathogenic isolates of *Escherichia coli* have a phylogenetically clustered distribution. **J. Bacteriol.**, v. 180, p. 1159–1165, 1998.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248-254, 1976.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.^o 210, de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico - sanitária de carne de aves. Brasília: 1998. Publicado no Diário Oficial da União de 26/11/1998, Seção 1, p. 226. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acesso em: 27 fev. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves/>>. Acesso em: 27 fev. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2013. Disponível em:<http://sigsif.agricultura.gov.br/sigsif_cons/!sigsif.ap_condenacao_especie_rep_cons>. Acesso em: 10 out. 2013.

BRITO, B. G.; TAMEHIRO, C. Y.; OKANO, W.; LUZARDO,M. M.; BERBEL,M. M.; GUIMARÃES,I. G.. Celulite cervical em frangos de corte causada por *Escherichia coli*. **Revista Semina**, v. 23, p. 81-84, 2002.

BRITO, B. G.; VIDOTTO M. C. Clonal relationships among strains and virulence factors of avian *Escherichia coli* from cellulitis aviária. **Infection Immunity**, v. 71, p. 4175-4177, 2003.

BROKER, L. E.; KRUYT, F. A. E.; GIACCONE G. Cell death independent of caspases: a review. **Clin Cancer Res.**, v. 11, p. 3155-162, 2005.

CAMPOS, E. J. Poultry Behavior. **Rev. Bras. Cienc. Avic.**, v. 2, p. 93-113, 2000.

CARR, D.; SHAW, D.; HALVORSON, D. A.; RINGS, B.; ROEPKE, D. Excessive Mortality in Market-Age Turkeys Associated with Cellulitis. **Avian Diseases**, v. 40, p. 736-741, 1996.

CATRENICH, C. E.; CHESTNUT, M. H. Character and origin of vacuoles induced in mammalian cells by the cytotoxin of *Helicobacter pylori*. **J. Med. Microbiol.**, v. 37, p. 389-395, 1992.

CHÉRIFI, A.; CONTREPOIS, M. ; PICARD, B.; GOULLET, P.; ORSKOV, I.; ORSKOV, F. Clonal relationships among *Escherichia coli* serogroup O78 isolates from human and animal infections. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, p. 1197-1202, 1994.

CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 66, p. 4555-4558, 2000.

DERAKHSHANFAR, A.; GHANBARPOUR, R. A study on avian cellulitis in broiler chickens. **Veterinary Archive**, v. 72, p. 277-284, 2002.

DOBRINDT, U; HACKER, J. Targeting virulence traits: potential strategies to combat extraintestinal pathogenic *E. coli* infections. **Current Opinion in Microbiology**, v. 11, p. 409-413, 2008.

ELFADIL, A. A.; VAILLANCOURT, J. P.; MEEK, A. H.; JULIAN, R. J.; GYLES, C. L. Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. **Avian Diseases**, v. 40, p. 690-698, 1996.

EWERS, C.; JANBEN, T.; KIEBLING, S.; PHILIPP, H-C.; WIELER, L. H. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. **Veterinary Microbiology**, v. 104, p. 91-101, 2004.

Ewers, C.; Li, G.; Wilking, H.; Kiessling, S.; Alt, K.; Antao, E. M.; Laturnus, C.; Diehl, I.; Glodde, S.; Homeier, T.; Bohnke, U.; Steinruck, H.; Philipp, H. C.; Wieler, L. H. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? **Int. J. Med.Microbiol.**, v. 297, p.163-176, 2007.

FALLAVENA, L. C. B. Enfermidades da pele e das penas. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. (Ed.). **Doenças das aves**. Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2000. v. 4, p. 37-45.

FALLAVENA, L. C. B.; MORAES, H. L. S.; SALLE, C. T. P.; SILVA, A. B.; VARGAS, R. S.; NASCIMENTO, V. P.; CANAL, C. W. Diagnosis of skinlesions in condemned or downgraded broiler carcasses – a microscopicand macroscopic study. **Avian Pathology**, v. 29, p. 557-562, 2000.

FARBER, A.; CONNORS, J. P.; FRIEDLANDER, R. M.; WAGNER, R. J.; POWELL, R. J.; CRONENWETT, J. L. A specific inhibitor of apoptosis decreases tissue injury after intestinal ischemia-reperfusion in mice. **J. Vasc. Surg.**, v. 4, p. 752-760, 1999.

FEDDES, J. J. R.; Emmanuel, E. J.; Zuidhofe, M. J.; Korver, D. R. Ventilation rate, air circulation and BIRD disturance: Effects on the incidence of cellulitis and broiler performance. **Journal Applied Poultry Research**, v.12, p. 328-334, 2003.

FIGUEIREDO, E. A. P.; SCHMIDT, G. S.; AVILA, V. S.; JAENISCH, F. R. F.; PAIVA, D. P. 2007. Recomendações técnicas para a produção, abate, processamento e comercialização de frangos de corte coloniais. Embrapa Suínos e Aves, Sistemas de Produção, 3. ISSN 1678-8850. Versão eletrônica. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/SistemaProducaoFrangosCorteColoniais/glossario.htm#v>>. Acesso em: 16 out. 2013.

FRESHNEY, R. I. Biology of cultured cells. In: FRESHNEY, R. I. (Ed.). **Culture of animal cells**: a manual of basic technique. 5. ed. Hoboken: Wiley-Liss, 2005. v. 1, p. 31-42.

GARCIA, R. G.; MENDES, A. A.; GARCIA, E. A.; NAAS, I. A.; MOREIRA, J.; ALMEIDA, I. C. L.; TAKITA, T. S. Efeito da densidade de criação e do sexo sobre o

empenamento, incidência de lesões na carcaça e qualidade da carne de peito de frangos de corte. **Rev. Bras. Ciênc. Avíc.**, v. 4, p. 275-282, 2002.

GERMON, P.; CHEN, Y.; HE, L.; BLANCO, J. E.; BRÉE, A.; SCHOULER, C.; HUANG, S-H.; MOULIN-SCHOULEUR, M. *ibmA, a virulence factor of avian pathogenic *Escherichia coli*.* **Microbiology**, v. 151, p. 1179–1186, 2005.

GIROTTI, A. F.; AVILA, V. S. Embrapa: Sistemas de produção de frangos de corte: Importância econômica. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaodeFrangoDeCorte/Importancia-economica.html>>. Acesso em: 05 mar. 2013.

GLÜNDER, G. Dermatitis in broilers caused by *Escherichia coli*: isolation of *Escherichia coli* from field cases, reproduction of the disease with *Escherichia coli* O78:K80 and conclusion under consideration of predisposing factors. **J. Veterin. Med.**, v. 37, p. 383-391, 1990.

GOMIS, S. M.; WATTS, T.; RIDDELL, C.; POTTER, A. A.; ALLAN, B. J. Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulitis and septicemia in broiler chickens. **Avian Dis.**, v. 41, p. 234-240, 1997.

GOMIS, S. M.; GOMIS, A. I. U.; HORADAGODA, N. U.; WIJEWARDENE, T. G.; ALLAN, B. J.; POTTER, A. A. Studies on cellulitis and other disease syndromes caused by *Escherichia coli* in Broilers in Sri Lanka. **Tropical Animal Health and Production**, v. 32, p. 341-351, 2000.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A. B. Morte celular por apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 3, p. 335-343, 2007.

HORN, F.; CORRE, A. M. R.; BARBIERI, N. L.; GLODDE, S.; WEYRAUCH, K. D.; KASPERS, B.; DRIEMEIER, D.; EWERS, C.; WIELER, L. H. Infections with Avian Pathogenic and Fecal *Escherichia coli* Strains Display Similar Lung Histopathology and Macrophage Apoptosis. **PLoS One**, v. 7, p. e41031, 2012.

JEFFREY, J. S.; CHIN, R. P.; SINGER, R. S. Assessing Cellulitis Pathogenicity of *Escherichia coli* Isolates in Broiler Chickens Assessed by an in vivo Inoculation Model. **Avian Diseases**, v. 43, p. 491-496, 1999.

JOHNSON, J. R.; STELL, A. L.. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. **J. Infect. Dis.**, v. 181, p. 261–272, 2000.

JOHNSON, J. R.; DELAVARI, P.; KUSKOWSKI, M.; STELL, A. L., Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence associated traits in *Escherichia coli*. **J. Infect. Dis.**, v. 183, p. 78–88, 2001a.

JOHNSON, L. C.; BILGILI, S. F.; HOERR, F. J.; MCMURTREY, B. L.; NORTON, R. A. The influence of *Escherichia coli* strains from different sources and the age of broiler chickens on the development of cellulites. **Avian Pathology**, v. 30, p. 475-478, 2001b.

JOHNSON, J. R.; GAJEWSKI, A.; LESSE, A. J.; RUSSO, T. A., Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* as a cause of invasive nonurinary infections. **J. Clin. Microbiol.**, v. 41, p. 5798–5802, 2003.

JOHNSON, J. R.; KUSKOWSKI, M. A.; SMITH, K.; O'BRYAN, T. T.; TATINI, S. Antimicrobial-Resistant and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* in retail foods. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 191, p. 1040-1049, 2005.

JOHNSON, T. J.; KARIYAWASAM, S.; WANNEMUEHLER, Y.; MANGIAMELE, P.; JOHNSON, S. J.; DOETKOTT, C.; SKYBERG, J. A.; LYNNE, A. M.; JOHNSON, J. R.; NOLAN, L. K. The Genome Sequence of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Strain O1:K1:H7 Shares Strong Similarities with Human Extraintestinal Pathogenic *E. coli* Genomes. **Journal of Bacteriology**, v. 189, p. 3228–3236, 2007a.

JOHNSON, J. R.; SANNE, M. R.; CROY, C.; JOHNSTON, B.; CLABOTS, C.; KUSKOWSKI, M. A.; BENDER, J.; SMITH, K. E.; WINOKUR, P. L.; BELONGIA, E. A. Antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* from humans and poultry products, Minnesota and Wisconsin, 2002-2004. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 13, p. 838–846, 2007b.

JOHNSON, T. J.; WANNEMUEHLER, Y.; JOHNSON, S. J.; STELL, A. L.; DOETKOTT, C.; JOHNSON, J. R.; KIM, K. S.; SPANJAARD, L.; NOLAN, L. K. Comparison of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Strains from Human and Avian Sources Reveals a Mixed Subset Representing Potential Zoonotic Pathogens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 7043–7050, 2008.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Rev. Microbiol.**, v. 2, p. 123-140, 2004.

KERR, J. F.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **Br. J. Cancer**, v. 6, p. 239-257, 1972.

KUMOR, L. W.; OLKOWSKI, A. A.; GOMIS, S. M.; ALLAN, B. J. Cellulitis in Broiler Chickens: Epidemiological Trends, Meat Hygiene, and Possible Human Health Implications. **Avian Diseases**, v. 42, p. 285-291, 1998.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

LINTON, A. H.; HOWE, K.; BENNETT, P. M.; RICHMOND, M. H.; WHITESIDE, E. J. The colonization of the human gut by antibiotic resistant *Escherichia coli* from chickens. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 43, p. 465-469, 1977.

MALEFYT, R. W.; ALARCON, B.; YSEL, H.; SANCHO, J.; MIYAJIMA, A.; TERHORST, C. P.; SPITS, H.; VRIES, J. E. Introduction of T cell receptor (TCR)-alpha cDNA has differential effects on TCR-gamma delta/CD3 expression by PEER and Lyon-1 cells. **J Immunol.**, v.142, p. 3634-3642, 1989.

MESSIER, S.; QUESSY, S.; ROBINSON, Y.; DEVRIESE, L. A.; HOMMEZ, J.; FAIRBROTHER, J. M. Focal Dermatitis and Cellulitis in Broiler Chickens: Bacteriological and Pathological Findings. **Avian Diseases**, v. 37, p. 839-844, 1993.

MIGLIORANZA, S. G. **Influência da reutilização da cama aviária na condenação ao abate de frangos de corte**. 2011. 39 f. Monografia (Especialização “Lato Sensu” em Gestão da Cadeia Avícola) – Universidade Tuiuti do Paraná, Cascavel, 2011.

MOKADY, D.; GOPHNA, U.; RON. E. Z. Extensive gene diversity in septicemic *Escherichia coli* strains. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 66–73, 2005.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, p. 465-470, 2005.

MOULIN-SCHOULEUR, M.; REPERANT, M.; LAURENT, S.; BREE, A.; MIGNON-GRASTEAU, S.; GERMON, P.; RASSCHAERT, D.; SCHOULER, C. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, p. 3366–3376, 2007.

NAKAZATO, G.; CAMPOS, T. A.; STEHLING, E. G.; BROCCHI, M.; SILVEIRA, W. D. Virulence factors of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). **Pesq. Vet. Bras.**, v. 29, p. 479-486, 2009.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin Microbiol Rev.**, v. 11, p. 142–201, 1998. Published erratum appears in **Clin Microbiol Rev.**, v. 11, p. 403, 1998.

NETO, A. A. A.; MIRANDA, C. C. M. **Inspeção de Aves**. 2009. 76 f. Monografia (Especialização “Lato Sensu” em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Goiânia, 2009.

NORTON, R. A. Avian cellulitis. **World's Poultry Science Journal**, v. 53, p. 337-349, 1997.

NORTON, R. A.; BILGILI, S. F.; MCMURTREY, B. L. A reproducible model for the induction of avian cellulitis in broiler chickens. **Avian Dis.**, v. 41, p. 422-428, 1997.

NORTON, R. A.; HESS, J. B. Cellulitis in broiler chickens. **World's Poultry Science Journal.**, v. 12, p. 56-59, 1999.

ONDERKA, D. K.; HANSON, J. A.; MCMILLAN, K. R.; ALLAN, B. *Escherichia coli* associated cellulitis in broilers: correlation with systemic infection and microscopic visceral lesions, and evaluation for skin trimming. **Avian Dis.**, v. 41, p. 935-940, 1997.

ORDERKIRK, A. Broiler cellulitis. **Poultry Service Industry**, 1997. Disponível em: <www.gov.ns.ca/nsaf/elibrary//archive/lives/poultry/broilers/cellulit>. Acesso em: 17 ago. 2013.

OLKOWSKI, A. A.; WOJNAROWICZ, C.; CHIRINO-TREJO, M.; WURTZ, B. M.; KUMOR, L. The role of first line of defence mechanisms in the pathogenesis of cellulitis in broiler chickens: skin structural, physiological and cellular response factors. **Journal Veterinary Medicine**, v. 52, p. 517-524, 2005.

PAROLIN, M. B.; REASON, I. J. M. Apoptose como mecanismo de lesão nas doenças hepatobiliares. **Arq. Gastroenterol.**, v. 38, p. 138-144, 2001.

PARREIRA, V. R.; GYLES, C. L. A novel pathogenicity island integrated adjacent to the *thrW* tRNA gene of avian pathogenic *Escherichia coli* encodes a vacuolating autotransporter toxin. **Infect. Immun.**, v. 71, p. 5087-5096, 2003.

PEIGHAMBARI, S. M.; VAILLANCOURT, J. P.; WILSON, R. A.; GYLES, C. L. Characteristics of *Escherichia coli* isolates from avian cellulitis. **Avian Dis.**, v. 39, p. 116-124, 1995a.

PEIGHAMBARI, S. M.; JULIAN, R. J.; VAILLANCOURT, J. P.; GYLES, C. L. *Escherichia coli* cellulitis: experimental infections in broiler chickens. **Avian Dis.**, v. 39, p. 125-134, 1995b.

PICARD, B.; GARCIA, J. S.; GOURIOU, S.; DURIEZ, P.; BRAHIMI, N.; BINGEN, E.; ELION, J.; DENAMUR, E. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 546-553, 1999.

QUEL, N. G. **Estudo dos efeitos intracelulares induzidos por Vat (Vacuolating autotransporter toxin), produzida por Escherichia coli associada à celulite aviária.** 2010. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, 2010.

QUEL, N. G.; ARAGÃO, A. Z. B.; SALVADORI, M. R.; FARIA, A. S.; JOAZEIRO, P. P.; SANTOS, L. M. B.; SÁ, L. R. M.; FERREIRA, A. J. P.; YANO, T. Cellulitis lesions

in broiler chickens are induced by *Escherichia coli* Vacuolating Factor (ECVF). **Veterinary Microbiology**, v. 162, p. 866–872, 2013.

RANDALL, C. J.; MEAKINS, P. A.; WATT, D. J. A new skin disease in broilers. **Vet. Rec.**, v. 114, p. 246, 1984.

RANGANATH, R. M.; NAGASHREE, N. R. Role of programmed cell death in development. **Int Rev Cytol.**, v. 202, p. 159-242, 2001.

RENESTO, P.; SAMSON, L.; OGATA, H.; AZZA, S.; FOURQUET, P.; GORVEL, J. P.; HEINZEN, R. A.; RAOULT, D. Identification of two putative rickettsial adhesins by proteomic analysis. **Res Microbiol.**, v. 157, p. 605-612, 2006.

Revista Produção Animal – Avicultura - AviSite. 37 ed. Maio 2010. Disponível em: <www.avisite.com.br/revista>. Acesso em: 25 fev. 2013.

RODRIGUEZ-SIEK, K. E.; GIDDINGS, C. W.; DOETKOTT, C.; JOHNSON, T. J.; FAKHR, M. K.; NOLAN, L. K. Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. **Microbiology**, v. 151, p. 2097–2110, 2005.

RON, E. Z. Host specificity of septicemic *Escherichia coli*: human and avian pathogens. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 9, p. 28–32, 2006.

RUSSO, T. A.; JOHNSON, J. R. Proposal for a New Inclusive Designation for Extraintestinal Pathogenic Isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. **The Journal of Infectious Diseases**, v.181, p. 1753–1754, 2000.

SALVADORI, M. R.; YANO, T.; CARVALHO, H. F.; PARREIRA, V. R.; GYLES, C. L. Vacuolating cytotoxin produced by avian pathogenic *Escherichia coli*. **Avian Dis**, v. 45, p. 43-51, 2001.

SALVADORI, M. R. **Purificação e caracterização da ciototoxina vacuolizante (ECVF) produzida por amostras de Escherichia coli isoladas de celulite aviária.** 2003. 109 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SANTANA, A. P.; MURATA, L. S.; FREITAS, C. G.; DELPHINO, M. K.; PIMENTEL, C. M. Causes of condemnation of carcasses from poultry in slaughterhouses located in State of Goiás, Brazil. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2587-2592, 2008.

SARASTE, A.; PULKKI, K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. **Cardiovasc Res.**, v. 45, p. 528-537, 2000.

SCHERER FILHO, M. W. **Análise dos fatores que influenciam na condenação de carcaças inteiras de frango (griller).** 2009. 53 f. Trabalho de conclusão de curso

(Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SCHRADER, J. S.; Singer, R. S.; Atwill, E. R. A Prospective study of management and litter variables associated with cellulitis in California broiler flocks. **Avian Diseases**, v. 48, p. 522-530, 2004.

SEWALD, X.; GEBERT-VOGL, B.; PRASS, S.; BARWIG, I.; WEISS, E.; FABBRI, M.; OSICKA, R.; SCHIEMANN, M.; BUSCH, D.; SEMMRICH, M.; HOLZMANN, B.; SEBO, P.; HAAS, R. Integrin Subunit CD18 Is the T-Lymphocyte Receptor for the *Helicobacter pylori* Vacuolating Cytotoxin. **Cell Host & Microbe**, v. 3, p. 20-29, 2008.

SHOOTER, R. A.; ROUSSEAU, S. A.; MARY COOKE, E.; BREADEN, A. L. Animal sources of common serotypes of *Escherichia coli* in the food of hospital patients possible significance in urinary-tract infections. **The Lancet**, v. 296, p. 226-228, 1970.

SILVA, E. N.; MOTA, M. P. **Celulite em frangos de corte**. 2003. Disponível em: <http://www.fatec.com.br/trabtec/celulite_em_frangos_de_corte.htm>. Acesso em: 27 fev. 2013.

SINGER, R. S.; JEFFREY, J. S.; CARPENTER, T. E.; COOKE, C. L.; CHIN, R. P.; ATWILL, E. R.; HIRSH, D. C. Spatial heterogeneity of *Escherichia coli* DNA fingerprints isolated from cellulitis lesions in chickens. **Avian Dis.**, v. 43, p. 756-762, 1999.

SINGER, R. S.; JEFFREY, J. S.; CARPENTER, T. E.; COOKE, C. L.; ATWILL, E. R.; JOHNSON, W. O.; HIRSH, D. C. Persistence of cellulitis-associated *Escherichia coli* DNA fingerprints in successive broiler chicken flocks. **Veterinary Microbiology**, v. 75, p. 59-71, 2000.

SKYBERG, J. A.; JOHNSON, T. J.; JOHNSON, J. R.; CLABOTS, C.; LOGUE, C. M.; NOLAN, L. K. Acquisition of avian pathogenic *Escherichia coli* plasmids by a commensal *E. coli* isolate enhances its abilities to kill chicken embryos, grow in human urine, and colonize the murine kidney. **Infect. Immun.**, v. 74, p. 6287-6292, 2006.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). **Relatório anual**. 2001. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/1ee91c65c7752a5548bb5ca4c5af50b6.pdf>> Acesso em: 25 fev. 2013.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). **Relatório anual**. 2012. Disponível em: <<http://www.brazilianchicken.com.br/files/publicacoes/d220421fe22b294a31a584138b5fda95.pdf>> Acesso em: 27 fev. 2013.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). **Relatório anual.** 2013. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/732e67e684103de4a2117dda9ddd280a.pdf>> Acesso em: 07 out. 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). 2008. Disponível em: <www.usda.gov> Acesso em: 23 mar. 2013.

ZANATTA, G. F.; KANASHIRO, A. M. I. ; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; PULICI, S. C. P. Suscetibilidade de amostras de *Escherichia coli* de origem aviária a antimicrobianos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, p. 283-286, 2004.

ZAVALLA, G. Manejo de problemas locomotores em reprodutoras pesadas. **Prevent News**, v. 3, p. 1-3, 2000.