

# CELULITE EM CODORNAS (*COTURNIX COTURNIX JAPONICA*) CAUSADA POR *ESCHERICHIA COLI*: FATORES DE VIRULÊNCIA, SENSIBILIDADE E PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA

BENITO GUIMARÃES DE BRITO<sup>1\*</sup>  
CLAUDIA YURIKA TAMEHIRO<sup>1</sup>  
IVENS GOMES GUIMARÃES<sup>1</sup>  
MARILDA CARLOS VIDOTTO<sup>2</sup>

BRITO, B. G.; TAMEHIRO, C. Y.; GUIMARÃES, I. G.; VIDOTTO, M. C. Celulite em codornas (*Coturnix coturnix japonica*) causada por *Escherichia coli*: Fatores de virulência, sensibilidade e perfil de resistência antimicrobiana. *Semina: Ci. Agrárias*, Londrina, v. 21, n. 1, p. 27-32, mar. 2000.

**RESUMO:** Dez cepas de *E. coli*, isoladas de lesões de celulite em codornas foram avaliadas quanto a resistência antimicrobiana frente a vinte e seis drogas, a patogenicidade das amostras em ovos embrionados de galinha SPF e quanto aos fatores de virulência: hemolisinas, resistência sérica e afinidade ao vermelho-congo. Os antimicrobianos de maior eficiência foram ampicilina, florfenicol e os menos eficientes foram eritromicina, oxacilina, lincomicina, novobiocina, penicilina, sulfonamida, sulfomethoxazole+ trimetoprim e tetraciclina. A maioria das amostras de *E. coli* foram resistentes ao soro, os outros fatores de virulência, hemolisina e afinidade ao vermelho-congo, foram menos freqüentes nas amostras estudadas. A patogenicidade das amostras de *E. coli*, estimada através da DL50 em ovos embrionados, variaram de  $8 \times 10^2$  a  $3,2 \times 10^8$ .

**PALAVRAS-CHAVE:** *Escherichia coli*; virulência; sensibilidade antimicrobiana; celulite; codornas.

## INTRODUÇÃO

A *E. coli* é responsável por diversas patologias em aves das quais podemos destacar a doença crônica respiratória, onfalite, salpingite, septicemias, peritonites, síndrome da cabeça inchada, enterites e celulite (Gross, 1994).

A celulite é uma inflamação supurativa, aguda e difusa, que afeta os tecidos subcutâneos e, em algumas ocasiões o tecido muscular, sendo freqüentemente associada com a formação de abscessos (Fallavena, 2000). A celulite ocorre em humanos, mamíferos, aves e pode ser provocada pela infecção bacteriana de solução de continuidade existente na pele (Norton, 1997). A celulite nas aves causa a descoloração e espessamento da pele, por isso também é conhecida como processo inflamatório, dermatite necrótica e ou "waffle skin" (Barnes, 1994; Norton, 1997).

Nos últimos anos têm aumentado o interesse no estudo da celulite aviária, principalmente devido

aos grandes prejuízos decorrentes da condenação de aves nos abatedouros por lesões cutâneas (Elfadil *et al.*, 1996; Onderka *et al.*, 1997; Norton, 1997). Somente nos Estados Unidos estima-se uma perda anual superior a 80 milhões de dólares (Norton & Hess, 1999). No Canadá estima-se que no ano 2000 a celulite aviária será responsável pela condenação de 1,2% dos frangos de corte abatidos (Kumor *et al.*, 1998). No Brasil, atualmente as perdas por celulite nas condenações de frangos de corte no abate, ultrapassam a soma de 10 milhões de dólares (Brito & Tagliari, 2000a), sendo a principal causa de condenação de carcaças por alterações cutâneas em frangos de corte no abate (Fallavena *et al.*, 2000).

O freqüente isolamento de *E. coli* das lesões de celulite (Messier *et al.*, 1993; Peighambari *et al.*, 1995b) e a posterior reprodução experimental desta patologia a partir da inoculação de amostras de *E. coli*, comprovam que este microrganismo é o responsável por este tipo de lesão (Peighambari *et al.*, 1995a; Norton *et al.*, 1997; Gomis *et al.*, 1997).

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, CEP 86.051-970, Londrina-PR, Brasil. \*Bolsista CAPES-PICDT. E-mail: bgbrito@zipmail.com.br

<sup>2</sup> Departamento de Microbiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, CEP 86051-970, Londrina-PR, Brasil.

Os fatores de virulência têm sido utilizados para diferenciar amostras de *E. coli* patogênicas das não patogênicas para as aves (Vidotto *et al.*, 1990; Brito, 2000). Peighambari *et al.* (1995b) relataram que as amostras de *E. coli* causadoras de celulite apresentavam aerobactina e colicina, entretanto o biotipo, o perfil de resistência às drogas e a existência de plasmídios não foram indicadores de patogenicidade para as amostras de *E. coli* isoladas de celulite aviária.

No Brasil não dispomos de dados sobre a resistência das *E. coli*, isoladas das lesões de celulite aviária, frente aos antimicrobianos utilizados nas criações intensivas e não existe relato desta patologia em codornas. Portanto o objetivo deste trabalho foi o de relatar a ocorrência desta infecção em codornas e determinar alguns fatores de virulência, a sensibilidade antimicrobiana e os perfis de resistência das *E. coli* isoladas das lesões de celulite em codornas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram identificadas 10 cepas de *E. coli* isoladas de lesões de celulite de codornas, originárias de granjas de exploração intensiva da região Norte do Paraná. As bactérias foram isoladas das lesões de celulite com o auxílio de "swab" estéril, posteriormente o "swab" foi semeado em meios de ágar sangue e ágar Mac Conkey, cultivado durante 18 horas a 37°C (Brito & Tagliari, 2000a). Para identificação bacteriana foram analisados os aspectos de crescimento, características morfotintoriais à técnica de Gram e provas bioquímicas conforme descritas por Edward & Ewings (1972). As características bioquímicas foram avaliadas nos testes da oxidase, fermentação e oxidação da glicose, em meio para fenilalanina, vermelho de metila, Voges Proskauer, ágar citrato, meio SIM e meio TSI. Após a identificação, as amostras caracterizadas como *E. coli* foram então estocadas em meio Dorset à temperatura ambiente.

Os testes de resistência aos antimicrobianos foram realizados através da técnica de difusão do antibiótico impregnado em discos de papel filtro (Brito & Tagliari, 2000b). Três colônias isoladas a partir do meio TSA foram cultivadas em recipiente contendo 3 ml de caldo nutriente, a 37°C durante 2 h, e então a cultura foi diluída a 1:100 em salina fisiológica e semeada com "swab" em ágar Müeller-Hinton, de forma a obter um crescimento confluinte. Após a secagem das placas, os seguintes discos de antimicrobianos foram usados: ácido nalidixico (30 µg), amoxicilina (30 µg), ampicilina (10 µg),

apramicina (15 µg), carbecilina (100 µg), cefalotina (30 µg), ceftiofur (30 µg), cloranfenicol (30 µg), enrofloxacina (5 µg), eritromicina (15 µg), espectinomicina+lincomicina (100+50 µg), espectinomicina+sulfazotrim (100+25 µg), estreptomicina (10 µg), florfenicol (30 µg), flumequina (30 µg), gentamicina (10 µg), lincomicina (2 µg), neomicina (30 µg), nitrofurantoina (300 µg), norfloxacina (10 µg), novobiocina (30 µg), oxacilina (5 µg), penicilina (10 U), sulfonamidas (300 µg), sulfamethoxazole + trimetoprim (25 µg) e tetraciclina (30 µg). As placas foram incubadas a 37°C durante 24 h. Os discos foram testados previamente com a amostra ATCC 25922, sensível a todas as drogas antimicrobianas testadas. Os resultados foram determinados medindo-se os halos de inibição de crescimento e comparando-os com os valores apresentados nas tabelas padrões (Barry & Thorwsberry, 1985). O índice de resistência múltipla antimicrobiana (IRMA) para cada amostra, foi calculado conforme Kaspar & Burgess (1990), (IRMA= número de antibióticos resistentes/ número total de antibióticos testados).

Para a avaliação da atividade hemolítica foi usado ágar-base contendo 5% de sangue de ave desfibrinado. As amostras foram semeadas em ágar sangue e incubadas a 37°C por 24 horas para avaliação do halo de hemólise. A prova do vermelho-congo foi realizada utilizando TSA com 0,05% de vermelho-congo e 0,18% de sais biliares (Styles & Flammer, 1991). As amostras positivas apresentaram as colônias de coloração avermelhada e as negativas, foram incolores.

A determinação da resistência ao soro foi realizada conforme Brito (1997). As amostras de *E. coli* foram cultivadas em meio LB por 24 h a 37°C sob agitação, diluídos 1:10 e repicados até atingir a fase log. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 12000xg por 2 minutos e ressuspendidas em PBS pH 7,4. Foram adicionados em microplacas de 96 cavidades com fundo chato, 87,5 µl de suspensão bacteriana e 50 µl de soro de coelho e incubados a 37°C. Nos tempos de 0, 60, 120 e 180 minutos de incubação foram determinadas a densidade ótica, em leitora de microplaca com filtro de 650 nm. Na interpretação dos resultados foi calculado a densidade ótica relativa de cada tempo em relação ao tempo 0 e tipo de curva de crescimento de cada amostra de *E. coli*.

A patogenicidade das cepas de *E. coli* foi verificada através da inoculação em ovos embrionados de galinhas SPF, com 12 dias de incubação. A mortalidade dos embriões foi observada diariamente, até o sétimo dia pós-inoculação sendo a DL50 obtida através da metodologia descrita por Reed & Muench (1938).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sensibilidade das cepas de *E. coli* aos diversos antimicrobianos foram as seguintes: ácido nalidíxico (70%), amoxicilina (40%), ampicilina (100%), apramicina (80%), carbecilina (40%), cefalotina (10%), ceftiofur (20%), cloranfenicol (90%), enrofloxacina (60%), eritromicina (0%), espectinomicina+lincomicina (30%), espectinomicina + sulfazotrim (10%), estreptomicina (70%), florfenicol (100%), flumequina (70%), gentamicina (90%), lincomicina (0%), neomicina (80%), nitrofurantoina (40%), norfloxacina (80%), novobiocina (0%), oxacilina (0%), penicilina (0%), sulfonamidas (0%), sulfamethoxazole+trimetoprim (0%) e tetraciclina (0%).

Os resultados de sensibilidade antimicrobiana estão de acordo com os dados relatados por Blanco *et al.* (1997) e Rocha (1999), que estudaram cepas de *E. coli* que causam septicemia e doenças respiratórias em frangos de corte. Arenas *et al.* (1999) relataram um surto de colisepticemia em codornas, pelo sorogrupo O165 e verificaram que esta amostra apresentava sensibilidade às seguintes drogas: amoxicilina, ampicilina, cefalexina, colistina, gentamicina e neomicina, estes resultados diferem parcialmente dos obtidos neste trabalho uma vez que encontramos apenas 40% das amostras sensíveis à amoxicilina.

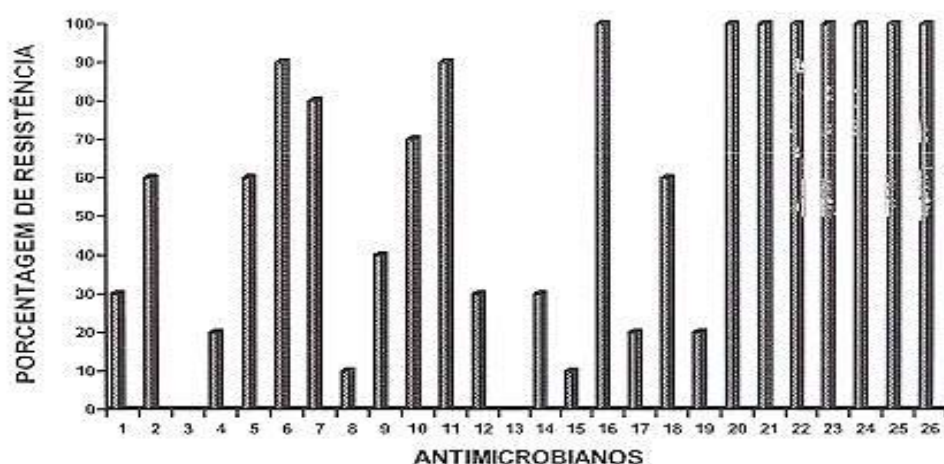
Na Figura 1 estão expressos os percentuais de resistência das amostras de *E. coli* às drogas antimicrobianas. As amostras de *E. coli* não demonstraram resistência aos seguintes antimicrobianos: ampicilina e florfenicol. Todas as amostras foram resistentes a pelo menos oito drogas antimicrobianas. Os percentuais de amostras

resistentes aos antimicrobianos testados são superiores aos observados por Peighambari *et al.* (1995b), que analisaram amostras de *E. coli* isoladas de celulite aviária.

Neste trabalho foram relatados níveis de resistência as quinolonas, os quais não tinham sido relatados por Brito *et al.* (1999), que haviam isolado amostras de *E. coli* de codornas com colisepticemia. A ocorrência de resistência bacteriana as quinolonas tem preocupado os pesquisadores (Blanco *et al.*, 1997), devido ao uso deste antimicrobiano na terapêutica humana bem como a possibilidade de transferência desta resistência a patógenos humanos.

O perfil de resistência mais freqüente foi eritromiciná – oxacilina-lincomicina – penicilina – novobiocina – sulfonamidas – sulfamethoxazole+ trimetoprim – tetraciclina encontrado em todas as cepas de *E. coli* isoladas de lesões de celulite de codornas. Na classificação das amostras pelo antibiograma, apenas duas amostras apresentaram o mesmo perfil. Na Tabela 1, constam os perfis de resistência e o IRMA encontrados nas amostras de *E. coli* estudadas.

A DL50 realizada em ovos embrionados de galinha, variou de  $8,0 \times 10^2$  a  $3,2 \times 10^8$  demonstrando patogenicidade variável entre as amostras (Tabela 2). A afinidade ao vermelho-congo foi verificada em somente 1/10 (10%) das cepas analisadas. Atividade hemolítica não foi observada nas amostras de *E. coli* 0/10 (0%), entretanto a maioria das amostras foram resistentes ao soro 9/10 (90%). Ngeleka *et al.* (1996) também verificaram que todas as amostras de *E. coli* isoladas de celulite apresentavam a capacidade de resistirem a atividade lítica do soro.



**Figura 1** – Resistência antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* isoladas de codornas com celulite (1, ácido nalidíxico; 2, amoxicilina; 3, ampicilina; 4, apramicina; 5, carbecilina; 6, cefalotina; 7, ceftiofur; 8, cloranfenicol; 9, enrofloxacina; 10, espectinomicina+lincomicina; 11, espectinomicina+sulfazotrim; 12, estreptomicina; 13, florfenicol; 14, flumequina; 15, gentamicina; 16, lincomicina; 17, neomicina; 18, nitrofurantoina; 19, norfloxacina; 20, novobiocina; 21, oxacilina; 22, penicilina; 23, sulfonamidas; 24, sulfamethoxazole+trimetoprim; 25, tetraciclina; 26, eritromicina).

**Tabela 1** – Índice de resistência múltipla antimicrobiana (IRMA) e perfil de resistência antimicrobiana das amostras de *Escherichia coli* isoladas de lesões de celulite em codornas.

Amostra	IRMA	Perfil de Resistência
BK 307	0.538	CB.CEF.CF.ENR.EI.CEL.NIT.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 308	0.423	CB.CEF.EI.CEL.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 309	0.346	CF.EI.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 310	0.346	NA.EI.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 311	0.307	EI.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 312	0.385	EI.FLA.NOR.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 313	0.346	EI.NOR.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 314	0.307	EI.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 315	0.307	EI.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN.
BK 316	0.615	AX.AP.CF.ESC.CEL.EI.ET.NO.NIT.NOV.OX.SF.SFT.TET.LIN.PN

AN: ácido nalidíxico  
 AX: amoxicilina  
 AP: apramicina  
 CB: carbecilina  
 CEF: cefalotina  
 CEL: espectinomicina+lincomicina  
 ESC: espectinomicina+sulfazotrim  
 CF: ceftiofur  
 EI: eritromicina  
 ET: estreptomina  
 ENR: enrofloxacina

FLA: flumequina  
 LIN: lincomicina  
 NIT: nitrofurantoína  
 NO: neomicina  
 NOV: novobiocina  
 NOR: norfloxacina  
 OX: oxacilina  
 PN: penicilina  
 SF: sulfonamidas  
 SFT: sulfamethoxazole+trimetoprim  
 TET: tetraciclina

**Tabela 2** – Fatores de virulência e patogenicidade de amostras de *Escherichia coli* isoladas de lesões de celulite em codornas.

Amostra	Hemolisina	Vermelho-congo	Resistência Sérica	DL50
BK 307	-	-	+	3,8x10 <sup>6</sup>
BK 308	-	-	+	3,2x10 <sup>8</sup>
BK 309	-	-	+	8,0x10 <sup>2</sup>
BK 310	-	-	+	1,4x10 <sup>4</sup>
BK 311	-	-	+	1,2x10 <sup>6</sup>
BK 312	-	-	+	8,7x10 <sup>7</sup>
BK 313	-	-	-	6,4x10 <sup>6</sup>
BK 314	-	-	+	1,1x10 <sup>5</sup>
BK 315	-	-	+	1,7x10 <sup>7</sup>
BK 316	-	+	+	6,5x10 <sup>3</sup>

DL50: DOSE LETAL 50%

## CONCLUSÕES

Os princípios ativos mais eficientes nos testes de sensibilidade antimicrobiana foram ampicilina e florfenicol. Todas as amostras apresentaram resistência aos antimicrobianos eritromicina, oxacilina,

lincomicina, novobiocina, penicilina, sulfonamidas, sulfamethoxazole+trimetoprim e tetraciclina.

A maioria das amostras de *E. coli* foram resistentes ao soro. Os outros fatores de virulência avaliados foram menos frequentes nas amostras estudadas.

BRITO, B. G.; TAMEHIRO, C. Y.; GUIMARÃES, I. G.; VIDOTTO, M. C. Cellulitis in Japanese Quails (*Coturnix coturnix japonica*) for *Escherichia coli*: Virulence factors, sensibility and profile antimicrobial resistance. *Semina: Ci. Agrárias*, Londrina, v. 21, n. 1, p. 27-32, mar. 2000.

**ABSTRACT:** Ten *E. coli* strains isolated from cellulitis lesions of Japanese quails were to evaluated antimicrobial resistance to twenty six drugs, to pathogenicity of strains in SPF chickens embryonated eggs and virulence factors. The antimicrobials of higher efficiency were ampicillin, florfenicol and the lesser efficiency were erythromycin, oxacillin, lincomycin, novobiocin, penicillin, sulfonamidas, trimethoprim+sulfomethoxazole e tetracycline. The majority of *E. coli* strains were serum resistance, the others virulence factors, hemolisin and congo red affinity, were lesser frequent on the studied strains. Pathogenicity of *E. coli* strains, evaluated to DL50 in embryonated eggs, had varied of  $8 \times 10^2$  the  $3,2 \times 10^8$ .

**KEY WORDS:** *Escherichia coli*; virulence; antimicrobial sensibility; cellulitis; quails.

## AGRADECIMENTO

A CAPES-PICDT pela concessão da bolsa e aos técnicos do Laboratório de Medicina Aviária da UEL pelo apoio laboratorial.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARENAS, A.; VICENTE, S.; LUQUE, I.; GOMEZ-VILLAMANDOS, J.C.; ASTORGA, R.; MALDONADO, A.; TARRADAS, C. Outbreak of septicaemic colibacillosis in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal Veterinary Medicine B*, v.46, p.399-404, 1999.
- BARNES, H.J. *Colibacillosis in poultry*. Missouri: Pfizer, 1994. 45p (Veterinary practicum of Pfizer Animal Health).
- BARRY, A.L.; THORWSBERRY, C. Susceptibility testing: diffusion test procedures. In: LENNETTE, E.H. et al. *Manual of Clinical Microbiology*. 4 ed. [S. l.: s. n.], 1985. p.978-87.
- BLANCO, J.E.; BLANCO, M.; MORA, A.; BLANCO, J. 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*, v.35, n.8, p.2184-5, 1997.
- BRITO, B.G. *Fatores de virulência de Escherichia coli isoladas de suínos com bacteriúria*. Londrina, 1997. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Londrina.
- BRITO, B.G.; MIRANDA, R.T.; TAGLIARI, K.C. Resistência antimicrobiana e patogenicidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de codornas (*Coturnix coturnix japonica*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 26, 1999. *Anais...* (edição eletrônica).
- BRITO, B.G. Fatores de virulência de *Escherichia coli* de origem aviária – APEC. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA. 2, 2000, Santa Maria. *Anais...* Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2000. p.41-49.
- BRITO, B.G.; TAGLIARI, K.C. Celulite aviária por *Escherichia coli*. *UNOPAR Científica; Ciênc. Biol. Saúde*, Londrina, v.2, n.1, p.143-149, out. 2000a.
- BRITO, B.G.; TAGLIARI, K.C. Sensibilidade antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarreia após o desmame. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v.43, n.1, p.133-137, 2000b.
- EDWARD, P.R.; EWINGS, W.H. *Identification of Enterobacteriaceae*. 3. ed. Minneapolis: Burgess Publishers, 1972. 362p.
- ELFADIL, A.A.; VAILLANCOURT, J.P.; MEEK, A.H. Farm management risk factors associated with cellulitis in broiler chickens in southern Ontario. *Avian Diseases*, v.40, p.699-706, 1996.
- FALLAVENA, L.C.B. Enfermidades da pele e das penas. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. Doenças das aves. Campinas:FACTA, 2000, p.37-45.
- FALLAVENA, L.C.B.; MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; SILVA, A.B. da; VARGAS, R.S.; NASCIMENTO, V.P.; CANAL, C.W. Diagnosis of skin lesions in condemned or downgraded broiler carcasses – a microscopic and macroscopic study. *Avian Pathology*, v.29, p.557-562, 2000.
- 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 Diseases*, v.41, p.234-240, 1997.
- GROSS, W.G. Diseases due to *E. coli* in poultry. In: GYLES, C.L. *Escherichia coli in domestic animals and humans*. Oxon: CAB International, 1994, p.237-259.
- KASPAR, C.W.; BURGESS, J.L. Antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify sources of fecal contamination in water. *Canadian Journal Microbiology*, v.36, p.891-894, 1990.
- KUMOR, L.W.; OLKOWSKI, S.M.; 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.
- 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.
- NGELEKA, M.; KWAGA, J.K.; WHITE, D.G.; WHITTAM, T.S.; RIDDELL, C.; GOODHOPE, R.; POTTER, A.A.; ALLAN, B.

- Escherichia coli* cellulitis in broiler chickens: clonal relationships among strains and analysis of virulence-associated factors of isolates from diseased birds. *Infection and Immunity*, v.64, n.8, p.3118-3126, 1996.
- NORTON, R.A. Avian cellulitis. *World's Poultry Science Journal*, v.53, p.337-349, 1997.
- NORTON, R.A.; BILGILI, S.F.; McMURTREY, B.C. A reproducible model for the induction of avian cellulitis in broiler chickens. *Avian Diseases*, v.41, p.422-428, 1997.
- NORTON, R.A.; HESS, J.B. Cellulitis in broiler chickens. *World Poultry*, v.15, n.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 Diseases*, v.41, p.935-940, 1997.
- PEIGHAMBARI, S.M.; JULIAN, R.J.; VAILLANCOURT, J.P.; GYLES, C.L. *Escherichia coli* cellulitis: Experimental infections in broiler chickens. *Avian Diseases*, v.39, p.125-134, 1995a.
- PEIGHAMBARI, S.M.; VAILLANCOURT, J.P.; WILSON, R.A.; GYLES, C.L. Characteristics of *Escherichia coli* isolates from avian cellulitis. *Avian Diseases*, v.39, p.116-124, 1995b.
- REED, L.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.*, v.16, p.493-494, 1938.
- ROCHA, A.C.G.P da. Fatores de virulência de amostras de *Escherichia coli* isoladas de frango de corte com problemas respiratórios. Porto Alegre, 1999. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- STYLES, D.K.; FLAMMER, K. Congo red binding of *Escherichia coli* isolated from the cloacea of Psittacine birds. *Avian Diseases*, v.35, p.46-48, 1991.
- VIDOTTO, M.C.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C. de; ALFIERI, A.A.; GUIMARÃES, I.G.; SANTOS, D.S. Virulence factors of avian *Escherichia coli*. *Avian Diseases*, v.34, p.531-538, 1990.