

# Associação dos quadros anatomopatológicos de colibacilose aviária com genes de virulência de *Escherichia coli*

Ana Maria Souza Almeida  
Angélica Ribeiro Araújo Leonídio  
Maria Auxiliadora Andrade

## RESUMO

*Escherichia coli* patogênica para aves é responsável por infecções que contribuem com grandes perdas econômicas na indústria avícola. Esse patótipo pode determinar diversos quadros anatomopatológicos, com destaque para aerossaculites, hepatites, onfalites e pericardites. A manifestação de diferentes quadros anatomopatológicos em aves com colibacilose pode estar associada à presença de diferentes combinações de genes de virulência. Dentre os genes de virulência mais detectados em *Escherichia coli* patogênica para aves destacam-se as estruturas antigênicas (antígeno somático O, capsular K, fimbrial F e flagelares H), *vat*, colicina V, *irp2*, *tsh*, *papC*, *iucD*, *iss* e *astA*. A presença de determinadas combinações de genes de virulência conferem as cepas maior facilidade em sobreviver, aderir, colonizar e até mesmo de desenvolver quadros septicêmicos.

**Palavras-chave:** Adesinas. Aquisição de ferro. Fimbrias. Resistência ao soro. Toxinas.

## Association of anatomopathological findings of avian colibacillosis with *Escherichia coli* virulence genes

### ABSTRACT

*Escherichia coli* pathogenic to birds is responsible for infections that contributes to great economic losses in the poultry industry. This pathotype can determine various pathological injuries, especially aerossaculites, hepatitis, onfalites and pericarditis. The manifestation of different pathological findings in birds with colibacillosis may be associated with the presence of different combinations virulence genes. Among the virulence genes most frequently detected in *Escherichia coli* pathogenic for birds are the antigenic structures (somatic O, capsular K, fimbrial F and flagellar H), *vat*, colicin V, *irp2*, *tsh*, *papC*, *IUCD*, *iss* and *astA*. The presence of certain combinations of virulence genes confer the higher strains to survive, adhere, colonize and develop septic.

**Keywords:** Adhesins. Fimbriae. Iron acquisition. Serum resistance. Toxins.

---

Ana Maria Souza Almeida – Doutoranda do programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Angélica Ribeiro Araújo Leonídio – Doutoranda do programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Maria Auxiliadora Andrade – Prof. Dra. na Universidade Federal de Goiás.

Veterinária em Foco	Canoas	v.13	n.2	p.113-131	jan./jun. 2016
---------------------	--------	------	-----	-----------	----------------

## INTRODUÇÃO

A ocorrência de enfermidades bacterianas na avicultura comercial é frequente e pode causar grande impacto na rentabilidade do setor devido a gastos adicionais com o controle, tratamento e morte de animais. Dentre essas enfermidades, destaca-se a colibacilose, que ocorre em inúmeras espécies. Criações consorciadas de diferentes espécies de aves, antibioticoterapias sem cautela e o imunocomprometimento do indivíduo são elementos que facilitam o desenvolvimento de processos infecciosos, assim como a resistência antimicrobiana e o surgimento de estirpes altamente patogênicas.

Análises epidemiológicas de uma mesma doença em espécies distintas são de grande valia para o melhor entendimento da transmissão de microrganismos, quadro clínico-patológico e profilaxia. Métodos de controle e prevenção para colibacilose aviária ainda não são totalmente eficazes devido à diversidade genética das cepas de *Escherichia coli* patogênica para aves (APEC).

Estudos para averiguar a expressão de genes de virulência e resistência são necessários para a melhor compreensão do comportamento de *E. coli*. Por meio dessas informações é possível determinar e esclarecer a patogenicidade das cepas de APEC, assim como a influência dos genes na habilidade de formação de biofilme e no Quorum sensing (mecanismo de sinalização célula-a-célula relacionado a habilidade das bactérias a responder, em conjunto, a ação de autoindutores) (LASARRE; FEDERLE, 2013; ZHOU et al., 2014).

A caracterização dos genes de virulência em APEC pode permitir, ainda, a identificação de novas linhagens que apresentam comportamento patogênico e promovem lesões específicas no organismo hospedeiro. O desenvolvimento de imunógenos também pode ser auxiliado pela caracterização do perfil de virulência de *E. coli* (MATURAMA et al., 2011; LYNNE et al., 2012).

Existem muitos relatos a respeito de infecções e detecção de genes de virulência presentes em APEC proveniente de galinhas. Entretanto, há poucas informações sobre o perfil de virulência dessa bactéria em outras espécies aviárias, assim como seu o impacto na saúde avícola e sobre elementos facilitadores da transmissão de patógenos entre diferentes espécies.

O risco de transmissão de *E. coli* entre diferentes espécies de aves foi citado por Hollmen et al. (2011) que avaliaram a prevalência e características de cepas isoladas de amostras de fezes de duas espécies de patos selvagens e da fonte de água disponível para os animais próximos a costa litorânea do Alasca. Este estudo demonstrou que a presença de APEC tanto em patos quanto no ambiente aquático próximo à costa, eleva o risco de veiculação dessa bactéria para as aves silvestres durante as invernações.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo elaborar uma revisão de literatura sobre os quadros anatomopatológicos de colibacilose em diferentes espécies de aves e associar aos principais genes de virulência envolvidos.

## DESENVOLVIMENTO

### Características gerais de *Escherichia coli*

A família *Enterobacteriaceae* é composta por diferentes microrganismos bacterianos, dentre eles *E.coli*. Esta bactéria pertence a microbiota entérica de animais e humanos. É Gram negativa, anaeróbica facultativa, não formadora de esporos, fermentativa e em sua maioria móveis (FERREIRA et al., 2009; FERREIRA; KNÖBL, 2009; GYLES; FAIRBROTHER, 2010).

As cepas de *E.coli* podem ser classificadas em patotipos, de acordo com a presença de mecanismos de virulência específicos. APEC é o patotipo envolvido com doenças em aves. Ademais, esse patotipo é composto por estruturas antigênicas que permitem a sua diferenciação sorológica pela identificação dos antígenos capsular K, somático O, fimbrial F e flagelares H (GYLES; FAIRBROTHER, 2010).

O antígeno K é um polissacarídeo capsular que possibilita a resistência das cepas bacterianas quando combatidas pelo sistema complemento. O antígeno somático O ou lipopolissacarídeo (LPS), está envolvido com a liberação de endotoxinas durante a multiplicação ou destruição do microrganismo. Antígeno fimbrial F confere especificidade de aderência de *E.coli* nos tecidos e órgãos do hospedeiro. Por fim, o antígeno flagelar H está envolvido com a movimentação da estirpe pela presença de flagelos (FERREIRA et al., 2009).

Isolados de *E.coli* relevantes na medicina humana e veterinária podem ser classificados em três grandes grupos, de acordo com as características genéticas e comportamento clínico, são eles: cepas comensais intestinais, cepas patogênicas entéricas e cepas patogênicas extraintestinais (RUSSO; JOHNSON, 2000). A maioria das cepas de *E.coli* é comensal, porém existem estirpes altamente patogênicas. É comum encontrar no trato intestinal das aves uma concentração de 10<sup>6</sup> unidades formadoras de colônias (UFC) de *E.coli* por gramas de fezes, sendo que 10 a 15% dessas são potencialmente patogênicas (BARNES et al., 2008).

### Perfil de virulência de *Escherichia coli* patogênica para aves

Cepas de uma mesma espécie bacteriana diferem-se entre si por possuírem e expressarem genes envolvidos com a adesão, invasão, colonização e expressão de mecanismos de resistência ao ambiente hospedeiro. Esses genes são encontrados em plasmídeos, bacteriófagos ou ilhas de patogenicidade (IP) (GYLES; FAIRBROTHER, 2010; VIEIRA, 2009).

A relação entre o tipo de sequência genética e os patotipos de *E.coli* ainda não é clara. Isto, provavelmente, está associado ao fato de que muitos genes pesquisados nesta espécie bacteriana são codificados em plasmídeos e outros em ilhas de patogenicidade adquiridos horizontalmente. Porém, mesmo com uma grande variabilidade de perfis de virulência, ainda existem genes conservados que podem

ser utilizados para identificar estirpes de *E.coli* (DANZEISEN et al., 2013; HUJA et al., 2015).

Em relação ao patotipo APEC, os principais fatores de virulência codificados por genes incluem adesinas, toxinas, mecanismos de aquisição de ferro e invasinas (BARNES et al. 2008). Segundo Ewers et al. (2005), os genes mais frequentes nesse patotipo são a hemaglutinina termossensível (tsh), fimbria P (papC), aerobactina (iucD), proteína “vacuolating” autotransportadora (vat), colicina V, proteína repressora de ferro (irp2), proteína de resistência ao soro (iss) e a toxina enteroagregativa (astA) que, em conjunto, desempenham funções essenciais para a infecção.

A adesão é um dos eventos iniciais da infecção e a maioria das estirpes de *E.coli* apresenta algum tipo de mecanismo de aderência (SILVEIRA et al., 2002). Existem adesinas fimbriais e afimbriais, ambas envolvidas com a invasão de APEC ao hospedeiro (RUSSO; JOHNSON, 2000). Por sua vez, a ausência desse mecanismo promove diminuição significativa na patogenicidade do agente (GIRARD et al., 2005).

As adesinas podem ter atuações e estruturas distintas de acordo com o tecido a ser infectado. A adesão inicial ao trato respiratório pela APEC é mediada por adesinas fimbriais, com destaque para fimbria tipo 1, fimbria P e curli. Já a adesão ao oviduto de aves reprodutoras é determinada apenas pela fimbria tipo 1 (GYLES; FAIRBROTHER, 2010; SZEMIAKO et al., 2013).

A adesina regulada pela temperatura, codificada pelo gene tsh, também está relacionada aos estágios iniciais da infecção respiratória. Este gene codifica proteínas termossensíveis com capacidade hemaglutinante envolvidas com a adesão à célula hospedeira e conseqüentemente com o desenvolvimento de colibacilose (KNÖBL et al., 2008; GYLES; FAIRBROTHER, 2010).

PapC é um dos genes que codifica a fimbria P, uma das adesinas mais frequentes de cepas de *E. coli*. Contudo, sua detecção não pode ser utilizada para classificação e identificação de cepas APEC, já que papC também é encontrado em *E.coli* não patogênicas (AFEC). Tal premissa pode ser reforçada pela detecção do gene papC tanto em AFEC (57,1%) quanto APEC (44,4%). Estes patotipos foram isolados de frangos de corte aparentemente saudáveis e doentes, respectivamente (MOHAMED et al., 2014).

Outro mecanismo que torna as cepas de *E.coli* mais virulentas é a produção de toxinas. Porém, APEC tendem a ser menos toxigênicas que os demais patotipos de *E.coli*, posto que enterotoxinas e verotoxinas são raramente produzidas por ela (BLANCO et al., 1997; EWERS et al., 2009). A endotoxina lipídeo A (componente do LPS presente na membrana externa da bactéria) é uma das raras toxinas produzidas por cepas de *E.coli* patogênicas para aves. Esta endotoxina é liberada durante a multiplicação ou após a morte da bactéria e atua na ativação de mediadores da inflamação e de macrófagos (FERREIRA; KNÖBL, 2009).

A toxina *autotransporter vacuolating* (IVA), codificada pelo gene *vat* é também produzida pelo patotipo. Esta tem ação citotóxica na célula hospedeira e está envolvida com o aumento da virulência das cepas de *E.coli* (BARNES et al., 2008). Outras toxinas

de importância para esse agente são as colicinas, codificadas pelo gene formador de feixes (*brp*). Estas são de natureza proteica com ação extracelular destrutiva para as células hospedeiras (WHITT; SALYERS, 2002; LLOUBES et al., 2013).

Os sideróforos (enterobactina, yersinabactina e aerobactina) são sistemas de aquisição e assimilação de ferro proveniente do hospedeiro, que realizam a remoção do ferro existente nas proteínas carreadoras. Aerobactina é o principal sistema presente em APEC e possibilita sua permanência, assim como a infecção da ave (GYLES; FAIRBROTHER, 2010). O operon aerobactina é composto por quatro genes hidroxamatos sideróforos aerobactinas (*iucABCD*) e um receptor aerobactina de captação férrica (*iutA*). Os genes *iucC* e *iutA* desempenham ação individual relevante na patogênese. Tal função foi identificada pela diminuição significativa na patogenicidade de cepas de *E.coli* com supressão desses genes perante infecção em frangos SPF (livre de patógenos específicos) (GAO et al., 2015).

A importância do sistema aerobactina na patogenicidade de *E.coli* é devidamente estabelecida. No entanto, em algumas cepas, como na APEC O2, esse sistema é incompleto pela ausência de *iucA*. Porém, nesses casos a presença de outros sistemas de aquisição e assimilação de ferro como o yersinabactina e enterobactina que tornam a captação de ferro possível (LING et al., 2013).

O gene salmochelina (*iroN*) também está envolvido com aquisição de ferro e é um dos genes de virulência comuns entre cepas de APEC isoladas de aves com colibacilose. A existência desses diferentes sistemas de aquisição e assimilação de ferro reforça a importância desse mecanismo de virulência para *E.coli* (JEONG et al., 2013).

A resistência aos efeitos nocivos do soro às bactérias é outro fator essencial para sobrevivência bacteriana durante o processo de infecção. Tanto *iss* quanto o *traT* (gene de superfície contra exclusão) são genes determinantes para a resistência sérica. Estes tornam as estirpes APEC mais resistentes aos efeitos bactericidas do sistema complemento e à fagocitose, e geralmente são detectadas em cepas envolvidas com processos septicêmicos. Tais genes são plasmidiais codificados pelo plasmídeo *colV* que, por sua vez, é um plasmídeo presente não só em isolados de APEC mas também em AFEC, porém com menor frequência nesse último (GYLES; FAIRBROTHER, 2010; MOHAMED et al., 2014).

Grande parte das cepas APEC isoladas de aves com colibacilose possui o gene *iss*. Estudos de Dissanayake et al. (2014) podem reforçar tal informação, pois detectaram *iss* em 47% dos isolados de APEC originários de frangos de corte e poedeiras comerciais doentes e em zero por cento de *E.coli* comensais. Assim como em isolados provenientes de galinhas, em que o gene *iss* foi detectado em 72,2% das aves doentes e ausente em *E.coli* isoladas das saudáveis (MOHAMED et al., 2014).

A forte associação entre *iss* e APEC, juntamente com a localização do gene na membrana externa, permite elaborar estratégias com o uso desse gene em vacinas para controle de colibacilose (JOHNSON; WANNEMUEHLER, 2008; LYNNE et al., 2012; DISSANAYAKE et al. 2014; MOHAMED et al., 2014). Estudos pilotos com vacinas

recombinantes contra colibacilose aviária baseadas no gene *iss* demonstraram imunização satisfatória. Galinhas imunizadas com glutathione-S-transferase-*iss* (GST-*iss*) induziram resposta imunoprotetora em desafios com duas estirpes de APEC distintas (LYNNE et al., 2012).

O gene *nirC*, ativado durante o crescimento anaeróbico e na presença de altas concentrações de nitrito para o metabolismo de nitrogênio por *E.coli*, também é importante para sobrevivência da bactéria no organismo hospedeiro. Este é um dos genes que podem ser utilizados para identificação de APEC já que tem alta frequência nessa estirpe (JIA et al., 2009; PAIVA et al., 2015).

Mecanismos complexos e organizados de invasão a tecidos específicos podem ser mediados pela ação de genes. Como visto no gene *ibeA*, cuja sua expressão facilita a invasão e colonização do epitélio microvascular cerebral em aves com colibacilose, além de aumentar a capacidade de formação de biofilmes pela APEC (BARNES et al., 2008; WANG et al., 2011a).

IbeR também tem influência na patogenicidade de APEC, posto que cepas mutantes, com supressão desse gene, são menos virulentas e possuem capacidade de invasão reduzida. IbeR pode ainda regular a expressão de outros genes de virulência (*aatA*, *ompA*, *iuc* e *lux*), assim como aumentar a resistência ao estresse ambiental e a capacidade de invasão (WANG et al., 2015a).

## **Relação dos quadros anatomopatológicos de colibacilose com o perfil de virulência de *Escherichia coli* patogênica para aves**

Colibacilose aviária é um termo genérico atribuído a qualquer infecção, localizada ou sistêmica, causada por infecção de *E.coli* patogênica para aves. *E.coli* é um importante patógeno, tanto como causa de doença na avicultura quanto como pelo seu provável risco à segurança alimentar (GYLES; FAIRBROTHER, 2010). Dada importância faz com que exista um amplo conhecimento clínico e laboratorial dessa bactéria, porém, equívocos ainda ocorrem em relação aos patótipos de *E.coli* assim como as e às infecções causadas por ela (RUSSO; JOHNSON, 2000).

Ainda de acordo com os últimos autores, diferente da colibacilose em mamíferos, em aves as lesões são predominantemente extraintestinais. As estirpes de *E.coli* que causam lesões fora do trato intestinal de qualquer espécie compartilham características comuns e são chamadas de *E.coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC).

Em aves, a colibacilose é considerada uma das principais enfermidades bacterianas, a qual se encontra envolvida com o aumento da mortalidade desses animais sob um sistema de criação (FOSSUM et al., 2009). A taxa de mortalidade em aves com colibacilose é variável, pois fatores como idade, imunocompetência, patógenos agravantes e patogenicidade do agente podem interferir diretamente na severidade da doença (FERREIRA; FERREIRA, 2009). Como foi observado por Oh et al. (2011) que referiram maior taxa de mortalidade (9,22%) em galinhas poedeiras com até 20 semanas de idade do que em aves mais velhas

(3,99%), demonstrando a influência da idade no número de indivíduos mortos. Devido ao sistema imunológico ainda em desenvolvimento, o organismo de aves jovens não consegue combater e eliminar a infecção pelo agente.

As diferentes formas anatomopatológicas de colibacilose (onfalite, doença respiratória crônica, salpingite, síndrome da cabeça inchada, etc), em conjunto, são consideradas como uma das doenças bacterianas mais comuns em frangos, perus e patos. Esta é responsável por perdas econômicas significativas, e frequentemente está entre as doenças mais relatadas em inquéritos epidemiológicos de saúde de aves ou em condenações em abatedouros (BARNES et al., 2008; WANG et al., 2010).

O desenvolvimento dos diferentes quadros anatomopatológicos pode estar envolvido com as condições ambientais, manejo, características de virulência das cepas, via de infecção e sistema imunológico do hospedeiro (FERREIRA et al., 2009; RAHIMI et al., 2014).

## **Onfalite**

A onfalite decorre da contaminação do ovo por fezes ou pela presença de aves reprodutoras infectadas, em que acontece a penetração de *E.coli* através da casca do ovo. Esta forma de colibacilose acomete galinhas, perus e patos, e é caracterizada por saco gema com parede edemaciada, conteúdo com coloração acastanhada e massas caseosas (FERREIRA; KNÖBL, 2009; FERREIRA et al., 2009).

*E.coli* envolvidas com infecções via ovo normalmente são avirulentas. Porém, o comportamento oportunista das cepas comensais possibilita a infecção do embrião. Tal hipótese pode ser reforçada pelo fato de que *E.coli* isoladas de pintos com onfalite apresentam poucos genes característicos de APEC, como *papA*, *tsh* e *ipfAO141* (CAMPOS et al., 2008; MATURANA et al., 2011).

## **Síndrome da cabeça inchada**

Síndrome da cabeça inchada é uma forma de colibacilose que ocorre em galinhas. Edema facial, celulite no tecido subcutâneo da cabeça e presença de exsudato caseoso de coloração amarelada no espaço aéreo dos ossos do crânio são os achados macroscópicos desse tipo de colibacilose (BARNES et al., 2008; FERREIRA; KNÖBL, 2009).

Mediante análise do material genético foi possível observar que cepas de APEC que causam síndrome da cabeça inchada são consideravelmente distintas das que causam onfalite, de acordo com a combinação dos genes de virulência. Os genes frequentes em APEC originárias de galinhas com essa síndrome são; *ipfAO154*, *fepC*, *irp2*, *fimA* e *csf* que ocorrem em 100%, 92,9%, 71,4%, 64,3% e 64,3% das cepas, respectivamente (MATURANA et al., 2011).

O gene de aquisição de ferro *nirC* também está estreitamente relacionado as cepas causadoras de síndrome da cabeça inchada em frangos, já que pode ser detectado na maioria de APEC envolvidas com esta forma de colibacilose (PAIVA et al., 2015).

## Doença respiratória crônica

Doença respiratória crônica ocorre em galinhas de quatro a nove semanas de idade e tem como complicação o desenvolvimento de processos septicêmicos. Traqueíte, aerossaculite, pericardite e perihepatite são lesões observadas. Pneumonia, pleuropneumonia e peritonite podem ocorrer em casos mais graves (FERREIRA; KNÖBL, 2009; FERREIRA et al., 2009).

Os genes codificadores de adesinas autotransportadoras, *upaB*, *aatA* e *aatB* parecem estar envolvidos com os mecanismos iniciais de infecção do sistema respiratório. Estudos realizados em cepas de APEC com gene *upaB* suprimido, demonstram atenuação significativa da virulência em patos desafiados e diminuição na colonização do pulmão. Além disso, a deleção tripla dos genes *upaB*, *aatA* e *aatB* promove ainda acentuada diminuição na adesão de cepas de *E.coli* a célula hospedeira e eleva o valor da dose letal para 50% dos animais (DL50) infectados (ZHU-GE et al., 2015).

Análises qualitativas para traçar o perfil de virulência de APEC isoladas de galinhas e frangos com doença respiratória crônica, e também com salpingite, onfalite e síndrome da cabeça inchada, revelaram que o operon *fim* pode estar presente em até 86%, *iucD* em 90%, *neuS* em 60%, *hlyA* em 34%, *tsh* em 28%, *iss* em 26%, *papEF* em 18%, *cnf 1* em 14%, *curli* em 94% e *csgA* em 26% dos isolados. Já a adesina afimbrial *afaBC* não é comumente detectada nas estirpes envolvidas com a doença. Estas implicações apoiam a afirmativa de que combinações de genes de virulência são diversificados, principalmente quando isolados de aves com diferentes tipos de colibacilose são analisados (KNÖBL et al., 2012).

## Salpingite

Salpingite é a inflamação do oviduto por infecções de APEC que resulta na diminuição da produção de ovos em galinhas, patas e gansas (BARNES et al., 2008). As rotas de infecção são por via ascendente ou por extensão da lesão pela proximidade do oviduto com os sacos aéreos (FERREIRA; KNÖBL, 2009). Ozaki et al. (2009) referem que essas rotas podem ser determinadas pelo perfil de virulência das estirpes. Em infecções ascendentes, da cloaca para o oviduto, as cepas isoladas do lúmen do oviduto não são geneticamente semelhantes aos isolados de outros órgãos (fígado e coração, principalmente). Já em lesões que decorrem da extensão de infecções sistêmicas, os isolados de fígado, coração e do trato reprodutivo possuem combinações similares de genes.



Poedeiras jovens, no início do período de postura e com 30 semanas de idade, são geralmente as mais suscetíveis a esta forma de colibacilose (FOSSUM et al., 2009). Porém, poedeiras mais velhas também podem ser acometidas, causando taxa de mortalidade até mesmo elevada. Knöbl et al. (2012) referiram que em uma avicultura de postura com 27.000 aves, a taxa de mortalidade em poedeiras jovens, 62 semanas de idade, foi menor (0,28%) do que nas aves de 68 semanas de idade (0,89%), reforçando a relação entre idade e a severidade da doença.

O perfil de virulência em galinhas poedeiras infectadas no início da postura possui frequência expressiva. Os genes *fimC*, *iss* e *iucD* são comumente encontrados, geralmente em 100% dos isolados. Os genes *cva/cvi* e *vat* ocorrem em 94,1% dos isolados, *irp2* e *flyA* em 88,2%, e *tsh* em 82,3% (OH et al., 2011).

Em surtos de salpingite em galinhas poedeiras no Japão, o perfil de virulência de APEC foi composto pelos genes *iss*, *irp2*, *iuc*, *cva/cvi* (OZAKI et al., 2009). Ademais, combinações similares de genes também foram detectados em aviculturas dinamarquesas. Até 60% das cepas de APEC oriundas de 68 matrizes de corte com salpingite e peritonite apresentaram os genes *iss*, *iucD*, *cvi/cva*, *fimH*, *traT*, *sitA*, *iroN*, *fyuA*, *iva* e *kpsMTII* (PIRES DOS SANTOS et al., 2013).

Análises realizadas no Brasil para avaliar a ação da fimbria tipo 1, fimbria S e fimbria P na invasão e colonização de APEC do oviduto em matrizes de corte de até 45 semanas de idade com salpingite, mostraram que a fimbria tipo 1 desempenha papel importante na infecção por *E.coli*. Entretanto, as fimbrias S e P não possuem ação determinante para adesão ao oviduto (MONROY et al., 2005).

O comportamento de estirpes de APEC envolvidas com salpingite e salpingoperitonite em matrizes de corte também pode ser elucidado pelo estudo dos genes. A partir da determinação da taxa de mutação de resistência à rifampicina em APEC, Santos et al. (2014) notaram que o aumento dos eventos mutacionais decorre de um processo de adaptação do agente, como visto em casos de infecções crônicas do oviduto.

## Celulite

Celulite aviária é uma das principais causas de condenação de carcaças no Brasil, podendo atingir valores significativos como 51,20% do total de condenações em um abatedouro. Estirpes de *E.coli* podem estar envolvidas como agente etiológico em até 85% dos casos de celulite em frangos de corte, atribuindo essa bactéria como a principal causa da lesão (GIRARD et al., 2005; SANTANA et al., 2008; BARROS et al., 2013; SANTOS et al., 2014).

Esta forma de colibacilose é descrita principalmente em frangos de corte de criação intensiva. As lesões ocorrem no tecido subcutâneo, com predomínio da região abdominal e apresentam acúmulo de exsudato caseoso (BARNES et al., 2008).

O aumento da incidência da celulite pode estar associado a erros de manejo como, por exemplo, superlotação. A septicemia é uma das complicações mais graves dessa enfermidade, sendo relatada principalmente em frangos infectados nos primeiros dias de vida (NORTON et al., 2000; GIRARD et al., 2005).

Uma análise comparativa realizada entre frangos com celulite e colisepticemia demonstrou perfil distinto de virulência entre esses quadros de colibacilose. Os genes *tsh*, *iutA* e *afa* são frequentes em *E.coli* envolvidas com casos de celulite. No entanto, os genes *iva*, *fyuA*, *irp2*, *kpsMT II*, *fliC* e *ibeA* são comumente detectados em APEC envolvidas com processos sistêmicos. Dentre os genes presentes em APEC, *iss* tem demonstrado uma estreita relação com os casos de celulite (RODRIGUEZ-SIEK et al., 2005; BARROS et al., 2013).

Esta forma de colibacilose também está associada a cepas de *E.coli* multirresistentes. Tal fato é preocupante tanto para saúde animal como humana, posto que a presença de estirpes de *E.coli* multirresistentes originárias de frangos com lesões no tecido subcutâneo podem se tornar um risco de veiculação de resistência a partir de carcaças de frangos (SANTOS et al., 2014).

A hipótese de que isolados de *E.coli* presentes em carcaças e cortes de frango podem transferir genes virulência e resistência para ExPEC humana sugere a existência de cepas com capacidade zoonótica presentes em produtos derivados de frangos. A genotipagem para análise da virulência de *E.coli* de origem aviária e de origem humana ainda não possui parâmetros consolidados, até mesmo para distingui-las. Uma das suposições para tal fato baseia-se no grande número de genes de virulência contidos no plasmídeo colV, que pode ser transmitido horizontalmente e é encontrado em todos os grupos filogenéticos de *E.coli* (DANZEISEN et al., 2013).

## **Doença do proventrículo negro**

O proventrículo negro é uma apresentação rara de colibacilose. Esta é decorrente de infecções por APEC de um sorogrupo incomum, o O142. A taxa de mortalidade é elevada, podendo chegar a 100% e as matrizes jovens são as mais sensíveis. As lesões macroscópicas são; fígado aumentado de volume e escuro, deposição de fibrina na superfície do fígado, pericárdio edemaciado, opaco e com presença de franjas de fibrina, sacos aéreos opacos e espessados, além do proventrículo com coloração enegrecida (WANG et al., 2015b).

Inúmeros genes estão associados a esta enfermidade como *iuc*, *iva*, *iss*, *traT*, *sitA*, *sfs*, *pap*, *ompT*, *fimH*, *afa*, *cva*. Ademais, acredita-se em uma possível predileção de colonização de determinados órgãos por cepas de APEC positivas ou negativas para o gene *feoB*. Esta premissa fundamentou-se no fato que o gene *feoB* (envolvido com a aquisição de ferro), foi o único fator de virulência que diferiu entre APEC O142 isoladas de proventriculos e do coração em aves doentes (órgão mais acometidos). Outros 32 genes foram testados e apresentaram frequência semelhante entre os órgãos (WANG et al., 2015b).

## Colisepticemia

Em patos, a colibacilose é comumente caracterizada por aerossaculite, pericardite, peritonite ou septicemia (WANG et al., 2010). Dentre as diferentes espécies aviárias, a forma septicêmica ou colisepticemia é comum em aves aquáticas. Patos e gansos jovens são os mais acometidos e os surtos estão geralmente relacionados a criações sem manejo adequado ou que tem acesso à água contaminada. Devido a fragilidade do sistema imune, aves jovens são mais propensas a desenvolver quadros septicêmico como a colisepticemia (MILLER et al., 2004).

Deposição de material úmido, granular, com aspecto de coalhada e odor característico nos sacos aéreos, pericárdio e superfície do fígado são os principais achados macroscópicos encontrados em patos com septicemia por infecções de APEC (BARNES et al., 2008).

Entre os principais fatores de virulência presentes em estipes de APEC envolvidas com colisepticemia destaca-se expressão dos genes *pap* em conjunto com *hly* (alfa-hemolisina) e o gene *ibe* (WANG et al., 2011a; SZEMIAKO et al., 2013; WANG et al., 2015a).

APEC isoladas de cérebro de patos com quadro neurológico usualmente albergam o gene *ibeR*, o qual está envolvido com outros fatores ligados à septicemia. Este gene além de induzir a produção de anticorpos em patos infectados, sugerindo seu envolvimento com a patogenicidade de APEC, atua na regulação da expressão dos genes de virulência *ompA*, *aatA*, *iuc* e *luxS*. A invasão do epitélio microvascular cerebral e do líquido cerebrospinal também é facilitada pela expressão do gene *ibeR*. Em casos de patos desafiados por estirpes de APEC com *ibeR* inativado, a capacidade de invasão e virulência é reduzida assim como influência na expressão de outros genes é menor (WANG et al., 2015a).

Patos desafiados com cepas mutantes de APEC (gene *ibeA* deletado) necessitam de dose letal maior para causar a doença e um menor número de unidades formadoras de colônias (UFC) são encontradas nos pulmões e cérebro, reforçando a relação do gene aos processos septicêmicos (WANG et al., 2011a).

A fim de investigar a epidemiologia da bactéria, APEC isoladas de amostras de patos infectados experimentalmente e de *E. coli* isoladas de fezes de patos clinicamente saudáveis (comensais) foram colhidas e analisadas perante seu perfil de virulência. Alguns genes de virulência podem estar estreitamente relacionados à patogenicidade de *E. coli* isoladas de patos como os genes *stx1*, *eaeA*, *hlyA*, *ibeA*. No entanto, o gene *stx2* não está relacionado a ambos os tipos de *E. coli* já que não foi detectado em APEC e nas cepas *E. coli* comensais. Outra taxa de detecção que diferiu foi a prevalência dos genes *hlyE*, *fimC*, *iss*, *ompA*, *irp2*, *fyuA*, *rfaH* e *beta* que foi significativamente maior em APEC do que em *E. coli* comensais (WANG et al., 2010).

Dentre os quadros específicos de colibaciloses de caráter sistêmico, está a coligranuloma ou doença de Hjarre. Forma rara de colibacilose sistêmica, que acomete galinhas e perus, caracterizada por múltiplos granulomas no parênquima hepático, mesentério, ceco e duodeno. Perus podem desenvolver uma forma mais grave com

presença de hepatite e tífite piogranulomatosa. Lotes atingidos podem apresentar taxas de mortalidade de até 75% (BARNES et al., 2008; FERREIRA et al., 2009).

Perus podem apresentar, ainda, outra forma especial de septicemia, a chamada septicemia hemorrágica aguda. Esta doença é caracterizada por lesões septicêmicas caracterizadas de distúrbios circulatórios generalizados, descoloração da gordura subserosa, hepatomegalia, esplenomegalia, rins aumentados de tamanho, acúmulo de sangue e edema dos pulmões e acúmulo de exsudato serohemorrágico nas superfícies serosas (OLSEN et al., 2011).

O desenvolvimento desta doença é estreitamente relacionado a combinações específicas de genes de virulência em APEC. Os genes associados à Septicemia hemorrágica aguda são *pili* F11, *iucD*, *iss*, *tsh*, colicina V (*cva/cvi*) seguidos por *astA*, *vtx/stx* (verotoxinas), *irp2*, *papC*, *ipaH*, EASY1 e *eae*. Tal perfil sugere que além de uma combinação altamente virulenta, estas cepas de APEC podem ser vinculadas a um tipo de lesão característica de colibacilose em perus (OLSEN et al., 2011).

Além da Septicemia hemorrágica dos perus existe também a colisepticemia de origem entérica, que é um quadro de colibacilose frequente em perus. Esta doença necessita de um agente predisponente como o vírus da enterite hemorrágica para causar a injúria primária. Congestão ou coloração esverdeada no fígado, baço congesto e aumentado de tamanho, além de musculatura congesta, caracterizam esse quadro (BARNES et al., 2008; FERREIRA et al., 2009).

Dentre as diferentes formas de colibacilose, as cepas de APEC responsáveis por causar colisepticemia são as que possuem o perfil de virulência mais variável. A aparente diversidade de estirpes que provocam septicemia pode repletir na falta de identificação de um conjunto específico de genes de virulência entre essas linhagens (MATURANA et al., 2011).

Das cinquenta e duas *E.coli* obtidas a partir de lesões colisepticêmicas em frangos de corte com sete semanas de idade, trinta e oito apresentaram alta virulência e quatorze eram praticamente avirulentas. Os isolados apresentaram em média 14,2 genes, incluindo *fimC*, *csgA*, *crfA* (presente em 100% dos isolados), *cvl/cva*, *iroN*, *iss*, *iucD*, *sitD*, *traT*, *tsh* (86 até 36%) (BARBIERI et al., 2015).

*Tsh* e *iss* e também os genes *iutA*, *felA*, *ompT*, e *frz* podem estar envolvidos com o desenvolvimento de infecção sistêmica, posto que estes genes foram detectados em cepas de *E.coli* aviária originárias de surtos de colisepticemia e ausentes em cepas isoladas de galinhas saudáveis (DISSANAYAKE et al., 2014).

Em pesquisas realizadas para detecção dos genes presentes no plasmídeo *coIV* (*iroN*, *ompT*, *hlyF*, *iss* e *iutA*), ligado as cepas virulentas de APEC, foram analisados isolados de *E.coli* oriundos de diferentes origens. Como esperado, a frequência dos genes ligados ao plasmídeo *coIV* foi maior nos isolados de APEC (composto por dois ou mais genes) do que em AFEC e *E.coli* isoladas de cama de aviário de aves aparentemente saudáveis (zero ou um gene), demonstrando uma associação maior desse plasmídeo com *E.coli* patogênicas (OLIVEIRA et al., 2015).

Combinações específicas de genes também podem ser utilizadas para diferenciar cepas patogênicas das comensais. Dissanayake et al. (2014) referiram que a combinação dos genes *sitAP+ompT+hlyF+iroN+* está intimamente associada a *E.coli* isoladas de aves com septicemia e ausente em cepas comensais. Este achado sugere a importância desse arranjo de virulência em processos septicêmicos e revela que a presença desses genes pode ser utilizada para identificar cepas de APEC de alta patogenicidade.

Uma análise realizada por Barbieri et al. (2012) para caracterizar cepas de *E.coli* isoladas de aves silvestres com colisepticemia, revelou o envolvimento de uma linhagem até então tida como avirulenta (comuns à microbiota de pintos saudáveis com um dia de vida) com casos de septicemia. Essa linhagem de *E.coli*, apresentou genes de virulência comuns às cepas altamente virulentas, como *csgA*, *crl*, *fimC*, *mat*, *iroN*, *iucD*, *sitD*; *cvi/cva*, *iss*, *ompA* e *traT*. Tal fato sugere que linhagens de *E.coli* podem apresentar perfil mais virulento em uma espécie aviária do que em outra.

## Complexo osteomielite

O complexo de osteomielite dos perus é uma forma de colibacilose comum a essa espécie, resultante de inflamações ósseas, articulares e nos tecidos moles periarticulares (BARNES et al. 2008). *E.coli* relacionada a este complexo também possui combinações de genes relacionadas a estirpes altamente patogênicas (GIOVANARDI et al., 2013).

De acordo com Giovanardi et al. (2013), os genes *iutA*, *iucD*, *fyuA*, *irp2*, *hlyF*, *iss*, *iroN*, *ompT*, *tsh* e *fimC* são comuns nesse quadro de colibacilose e o gene *papC* é infrequente em APEC isoladas de exsudato presente na região coxofemoral e articulações tibiotarsais de perus doentes.

## Poliserosite fibrinosa

A poliserosite fibrinosa acomete principalmente galinhas, perus e patos. Pericardite, perihepatite e aerossaculite fibrinosas são as lesões encontradas nessa forma de colibacilose (BARNES et al., 2008). Lesões graves em casos de septicemia e poliserosite fibrinosa podem estar associados à morte súbita, em que as aves infectadas não apresentam nenhum sinal clínico prévio (OH et al., 2011).

Os genes *cvaC*, *iroN*, *iss*, *iutA*, *sitA*, *tsh*, *fyuA*, *irp2* e *ompT* são comumente detectados em APEC responsáveis por poliserosite em frangos e perus. Assim como os genes *afa*, *papEF*, *papC*, *papG*, *sfa*, *ireA*, *kpsMT* e *ibeA*, entretanto esses possuem frequência variável entre as estirpes. O operon aerobactina também é frequente, e entre os genes que o compõe, destaca-se o gene *iutA* que ocorre significativamente mais em APEC do que em AFEC (RODRIGUEZ-SIEK et al., 2005).

Os genes *iutA*, *fimH* e *hlyF* foram os mais frequentes entre isolados de APEC obtida de aves com colibacilose no Zimbábue. Os genes *iva*, *sitA*, *sitD* e operon *frz*

também foram detectados nesses isolados porém com menor frequência (MBANGA; NYARARAI, 2015).

A importância dos mecanismos ligados à aquisição de ferro, à resistência ao soro e à aderência ao hospedeiro foi demonstrada pela frequência dos genes detectados em frangos com colibacilose na Korea. A frequência de detecção de genes foi *iroN* (100%), *ompT* (94,1%), *fimC* (90,1%), *hlyF* (87,1%), *iss* (78,25%), *iucD* (73,3%), *tsh* (61,4%), *fyuA* (44,6%) e *irp2* (43,6%). Entre a detecção desses genes, as combinações *iroN+fimC+ompT+hlyF+iucD+iss+fyuA+*, *irp2+tsh+*, *iroN+fimC+ompT+hlyF+iucD+iss+ tsh+* e *iroN+fimC+ompT+hlyF+iss+* foram as mais frequentes, com 22,8%, 21,8% e 11,9% respectivamente (JEONG et al., 2012).

Em um estudo comparativo realizado para detectar diferenças na distribuição de genes de APEC isoladas de frangos e perus, os genes *cvaC*, *iss*, *iucC*, *traT*, *tsh*, *papC*, *papE*, *papF*, *papG*, *kpsMT* e *cdtB* foram significativamente mais prevalentes em perus. Com destaque aos genes *papE*, *papF* e *papG* que foram encontrados em 54% das APEC isoladas de perus e em apenas um terço das isoladas de frangos. Os genes mais frequentes em *E.coli* isoladas de frangos com colibacilose foram *iss*, *iroN* e *afa* (RODRIGUEZ-SIEK et al., 2005).

Diante da caracterização de cepas de APEC, entende-se que os vários genes presentes nesse patotipo codificam substâncias envolvidas com funções essenciais para a infecção. A deleção específica de um ou mais genes, como os envolvidos na sobrevivência ao efeito bactericida do soro ou na aderência a célula hospedeira, tornam as bactérias menos virulentas. Isto infere a possibilidade de que medicamentos específicos e vacinas possam ser desenvolvidos com ação contra esses fatores críticos (JEONG et al., 2012; WANG et al., 2011b; HUJA et al., 2015).

Vacinas contra APEC com proteínas recombinantes de *upaB*, *aatA* e *aatB*, conferiram proteção contra a cepa DE205B em patos desafiados aos sete dias de vida. Ademais, a importância de *upaB* contra desafios subsequentes foi comprovada pela elevação da produção de anticorpos durante a infecção de patos com colisepticemia (ZHU-GE et al., 2015).

Perus vacinados contra colibacilose também desenvolvem proteção satisfatória contra APEC. Como referido por Ahmed et al. (2012) que citam que perus não vacinados são incapazes de resistir a desafios por APEC. Essa premissa é sugerida, pois esses autores recuperaram proporções máximas de até 30% de *E.coli* a partir do sangue, fígado, baço e medula óssea de perus vacinados e proporções até 86% em aves não vacinadas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Infecções por *E. coli* provocam perdas econômicas significativas na avicultura. Estas perdas são particularmente elevadas em casos de colibacilose, pela característica dessa enfermidade de atingir diversas espécies aviárias e provocar diferentes quadros anatomopatológicos.

Sabe-se que a expressão de genes de virulência e resistência desencadeia diferentes mecanismos necessários para adesão, invasão e colonização do organismo hospedeiro. A diversidade genética e as relações de virulência entre as cepas de APEC refletem a complexidade das diferentes formas de colibacilose. Pois mesmo que existam inúmeras linhas de pesquisas a fim de determinar perfis de virulência que possam ser vinculados a cada quadro anatomopatológico de colibacilose, ainda não foi possível elucidar tal particularidade.

Essa alta diversidade genética entre cepas de APEC isolada de aves com colibacilose, resulta em desafios significativos no controle de infecções. Porém, o conhecimento sobre o envolvimento dos genes nas diferentes etapas da infecção pode auxiliar no desenvolvimento de medicamentos e vacinas eficazes.

Ademais, existem muitos estudos a respeito da detecção dos genes de virulência em APEC isoladas de frangos com colibacilose. Porém, o conhecimento a respeito da presença de genes em *E. coli* isoladas de outras espécies de aves, assim como seu envolvimento na cadeia epidemiológica da APEC, ainda é escasso.

## REFERÊNCIAS

- AHMED, H. A.; MEKKY, H. M.; EL-SADEK, G. M. Studies on vaccination of turkey against *Escherichia coli* infection. *Global Veterinaria*, v.8, n.1, p.601-604, 2012.
- BARBIERI, N. L.; TEJKOWSKI, T. M.; DE OLIVEIRA, A. L.; DE BRITO, B. G.; HORN, F. Characterization of extraintestinal *Escherichia coli* isolated from a peacock (*Pavo cristatus*) with colisepticemia. *Avian Diseases*, v.56, n.2, p.436-440, 2012.
- BARBIERI, N. L.; OLIVEIRA, A. L.; TEJKOWSKI, T. M.; PAVANELO, D. B.; MATTER, L. B.; PINHEIRO, S. R.; VAZ, T.M.; NOLAN, L. K.; LOQUE, C. M.; DE BRITO, B. G.; HORN, F. Molecular characterization and clonal relationships among *Escherichia coli* strains isolated from broiler chickens with Colisepticemia. *Foodborne Pathogens and Diseases*, v.12, n.1, p.74-83, 2015.
- BARNES, H. J.; NOLAN, L. K.; VAILLANCOURT, J. Colibacillosis. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. *Diseases of poultry*. 12.ed. Iowa: Iowa State University Press, p.691-738, 2008.
- BARROS, L. S. S.; SILVA, R. M.; SILVA, A. M.; BALIZA, M. D.; VIRGÍLIO, F. F. *Escherichia coli* from cellulitis lesions in broilers. *Journal of Food Measurement and Characterization*, v.7, n.1, p.40-45, 2013.
- BLANCO, J. E.; BLANCO, M.; MORA, A.; BLANCO, J. Production of toxins (enterotoxins, verotoxins, and necrotoxins) and colicins by *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens: Relationship with in vivo pathogenicity. *Journal of Clinical Microbiology*, v.35, n.11, p.2953-2957, 1997.
- CAMPOS, T. A.; LAGO, J. C.; NAKAZATO, G.; STEHLING, E. G.; BROCCCHI, M.; PESTANA DE CASTRO, A. F.; DA SILVEIRA, W. D. Occurrence of virulence-related sequences and phylogenetic analysis of commensal and pathogenic avian *Escherichia coli* strains (APEC). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.28, n.10, p.533-540, 2008.

DANZEISEN, J. L.; WANNEMUEHLER, Y.; NOLAN, L. K.; JOHNSON, T. J. Comparison of multilocus sequence analysis and virulence genotyping of *Escherichia coli* from live birds, retail poultry meat, and human extraintestinal infection. *Avian Diseases*, v.57, n.1, p.104-108, 2013.

DISSANAYAKE, D. R. A.; OCTAVIA, S.; LAN, R. Population structure and virulence content of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from outbreaks in Sri Lanka. *Veterinary Microbiology*, v.168, n.2-4, p.403-412, 2014.

EWERS, C.; JANSSEN, T.; KIESSLING, S.; PHILIPP, H. C.; WIELER, L. H. Rapid detection of virulence-associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *Avian Diseases*, v.49, n.2, p.269-273, 2005.

FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. Enfermidades bacterianas. In: JÚNIOR BERCHIERI, A.; SILVA, NEPOMUCENO, E.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. *Doenças das aves*. 2.ed. Campinas: Facta. 2009. p.457-474.

FERREIRA, A. J. P., REVOLLEDO, L.; FERREIRA, C. S. A. Colibacilose. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A. J. P. *Patologia aviária*. Cap. 7. Barueri: Manole Ltda., 2009. p.67-74.

FOSSUM, O.; JANSSON, D. S.; ETTERLIN, P. E.; VAGSHOLM, I. Causes of mortality in laying hens in different housing systems in 2001 to 2004. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.51, n.3, 2009.

GAO, Q.; JIA, X.; WANG, X.; XIONG, L.; GAO, S.; LIU, X. The avian pathogenic *Escherichia coli* O2 strain E058 carrying the defined aerobactin-defective iucD or iucDiutA mutation is less virulent in the chicken. *Infection, Genetics and Evolution*, v.30, p.267-277, 2015.

GIOVANARDI, D.; LUPINI, C.; PESENTE, P.; ROSSI, G.; ORTALI, G.; CATELLI, E. Characterization and antimicrobial resistance analysis of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from Italian turkey flocks. *Poultry Science*, v.92, n.10, p.2661-2667, 2013.

GIRARD, F.; BATHISSON, I.; FRANKEL, G. M.; HAREL, J.; FAIRBROTHER, J. M. Interaction of enteropathogenic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and porcine intestinal mucosa: Role of intimin and Tir in adherence. *Infection and Immunity*, v.73, n.9, p.6005-6016, 2005.

GYLES, C. L.; FAIRBROTHER, J. M. *Escherichia coli*. In: GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J. G.; THOEN, C. O. *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. 4.ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2010. p.266-308.

HOLLMEN, T. E.; DEBROY, C.; FLINT, P. L.; SAFINE, D. E.; SCHAMBER, J. L.; RIDDLE, A. E.; TRUST, K. A. Molecular typing of *Escherichia coli* strains associated with threatened sea ducks and near-shore marine habitats of south-west Alaska. *Environmental Microbiology Report*, v.3, n.2, p.262-269, 2011.

HUJA, S.; OREN, Y.; TROST, E.; BRZUSZKIEWICZ, E.; BIRAN, D.; BLOM, J.; GOESMANN, A.; GOTTSCHALK, G.; HACKER, J.; RON, E. L.; DOBRINDT, U. Genomic Avenue to Avian Colisepticemia. *Mbio*, v.6, n.1, p.1-10, 2015.

JEONG, Y-W; KIM, T-E; KIM, J-H; KWON, H-J. Pathotyping avian pathogenic *Escherichia coli* strains in Korea. *Journal of Veterinary Science*, v.13, n.2, p.145-152, 2012.

JIA, W.; TOVELL, N.; CLEGG, S.; TRIMMER, M.; COLE, J. A single channel for nitrate



uptake, nitrite export and nitrite uptake by *Escherichia coli* NarU and a role for NirC in nitrite export and uptake. *Biochemical Journal*, v.417, p.297-304, 2009.

JOHNSON, T. J.; WANNEMUEHLER, Y. M.; NOLAN, L. K. Evolution of the iss Gene in *Escherichia coli*. *Applied Environmental Microbiology*, v.74, n.8, p.2360-2369, 2008.

LASARRE, B.; FEDERLE, M. J. Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Review*, v.77, n.1, p.73-111, 2013.

LING, J.; PAN, H.; GAO, Q.; XIONG, L.; ZHOU, Y.; ZHANG, D.; GAO, S.; LIU, X. Aerobactin synthesis genes iucA and iucC contribute to the pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli* O2 Strain E058. *Plos One*, v.8, n.2, 2013.

LLOUBES, R.; BERNADAC, A.; HOUOT, L.; POMMIER, S. Non classical secretion systems. *Research in Microbiology*, v.164, n.6, p.655-663, 2013.

LYNNE, A. M.; KARIYAWASAM, S.; WANNEMUEHLER, Y.; JOHNSON, T. J.; JOHNSON, S. J.; SINHA, A. S.; LYNNE, D. K.; MOON, H. W.; JORDAN, D. M.; LOQUE, C. M.; NOLAN, L. K. Recombinant Iss as a Potential Vaccine for Avian Colibacillosis. *Avian Disease*, v.56, n.1, p.192-199, 2012.

KNÖBL, T.; GODOY, S. N.; MATUSHIMA, E. R.; GUIMARÃES, M. B.; FERREIRA, A. J. P. Molecular characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from parrots with colibacillosis. *Foodborne Pathogens and Disease*, v.54, p.54-60, 2008.

KNÖBL, T.; MORENO, A. M.; PAIXÃO, R.; GOMES, T. A.; VIEIRA, M. A.; DA SILVA LEITE, D.; BLANCO, J. E.; FERREIRA, A. J. P. Prevalence of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) clone harboring sfa gene in Brazil. *The Scientific World Journal*, v.2012, 2012.

MBANGA, J.; NYARARAI, Y. O. Virulence gene profiles of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from chickens with colibacillosis in Bulawayo, Zimbabwe. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v.82, n.1, 2015.

MATURANA, V. G.; PACE, F.; CARLOS, C.; MISTRETTA, P. M.; AMABILE DE CAMPOS, T.; NAKAZATO, G.; GUEDES SHELING, E.; LOQUE, C. M.; NOLAN, L. K.; DIAS DA SILVEIRA, W. Subpathotypes of Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) exist as defined by their Syndromes and Virulence traits. *The Open Microbiology Journal*, v.5, n.1, p.55-64, 2011.

MILLER, D. L.; HATKIN, J.; RADI, Z. A.; MAUEL, M. J. An *Escherichia coli* epizootic in captive mallards (*Anas platyrhynchos*). *International Journal of Poultry Science*, v.3, n.1, p.206-210, 2004.

MOHAMED M. A., SHEHATA, M. A., RAFEEK, E. Virulence genes content and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from broiler chicken. *Veterinary Medicine International*, v.1, n.1, p.1-6, 2014.

MONROY, M. A. R.; KNÖBL, T.; BOTTINO, J. A.; FERREIRA, C. S. A.; FERREIRA, A. J. P. Virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates obtained from broiler breeders with salpingitis. *Comparative Immunology, Microbiology e Infectious Diseases*, v.28, n.1, p.1-15, 2005.

NORTON, R. A.; MACKLIN, K. S.; MCMURTREY, B. L. The association of various isolates of *Escherichia coli* from the United States with induced cellulitis and colibacillosis in young broiler chickens. *Avian Pathology*, v.29, n.6, p.571-574, 2000.

OH, J. Y.; KANG, M. S.; KIM, J. M.; AN, B. K.; SONG, E. A.; KIM, J. Y.; KWON, J. H.; KWON, Y. K.. Characterization of *Escherichia coli* isolates from laying hens with colibacillosis on 2 commercial egg-producing farms in Korea. *Poultry Science*, v.90, n.9, p.1948-1954, 2011.

OLIVEIRA, A. L.; ROCHA, D. A.; FINKLER, F.; DE MORAES, L. B.; BARBIERI, N. L.; PAVANELO, D. B.; WINKLER, C.; GRASSOTTI, T. T.; DE BRITO, K. C.; DE BRITO, B. G.; HORN, F. Prevalence of ColV Plasmid-Linked Genes and In Vivo Pathogenicity of Avian Strains of *Escherichia coli*. *Foodborne Pathogens and Diseases*, v.12, n.8, p.679, 685, 2015.

OLSEN, R. H.; CHADFIELD, M. S.; CHRISTENSEN, J. P.; SCHEUTZ, F.; CHRISTENSEN, H.; BISGAARD, M. Clonality and virulence traits of *Escherichia coli* associated with haemorrhagic septicaemia in turkeys. *Avian Pathology*, v.40, n.6, p.587-595, 2011.

OZAKI, H.; MURASE, T. Multiple Routes of Entry for *Escherichia coli* Causing Colibacillosis in Commercial Layer Chickens. *Journal of Veterinary Medicine Science*, v.71, n.12, p.1685-1689, 2009.

PAIVA, J. B.; LEITE, J. L.; MENDES DA SILVA, L. P.; GALVÃO ROJAS, T. C.; PACE, F.; CONCEIÇÃO, R. A.; SPERANDIO, V.; DA SILVEIRA, W. D. Influence of the major nitrite transporter NirC on the virulence of a Swollen Head Syndrome Avian Pathogenic *E. coli* (APEC) strain. *Veterinary Microbiology*, v.175, n.1, p.123-131, 2015.

PIRES DOS SANTOS, T.; BISGAARD, M.; CHRISTENSEN, H. Genetic diversity and virulence profiles of *Escherichia coli* causing salpingitis and peritonitis in broiler breeders. *Veterinary Microbiology*, v.162, n.2-4, p.873-880, 2013.

PIRES DOS SANTOS, T.; BISGAARD, M.; KYVSGAARD, N.; CHRISTENSEN, H. Occurrence of weak mutators among avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolates causing salpingitis and peritonitis in broiler breeders. *Veterinary Microbiology*, v.168, n.1, p.141-147, 2014.

RAHIMI, M.; MINOOSH, Z.; HAGHIGHI, M. S. An outbreak of visceral coligranuloma in backyard chicken flock. *Comparative Clinical Pathology*, v.23, n.1, p.381-384, 2014.

RODRIGUEZ-SIEK, K. E.; GIDDINGS, C. W.; DOETKOTT, C.; JOHNSON, T. J.; NOLAN, L. K. Characterizing the APEC pathotype. *Veterinary Research*, v.36, n.2, p.241-256, 2005.

RUSSO, T. A.; JOHNSON, J. R. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *Journal of Infectious Diseases*, v.181, n.5, p.1753-1754, 2000.

SANTOS, M. M.; ALCANTARA, A. C. M.; PERECMANIS, S.; CAMPOS, A.; SANTANA, A. P. Antimicrobial Resistance of Bacterial Strains Isolated from Avian Cellulitis. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.16, n.1, p.13-18, 2014.

SANTANA, A. P.; MURATA, L. S.; DE 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, n.9, p.2587-2592, 2008.

SILVEIRA, W. D.; FERREIRA, A.; BROCCHI, M.; HOLLANDA, L. M.; PESTANA DE CASTRO, A. F.; YAMADA, A. T.; LANCELOTTI, M. Biological characteristics

and pathogenicity of avian *Escherichia coli* strains. *Veterinary Microbiology*, v.85, n.1, p.47-53, 2002.

SZEMIAKO, K.; KRAWCZYK, B.; SAMET, A.; SLEDZINSKA, A.; NOWICKI, B.; NOWICKI, S.; KUR, J. A subset of two adherence systems, acute pro-inflammatory pap genes and invasion coding dra, fim, or sfa, increases the risk of *Escherichia coli* translocation to the bloodstream. *European Journal of Clinical Microbiology e Infectious Diseases*, v.12, n.12, p.1579-1582, 2013.

VIEIRA, M. A. M. Ilhas de patogenicidade. *O mundo da saúde*, v.33, n.1, p.406-414, 2009.

WANG, Y.; TANG, C.; YU, X. H.; XIA, M. Y.; YUE, H. Distribution of serotypes and virulence-associated genes in pathogenic *Escherichia coli* isolated from ducks. *Avian Pathology*, v.39, n.4, p.297-302, 2010.

WANG, S.; NIU, C.; SHI, Z.; XIA, Y.; YAQOUB, M.; DAI, J.; LU, C. Effects of ibeA Deletion on Virulence and Biofilm Formation of Avian Pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, v.79; n.1, p.279-287, 2011a.

WANG, S.; XIA, Y.; DAI, J.; SHI, Z.; KOU, Y.; LI, H.; BAO, Y.; LU, C. Novel roles for autotransporter adhesin AatA of avian pathogenic *Escherichia coli*: colonization during infection and cell aggregation. *FEMS Immunology e Medical Microbiology*, v.63, n.3, p.328-338, 2011b.

WANG S, BAO Y, MENG Q, XIA Y, ZHAO Y, WANG Y, TANG, F.; ZHUGE, X.; SHENGQING, Y.; DAI, J.; LU, C. IbeR Facilitates Stress-Resistance, Invasion and Pathogenicity of Avian Pathogenic *Escherichia coli*. *Plos One*, v.10, n.3, 2015a.

WANG, X.; CAO, C.; HUAN, H.; ZHANG, L.; MU, X.; GAO, Q.; DONG, X.; LIU, X. Isolation, identification, and pathogenicity of O142 avian pathogenic *Escherichia coli* causing black proventriculus and septicemia in broiler breeders. *Infection, Genetics and Evolution*, v.32, p.23-29, 2015b.

WHITT, D. D.; SALYERS, A. A. *Escherichia coli* extraintestinal. In: WILSON, B. A. S.; WHITT, A. A.; WINKLER, D. D.; MALCOLM, E. *Bacterial pathogenesis, as molecular approach*. ASM Press, Washington, p.422-436, 2002.

ZHOU, M.; GUO, Z.; YANG, Y.; DUAN, Q.; ZHANG, Q.; YAO, F.; ZHU, J.; ZHANG, X.; HARDWIDGE, P. R.; ZHU, G. Flagellin and F4 fimbriae have opposite effects on biofilm formation and quorum sensing in F4ac+enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology*, n.168, n.1, p.148-153, 2014.

ZHU-GE X. K.; PAN, Z. H.; TANG, F.; MAO, X.; HU, L.; WANG, S. H.; XU, B.; LU, C. P.; FAN, H. J.; DAI, J. J. The effects of upaB deletion and the double/triple deletion of upaB, aatA, and aatB genes on pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.1, n.1, p.1-16, 2015.