

A similaridade genética de *Escherichia coli* patogênica para as aves (APEC) com estirpes humanas e a resistência antimicrobiana justificam a preocupação sanitária em relação aos produtos de origem aviária?

The genetic similarity between Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) and Extraintestinal human *E. coli* strains, with antimicrobial resistance profile, represent a health concern associated with poultry products ?

Resumo

Escherichia coli é um patógeno de importância para a medicina humana e veterinária em função dos inúmeros agravos de saúde causados por patótipos intestinais (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC e EaggEC) e extra-intestinais (ExPEC). A similaridade genética entre cepas de *E.coli* patogênica para as aves (APEC) e cepas associadas a infecções do trato urinário (UPEC), meningite e sepsse humana (MENE) se tornou alvo de investigação nos últimos anos, revelando uma preocupação sanitária na cadeia de produção de aves. Além da hipótese sobre o caráter zoonótico das amostras de origem aviária, é mundialmente crescente a preocupação referente ao aumento da resistência antimicrobiana entre as enterobactérias. Este artigo faz uma revisão do assunto, com vistas aos riscos sanitários associados à APEC.

Summary

Escherichia coli is an important pathogen for human and veterinary medicine because the microorganism is associated with many health disorders caused by intestinal (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC and EAggEC) and extraintestinal pathotypes (ExPEC). The genetic similarity between avian pathogenic *E. coli* (APEC) and strains associated with urinary tract infections (UPEC), meningitis and human sepsis (MENE) became the target of research in recent years, revealing a health concern in poultry production. Besides the hypothesis about the zoonotic potential of avian strains, is growing worldwide concern about the increase of antimicrobial resistance among Enterobacteria. This paper makes a review of the subject, highlighting the health risks associated with APEC.

Recebido em 18 de janeiro de 2013 e aprovado em 25 de setembro de 2013

Marcos Paulo Vieira Cunha²

Márcia Cristina Menão¹

Antonio José Piantino Ferreira²

Terezinha Knöbl^{1*}

Terezinha Knöbl

Departamento de Patologia (VPT) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ - USP).

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87

05508-270, Cidade Universitária – SP, Brasil

✉ tknobl@usp.br



Palavras-chave

Avicultura. Colibacilose aviária. Zoonose.
Resistência antimicrobiana.

Keywords

Poultry production. Avian colibacillosis.
Zoonoses. Antimicrobial resistance.

Entre os meses de Fevereiro a Abril de 2013 os meios de comunicação notificaram o embargo de 35 toneladas de carne bovina brasileira na Holanda, justificado pela contaminação do produto por *Escherichia coli* (ABIEC, 2013). Embora este micro-organismo não figure na lista de doenças de notificação compulsória da Organização Mundial de Saúde Animal/Escritório Internacional de Epizootias (OIE), o seu papel como agente causador de agravos à saúde humana e animal é inquestionável nos dias atuais (KAHN et al., 2012).

A percepção de perigo associado ao alimento de origem animal se intensificou após a notificação de surtos de enterite hemorrágica, seguidos de síndrome urêmica hemolítica que envolveu Espanha e Alemanha em 2011. O surto foi causado por uma estirpe do sorogrupo O104 H:4, com padrão de aderência enteroagregativo e produtora da citotoxina Shiga-like. Esta “nova estirpe” com fatores de virulência pertencentes a mais de um patotipo desafiou as autoridades sanitárias de 16 países, afetando 3950 pacientes com registro de 53 óbitos, causando um prejuízo econômico da ordem de 2 bilhões de euros, pelos transtornos no comércio de vegetais contaminados (MUNIESA et al., 2012).

É inegável que o panorama atual é bastante diferente do momento em que o Dr. Theodor Von Escherich (1885) descreveu o agente como não patogênico, sob a denominação de “*Bacterium coli commune*”, e associou a presença desta enterobactéria à microbiota entérica de crianças saudáveis (SUSSMAN, 1997). De fato, o

1 Departamento de Patologia (VPT) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP)

2 Faculdade de Medicina Veterinária do Complexo Educacional FMU

agente continua ocupando um nicho importante como parte da microbiota entérica, mas os avanços na área de microbiologia clínica e molecular evidenciaram também a existência de estirpes de *E. coli* potencialmente patogênicas e com capacidade de comprometer a saúde de humanos e animais, causando sérios prejuízos econômicos e de saúde pública (NATARO & KAPPER, 1998; CROXEN & FINLAY, 2010).

Na medicina veterinária as infecções por *Escherichia coli* estão presentes diariamente na rotina daqueles que trabalham com animais de produção ou de estimação, relacionadas a diversos quadros infecciosos intestinais (diarreias e disenterias). As infecções localizadas em outros sítios que não o intestino são denominadas extra-intestinais e incluem os quadros de mastite, metrite, piometra, salpingite, onfalite, celulite, aerossaculite, pneumonia, sinusite, conjuntivite, pododermatite, artrite, osteomielite, cistite e pielonefrite, meningite e sepsis (ORSKOV & ORSKOV, 1992; SUSSMAN, 1997; VANDEKERCHOVE et al., 2004).

A compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na patogenia destas infecções auxilia na diferenciação, sob o ponto de vista genético, das amostras associadas a quadros intestinais e extra-intestinais, permitindo a classificação em patótipos distintos, de acordo com a presença ou ausência de fatores de virulência específicos (CROXEN & FINLAY, 2010).

O avanço das técnicas de biologia molecular, particularmente o sequenciamento genético e as análises filogenéticas, evidenciaram a similaridade genética entre isolados de humanos e de animais, sugerindo uma origem ancestral comum (LEUNG et al., 2004). Este fato fez surgir hipóteses de que os animais de produção pudessem atuar como reservatórios de estirpes potencialmente patogênicas para humanos, reforçando a ideia de que as doenças causadas por estirpes patogênicas seriam zoonoses (BERGERON et al., 2012; CHASE-TOPPING et al., 2012).

Embora esta hipótese ainda necessite de comprovação científica, o número de trabalhos nesta linha tem aumentado vertiginosamente nos últimos anos e já começa a haver uma pressão por parte da imprensa não especializada sobre o risco sanitário destas infecções (TAI, 2013). Esta hipótese pode ter força suficiente para tornar a colibacilose aviária uma nova barreira sanitária e impor restrições aos países exportadores de produtos de origem animal.

Diante da relevância do tema, esta revisão tem o propósito de discutir as características principais de APEC, destacando os riscos de saúde pública associados ao consumo e manipulação de produtos aviários.

ETIOLOGIA E DEFINIÇÃO DE APEC (AVIAN PATHOGENIC *E. COLI*)

Escherichia coli (*E. coli*) é um bacilo Gram negativo, anaeróbio facultativo, fermentativo, pertencente à família Enterobacteriaceae, que faz parte da microbiota entérica dos mamíferos e da maioria das aves. São mesófilas (crescendo de 18 a 44°C), com temperatura ótima de crescimento entre 37 a 41°C. Seu tamanho varia de 1,1 a 1,5 µm por 2 a 6 µm e produzem colônias de formas lisas ou rugosas em meio sólido, sendo possível o aparecimento de colônias mucóides. A capacidade de fermentar a lactose, com produção de ácido e gás após a fermentação de maltose, glicose, manose, manitol, xilose, glicerol, ramnose, arabinose e sorbitol é também comum na maioria das amostras (KONEMAN et al., 2001).

A tipagem sorológica é largamente empregada na classificação de *E. coli*, de acordo com o esquema de Kauffmann que classifica os sorotipos de acordo com os antígenos que as cepas apresentam. O método de sorotipagem mais frequentemente empregado baseia-se na pesquisa dos antígenos O (somático) e H (flagelar). O antígeno somático é uma cadeia de polissacarídeo termoestável (121°C por 2 horas) que se projeta para o espaço extracelular. É um constituinte importante do LPS (lipopolissacarídeo), em conjunto com o lipídeo A e o core, fração intermediária composta por oligossacarídeo que liga covalentemente o lipídeo A ao antígeno somático. O LPS é liberado na multiplicação bacteriana e possui um papel importante no processo inflamatório. O antígeno flagelar (H) possui estrutura de natureza protéica e é termolábil (100°C por 30 min) (TRABULSI & ALTERTHUM, 2005).

Amostras de *E. coli* fimbriadas possuem a capacidade de hemaglutinar hemácias de diversas espécies (bovinos, galinhas, cobaias, carneiros e humanas). As fimbrias podem ser divididas em manose sensíveis (se o fenômeno for inibido *in vitro* pela adição de D-manose) ou manose resistentes (SUSSMAN, 1997).

E. coli é uma das primeiras bactérias a colonizar o intestino das aves e, algumas horas após o nascimento dos pintinhos é possível encontrar concentrações maiores que 1,0 x 10⁶ UFC/grama de fezes. A colonização intestinal por *E. coli* é considerada um evento desejável e a presença do agente no intestino exerce um efeito protetor contra a colonização por bactérias patogênicas, como a *Salmonella* spp. A bactéria atua como parte da microbiota intestinal e auxilia nos processos de digestão de alimentos e na síntese e absorção de alguns nutrientes. Amostras comensais raramente estão relacionadas aos quadros de doenças entéricas e, quando isto acontece, pode-se supor que o hospedeiro apresente algum

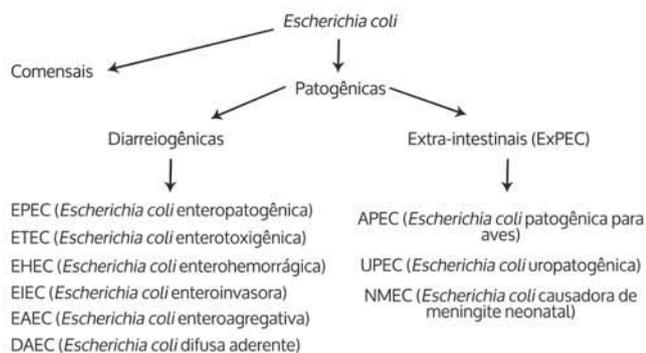


Figura 1: Distribuição dos patótipos de *Escherichia coli*.

grau de imunossupressão ou que exista alteração dos mecanismos locais de proteção do trato gastrointestinal (FERREIRA & KNÖBL, 2009).

Alguns sorotipos de *E. coli* são considerados patogênicos e, nestes casos, a infecção pode estar associada à ocorrência de diversas manifestações clínicas extra-intestinais, tais como onfalite, doença respiratória, salpingite, celulite, síndrome da cabeça inchada, colisepticemia. Aproximadamente 15 a 20% das amostras que compõem a microbiota podem ser consideradas potencialmente patogênicas por possuírem determinantes antigênicos capazes de causar doença (FERREIRA & KNÖBL, 2009).

A primeira relação estabelecida entre a infecção por *E. coli* e a ocorrência de doença em aves levou à descrição dos sorotipos patogênicos: O1, O2, O4, O6, O11, O21, O50, O36, O78, O88, O100 e O119 e O152, sendo os sorotipos O2 e O78 os mais prevalentes nos casos de colibacilose aviária (MENÃO et al., 2002). Em pintainhas de postura comercial alojadas no Brasil, Guastalli e Soares (2011) identificaram os sorogrupos O1, O2, O5, O8, O15, O18, O22, O36, O64, O70, O75, O115, O132 e O141. Os sorogrupos O1, O2 e O36, somaram 13,67% das amostras analisadas (GUASTALLI et al., 2010).

Embora a sorologia seja um método simples de associação epidemiológica com a ocorrência de colibacilose, a técnica não é suficiente para a caracterização de cepas patogênicas de *E. coli*, dada a elevada prevalência de cepas não tipáveis, sendo necessário o emprego de técnicas moleculares para a identificação de genes de virulência bacteriana (NAKAZATO et al., 2009). Estirpes com determinantes específicos de virulência relacionados a determinadas manifestações clínicas são denominadas “patotipo”. De acordo com o local de infecção, as cepas podem ser classificadas como diarreio gênicas ou patogênicas extra-intestinais (ExPEC- *Extraintestinal pathogenic E. coli*) (Figura 1) (CROXEN & FINLAY, 2010).

O patotipo que acomete as aves é denominado de APEC (*Avian pathogenic E. coli*), pertencente à categoria das ExPEC. Estudos de fatores de virulência apontam

uma grande semelhança genética entre algumas cepas do patotipo APEC e os demais patótipos do grupo das ExPEC, que reúne ainda cepas de *E. coli* uropatogênicas (UPEC) e de meningite neonatal (NMEC) (SMITH, FRATAMICO & GUNTHER, 2007).

Estirpes APEC possuem uma ampla gama de fatores de virulência, incluindo adesinas (Pili tipo 1, Fímbria P, S e F1C), sistemas de captação de ferro (aerobactina, yersiniabactina, salmochelina), cápsula, toxinas, evasinas e invasinas (JÄNßEN et al., 2001; LA RAGIONE & WOODWARD, 2002; IKUNO et al., 2006). Esses fatores de virulência são codificados por genes localizados em plasmídios ou em regiões cromossômicas, contendo fragmentos denominados “ilhas de patogenicidade” (Quadro 1) (SMITH, FRATAMICO & GUNTHER, 2007).

Diferentes autores propõem a caracterização molecular de APEC com base na presença de determinados genes de virulência, não havendo um consenso em relação à quais genes seriam os marcadores de virulência ideais. A definição mais aceita na atualidade é a de que amostras isoladas de aves doentes são consideradas APEC quando apresentam pelo menos 4 dos seguintes genes: *papC* (Fímbria P), *iucD* (aerobactina), *irp2* (proteína repressora de ferro, envolvida na síntese de yersiniabactina), *tsh* (hemaglutinina termo sensível), *vat* (proteína de autotransporte vacuolizante), *astA* (EAST1- toxina enteroagregativa), *iss* (proteína de aumento da resistência ao sistema complemento), *cva/cvi* (operons relacionados ao plasmídio de colicina - pColV) (EWERS et al., 2005). A combinação de alguns destes genes tem sido correlacionada à virulência da amostra e o genótipo *iss+*, *tsh+* e *iuc+* tem sido apontado como um possível marcador de virulência de APEC (KNÖBL, 2005). Tivendale et al. (2004) considerando que, a presença dos genes *iss* e *iuc* é fundamental para a ocorrência de níveis mais elevados de virulência em cepas isoladas de aves.

Em 2008, Johnson e colaboradores, estudando a epidemiologia molecular dos genes de virulência em isolados de *E. coli* obtidos de aves com doença clínica e isolados de cloaca de aves saudáveis, identificaram 5 genes de virulência transportados por plasmídios (*iutA*, *hlyE*, *iss*, *iroN* e *ompT*) que eram comuns às cepas de APEC com alta patogenicidade. Através da presença desses marcadores, chamados preditores mínimos de virulência para aves, as cepas comensais foram distinguidas de isolados de APEC altamente patogênicos (JOHNSON et al., 2008).

Riscos sanitários e segurança do alimento

Existem relatos na literatura de infecções naturais em galinhas e perus por cepas de *E. coli* do clássico sorotipo entero-hemorrágico O157:H7, produtor da

| Gene | Descrição | Gene | Descrição |
|---------------------------|---|--|---|
| Adesinas | | Protectinas e resistência ao soro | |
| afa | Adesina afimbrial | cvi/cvaC | Gene estrutural do operon de colicina V (ColV) |
| fimH | Fímbria tipo 1 (adesina D-manose específica) | iss | Resistência sérica |
| papC | Fímbria P (associada a pielonefrite) | traT | Proteína de transferência |
| sfa | Fímbria S (específica para ácido siálico) | neuC | Antígeno capsular 1 (K1) |
| tsh | Hemaglutinina termo sensível | kps MT II | Antígeno capsular do grupo II |
| crl | Curli | ompA | Proteína de membrana externa |
| Aquisição de Ferro | | Toxinas | |
| iroN | Salmochelina (receptor) | astA | EAST1 (toxina termo estável de <i>E. coli</i> enteroagregativa) |
| iucD | Aerobactina (síntese) | cnf | Fator citotóxico necrotizante |
| iutA | Aerobactina (receptor) | vat | Toxina vacuolizante |
| fyuA | Yersiniabactina (receptor) | hlyA | Hemolisina α |
| irp2 | Yersiniabactina (síntese) | hlyF | Suposto gene de hemolisina aviária |
| sitD | Gene do sistema de transporte de ferro em <i>Salmonella</i> | Outros | |
| chuA | Utilização do heme (receptor) | malX | Marcador da ilha de patogenicidade CFT073 |
| Invasinas | | ompT | Protease de membrana externa episomal |
| ibaA | Invasão do endotélio cerebral | | |
| gimB | Ilha de patogenicidade associada à meningite neonatal | | |

Quadro 1 – Principais fatores de virulência encontrados em APEC. (Adaptado de BARNES, VAILLANCOURT, GROSS, 2003)

toxina Stx (VTEC ou STEC) (HEUVELINK et al., 1999; PILIPCINEC et al., 1999). Apesar desse sorotipo já ter sido encontrado em aves de produção, o pombo doméstico (*Columba livia*) é apontado como potencial reservatório natural de STEC, por albergar o agente e não apresentar sinais clínicos de doença (DELL'OMO et al., 1998; FAROOQ et al., 2009; FERENS & HOVDE, 2011).

Os sorogrupos produtores de enterotoxinas (como O15) ou enteropatogênicos (como O128) são raramente isolados de aves com quadros de diarreia e provavelmente, resultam da infecção cruzada com mamíferos, sendo mais frequentes em aves silvestres e ornamentais (BLANCO et al., 1997a; NARDI et al., 2005; GUASTALLI et al., 2010).

Embora o risco sanitário representado por amostras diarreio gênicas pareça pouco representativo no Brasil, os profissionais envolvidos na cadeia de produção de produtos de origem aviária devem estar alerta para os riscos relacionados às amostras extra-intestinais – ExPEC. A similaridade da estrutura clonal de estirpes APEC com as de UPEC e NMEC humanas, sugerindo que as aves atuam como reservatórios de ExPEC (RODRIGUEZ-SIEK et al., 2005; KARIYAWASAM, SCACCIANOCE & NOLAN, 2007; BERGERON et al., 2012).

A comparação de amostras de *E. coli* de origem aviária e infecções extra-intestinais humanas, demonstrou que algumas dessas estirpes apresentam perfis de virulência muito próximos, não podendo ser distinguidas filogeneticamente e nem em ensaios experimentais in vivo;

estirpes humanas podem causar infecção em aves, assim como estirpes de origem aviária podem causar infecções em modelos mamíferos experimentais, reforçando a tese de um potencial zoonótico (MOULIN-SCHOULER et al., 2007; EWERS et al., 2007, TIVENDALE et al., 2010).

Bauchart et al. (2010) submeteram isolados de APEC e ExPEC humanas a uma análise de transcriptoma frente às temperaturas humana (37°C) e aviária (41°C). Tanto linhagens APEC, quanto linhagens extra-intestinais humanas exibiram perfil de expressão de genes semelhantes em ambas as temperaturas, reforçando a hipótese de potencial zoonótico de algumas cepas de APEC (BAUCHART et al., 2010).

A infecção sistêmica de aves pelo sorogrupo O6 foi descrita. Embora esse sorogrupo apresente uma prevalência baixa no Brasil (cerca de 4%), merece especial atenção por se tratar de uma expansão clonal de amostras de elevada patogenicidade e que apresentam genes de virulência semelhantes aos presentes em algumas amostras de origem humana (KNÖBL, 2005; KNÖBL et al., 2012).

Outra preocupação relacionada ao controle das infecções por *Escherichia coli* tem sido o aumento de resistência aos antimicrobianos, bem como o surgimento de estirpes com perfil de resistência múltipla e de espectro de resistência estendido. Essa preocupação atinge escala mundial e está associada à hipótese de que o uso intensivo de antibióticos nas criações animais, seja com finalidades terapêuticas ou como promotores de crescimento, aumenta

a pressão de seleção de resistência para algumas classes de antibióticos normalmente utilizados para tratamento de infecções humanas (PHILIPS et al., 2004).

Zanatta et al. (2004) analisaram 27 amostras de *E. coli* isoladas de aves com colibacilose da região centro-oeste do Estado de São Paulo e realizaram testes de sensibilidade a antimicrobianos. Obtiveram como resultado a resistência “*in vitro*” das amostras testadas frente a quase todas as drogas, sendo que as amostras não apresentaram resistência à ciprofloxacina, à norfloxacina e à gentamicina.

Miles e colaboradores (2006) isolaram 82 amostras de *E. coli* de frangos de corte e de urina e fezes de pacientes hospitalizados para se determinar a suscetibilidade das bactérias frente a 11 antimicrobianos. Encontraram 82,4% de resistência à tetraciclina nas amostras isoladas de aves comparadas a 43,8% nas amostras humanas. Além disso, as amostras aviárias apresentaram maior resistência à kanamicina e ao ácido nalidíxico, enquanto as de humanos foram mais resistentes ao cloranfenicol e à gentamicina (MILES, MCLAUGHLIN & BROWN, 2006).

Em uma análise envolvendo 251 amostras de *E. coli* de fezes de frangos e de poedeiras na Austrália, Obeng et al. (2012) encontraram 40,6% e 26,7% de resistência à tetraciclina e à ampicilina, respectivamente. Também observaram resistência à sulfa-trimetropin (12,4%), estreptomicina (10,8%), espectomicina (9,6%), neomicina (6,0%) e florfenicol (2,0%), mas nenhuma resistência foi observada à gentamicina, ciprofloxacina e ceftiofur.

Estirpes patogênicas de *Escherichia coli* extra-intestinal são geralmente resistentes a aminoglicosídeos, β-lactâmicos, sulfonamidas e tetraciclinas (LAMBIE et al., 2000; BARNES, VAILLANCOURT, GROSS, 2003). No entanto, em uma proporção crescente, isolados APEC também estão apresentando resistência à fluorquinolonas (BLANCO et al., 1997b). Seguindo a mesma tendência, o número de publicações descrevendo a existência de cepas de enterobactérias produtoras de β-lactamases de espectro estendido (EBSL) isoladas de humanos e animais de produção tem crescido exponencialmente (SALMON & WATTS, 2000; WINOKUR, BRUEGGEMANN, DE SALVO, 2000).

A utilização de antibióticos como as fluorquinolonas e β-lactâmicos tem sido responsável pelo aumento da mutagênese em bactérias através de indução de erro na expressão da DNA polimerásicas alternativas. A ciprofloxacina e fluorquinolona podem promover recombinação genética em *Escherichia coli* em concentrações subinibitórias “*in vitro*” (PÉREZ-CAPILLA et al., 2005; LOPEZ & BLAZQUEZ, 2009).

A resistência de cepas de enterobactérias com perfil de resistência múltipla é considerada emergente em vários

países e precisa ser monitorada (PHILIPS et al., 2004; PITOUT, 2012; NORDSTROM, LIU & PRICE, 2013).

Um inquérito epidemiológico envolvendo 1729 mulheres com infecção do trato urinário demonstrou que a prevalência de *Escherichia coli* multirresistente aumentou de 7,2% na década de 1950 para 63,6% no início do ano 2000 (TADESSE et al., 2012). Nordstrom et al. (2013) verificaram que, a infecção do trato urinário em mulheres pode ser considerada uma doença veiculada pelo alimento, uma vez que bactérias resistentes presentes nos alimentos de origem animal são capazes de colonizar o trato entérico humano, e em situações específicas, podem provocar infecções em sítios distantes, incluindo bexiga e rins. Denominaram esta situação clínica de “FUTI” (*Foodborne urinary tract infections*) e apontaram as aves como parte da cadeia epidemiológica destes supostos surtos de doença renal (NORDSTROM, LIU & PRICE, 2013). Essa discussão envolve diretamente a classe veterinária, bem como os demais profissionais da área médica. O uso racional de antibióticos será um desafio para as novas gerações e a percepção que o consumidor terá destas informações é de extrema importância. Alguns equívocos de interpretação sobre o modo intensivo de produção de proteína de origem animal no passado resultaram na rejeição de produtos de origem aviária por parte de consumidores europeus, gerando prejuízos indiretos e incalculáveis em função da queda de consumo de carnes e ovos.

Impacto econômico e dificuldades de controle da colibacilose aviária

Em aves comerciais, a colibacilose é considerada uma das doenças de maior impacto econômico. O agente está presente em várias etapas da cadeia de produção de aves, causando perdas nos incubatórios; aviários de reprodução (criação de matrizes, avós e bisavós); no setor de postura comercial; na produção de frangos de corte; e nos abatedouros. Perdas significativas também são observadas na criação de perus, codornas, avestruzes e outras aves de menor interesse comercial (FERREIRA & KNÖBL, 2009).

No Brasil, estima-se que 4% do total de aves abatidas sejam condenadas pela presença de aerossaculite e 1,3% por lesões sistêmicas provocadas pela *Escherichia coli*. A celulite é responsável por 45,2% das carcaças de frangos condenadas por lesões de pele, sendo as perdas econômicas estimadas em US\$ 10 milhões anuais (FALLAVENA et al., 2000). Estes dados isolados são suficientes para a estimativa de um prejuízo da ordem de mais de 250 milhões de dólares ao ano só nos abatedouros brasileiros.

O controle da colibacilose é bastante complexo e demanda ações sistemáticas e continuadas que se iniciam

pelo correto diagnóstico da enfermidade. O diagnóstico pode ser realizado pelo do isolamento do agente infeccioso em meios diferenciais e seletivos, seguido da identificação bioquímica. O isolamento, embora seja extremamente simples, só possui valor de diagnóstico se as amostras tiverem sido coletadas com rigor absoluto, sem a possibilidade de contaminação fecal (FERREIRA & KNÖBL, 2009).

A confirmação de diagnóstico pode ser realizada com auxílio de técnicas moleculares e a reação de PCR é o meio mais rápido e eficaz para a pesquisa de genes de virulência (RODRIGUEZ-SIEK et al., 2005). A determinação do sorotipo possui grande valor na compreensão da epidemiologia da doença e auxilia também na decisão sobre o uso de vacinas, uma vez que a maioria das vacinas oferece proteção para um número limitado de sorogrupos (BARNES, VAILLANCOURT, GROSS, 2003).

O uso de antimicrobianos pode ser útil como opção terapêutica para diminuir os prejuízos econômicos decorrentes da colibacilose aviária. No entanto, o sucesso do tratamento depende da escolha adequada do medicamento, com a utilização de antibiograma, e também da precocidade do mesmo. Aves com infecção sistêmica normalmente não apresentam boa resposta ao tratamento em função da existência de choque de natureza inflamatória (endotoxemia) (FERREIRA & KNÖBL, 2009).

A restrição ao uso de substâncias promotoras de crescimento de natureza medicamentosa nos últimos anos aumentou o desafio de controle da doença em aves jovens. Embora o uso de probióticos e prebióticos contribua para a colonização intestinal por bactérias benéficas à saúde intestinal, nem sempre são efetivos na eliminação de amostras patogênicas do intestino. Essas cepas patogênicas presentes no trato intestinal, quando eliminadas nas fezes, promovem uma intensa contaminação ambiental e favorecem a ocorrência de infecções extra-intestinais e sistêmicas, resultando no aumento da mortalidade de aves jovens (PHILIPS et al., 2004).

A utilização de probióticos ou produtos de exclusão competitiva pode atuar de forma indireta, reduzindo a colonização intestinal por cepas patogênicas, a excreção fecal e contaminação ambiental por APEC. O uso de extratos vegetais, como promotores de crescimento naturais, tem sido testado, mas os resultados são bastante variáveis e não existe, até o momento, uma substância com atividade semelhante aos promotores de natureza medicamentosa (BARRETO et al., 2008).

O controle da contaminação ambiental também é difícil, uma vez que o agente é eliminado pelas fezes e pode ser facilmente transmitido por via horizontal. A formação de biofilmes ocorre em função da presença de

exopolissacarídeo (como o ácido colânico) que favorece a aderência bacteriana às superfícies inertes, aumenta a resistência ambiental do agente e, muitas vezes, torna algumas cepas resistentes à ação de desinfetantes utilizados rotineiramente nos galpões (SESTI, 2005; RÄTTÖ et al., 2006). A limpeza periódica dos utensílios pode reduzir a formação de biofilmes e diminuir a contaminação fecal da água e dos alimentos (FERREIRA & KNÖBL, 2009).

A utilização de vacinas é uma estratégia capaz de reduzir os prejuízos econômicos em aves adultas, mas apresenta algumas limitações. As primeiras vacinas disponíveis no mercado foram as bacterinas (inativadas). Embora a vacina possa reduzir momentaneamente os prejuízos econômicos, dificilmente fornecerá uma proteção de longo prazo contra todos os sorotipos circulantes. Deve-se considerar que vacinas inativadas necessitam de adjuvantes para potencializar e prolongar o período de resposta imune, sendo mais onerosas e capazes de causar efeitos colaterais nas aves. Muitos avicultores refutaram o uso destas vacinas em função da lesão causada no peito da ave e da falta de proteção contra sorotipos heterólogos (BARNES, VAILLANCOURT & GROSS, 2003).

O uso comercial de vacinas vivas é um tópico bastante polêmico, principalmente em função da preocupação com a segurança do agente. Esta preocupação é crescente em função das semelhanças genéticas entre APEC e outras ExPEC. Vacinas atenuadas e recombinantes estão sendo testadas para a proteção contra a colibacilose aviária. Fromer et al. (1994) demonstraram que uma vacina preparada com estirpe não patogênica de *E. coli* induziu imunidade e proteção contra estirpes homólogas e heterólogas em aves vacinadas com 14 e 21 dias de idade. Lynne et al. (2012) testaram uma vacina recombinante baseada em proteínas de fusão do gene *iss* de *E. coli* e demonstraram que esta conferiu maior proteção as aves após o desafio quando comparadas ao grupo controle.

Considerações finais

A caracterização das amostras de APEC permite uma melhor compreensão da patogenia da colibacilose e poderá, no futuro, auxiliar na criação de novas ferramentas para a terapia e prevenção da doença. É fato que a diversidade genética das estirpes de APEC resulta em diferentes interpretações de trabalhos científicos sobre os riscos zoonóticos decorrentes da similaridade genética entre isolados de origem humana e aviária. Até o momento, não há um consenso de literatura sobre os riscos sanitários associados ao consumo ou manipulação de produtos de origem aviária.

Novos estudos são necessários para esclarecer o potencial zoonótico da APEC. O uso de técnicas

moleculares como AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*), ERIC-PCR (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e MSLT (*Multilocus Sequencing Typing*) podem auxiliar na compreensão epidemiológica e nas pesquisas sobre variabilidade clonal.

Muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas no sentido de produzir vacinas de subunidades, deletadas, atenuadas e recombinantes que sejam consideradas eficazes, mas também seguras. É provável que em um futuro próximo os mercados de vacinas e de desinfetantes apresentem novos produtos que auxiliem no controle da colibacilose aviária. Também é factível que nos próximos anos aumente o rigor em relação ao uso de medicamentos antimicrobianos nas criações animais.

Os profissionais veterinários devem estar preparados para diagnosticar, tratar e prevenir as infecções de aves por APEC, com vistas à produção de um alimento seguro. Ao produtor cabe o desafio de melhorar o manejo, a higiene das instalações e implantar normas de biossegurança para diminuir os prejuízos econômicos e os riscos da colibacilose aviária.

Referências

- ABIEC. Carne brasileira é barrada pela UE por conter bactéria E. coli. Uol Economia. disponível em: <<http://economia.uol.com.br/noticias/afp/2013/04/26/carne-brasileira-e-barrada-pela-ue-por-presenca-da-bacteria-ecoli.htm>>. Acessado em 31/05/2013.
- BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J.; GROSS, W. B. Colibacillosis. In: Saif, Y.M. (Ed.). *Diseases of Poultry*. 11th ed. Ames: Iowa State University Press, 2003. chap. 18, p. 631-652.
- BARRETO, M.S.R.; MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M.C.; PEREIRA, P.W.Z.; RIZZO, P.V. Plant extracts used as growth promoters in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.10, n.2, p.109-115, 2008.
- BAUCHART, P.; GERMON P.; BRÉE A.; OSWALD E.; HACKER J.; DOBRINDT U. Pathogenomic comparison of human extraintestinal and avian pathogenic *Escherichia coli* search for factors involved in host specificity or zoonotic potential. *Microbial Pathogenesis*, v.49, n.3, p.105-15, 2010.
- BERGERON, C.R.; PRUSSING, C.; BOERLIN, P.; DAIGNAULT, D.; DUTIL, L.; REID-SMITH, R.J.; ZHANEL, G.G.; MANGES, A.M. Chicken as reservoir for Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* in humans, Canada. *Emerging Infectious Diseases*, v. 18, n. 3, p.415-421, 2012.
- 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, p.2953-2957, 1997a.
- BLANCO, J.E.; BLANCO, M.; MORA, A.; et al. 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, p.2184-2185, 1997b.
- CHASE-TOPPING, M.E.; ROSSER T.; ALLISON L.J.; COURCIER E.; EVANS J.; MCKENDRICK I.J.; PEARCE M.C.; HANDEL I.; CAPRIOLI A.; KARCH H.; HANSON M.F.; POLLOCK K.G.J.; LOCKING M.E.; WOOLHOUSE M.E.J.; MATTHEWS L.; LOW J.C.; GALLY D.L. Pathogenic potential to humans of bovine *Escherichia coli* O26, Scotland. *Emerging Infectious Diseases*, v.18, n.3, p.439-448, 2012.
- CROXEN, M.A.; FINLAY, B.B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*, v.8, p. 26-38, 2010.
- DELL'OMO, G.; MORABITO, S.; QUONDAM, R.; AGRIMI, U.; CIUCHINI, F.; MACRÌ, A.; CAPRIOLI, A. Feral pigeons as a source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Veterinary Record*, v. 142, n.12, p. 309-310, 1998.
- 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.269-73, 2005.
- EWERS, C.; WILKING, H.; KIESSLING, S.; ALT, K.; ANTÃO, E.M.; LATURNUS, C.; DIEHL, I.; GLODDE, S.; HOMEIER, T.; BOHNKE, U.; STEINRUK, H.; PHILIPP, H.C.; WIELER, L.H. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis causing *Escherichia coli*: How closely related are they? *International Journal of Medical Microbiology*, v.297, p.163-176, 2007.
- FALLAVENA, L. C. B.; MORAES, H. L. S.; SALLE, C. T. P.; DA SILVA A. B.; VARGAS, R. S.; DO NASCIMENTO, V. P.; CANAL, C. W. Diagnosis of skin lesions in condemned or downgraded broiler carcasses—amicroscopic and macroscopic study. *Avian Pathology*, v.29, p.557-562, 2000.
- FAROOQ, S.; HUSSAIN, I.; MIR, M.A.; BHAT, M.A.; WANI, S.A. Isolation of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* and Shiga toxin 1 and 2f-producing *Escherichia coli* from avian species in India. *Letters in Applied Microbiology*, v.48, p.692-697, 2009.

- FERENS, W. A.; HOVDÉ, C. J. Escherichia coli O157:H7: Animal Reservoir and Sources of Human Infection. **Foodborne Pathogens and Diseases**, v.8, n.4, p. 465-487, 2011.
- FERREIRA, A.J.P.; KNÖBL, T. Colibacilose aviária. In: BERCHIERI JR., A.; SILVA, E.N., DI FABIO, J.; SEST, L.; ZUANAZE, M.A. **Doenças das Aves**, 2ª. Ed. Campinas: FACTA, 2009.1102p.
- FROMER, A., FREIDLIN, P. J.; BOCK, R. R., LEITNER, G., CHAFFER, M.; HELLER, E. D. Experimental vaccination of young chickens with a live, non-pathogenic strain of Escherichia coli. **Avian Pathology**, v.23, p.425-433, 1994.
- GUASTALLI, E. A. L.; GAMA, N. M. S. Q.; BUIM, M. R.; OLIVEIRA, R. A.; FERREIRA A. J. F.; LEITE, D. S. Índice de patogenicidade, produção de hemolisina e sorogrupo de amostras de Escherichia coli isoladas de aves de postura comercial. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p.153-157, 2010.
- HEUVELINK, A.E., ZWARTKRUIS-NAHUIS, J.T.M., VAN DEN BIGGELAAR, F.L.A.M., VAN LEEUWEN, W.J., DE BOER, E. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 from slaughter pigs and poultry. **International Journal of Food Microbiology**, v.52, n.1-2, p.67-75, 1999.
- IKUNO, A.A.; GUASTALLI, E.A.L.; BUIM, M.L.; GAMA, N.M.S.Q.; FRANÇA, S.Q.; ALONSO, A.C.; FUJIKURA, L.M.; FERREIRA, V.C.A. Genes de virulência associados em Escherichia coli (APEC) isoladas de produtores comerciais, do meio ambiente e de água de dessedentação de granjas de postura de ovos. **O Biológico**, v.68, Suplemento, p.68-72, 2006.
- JÄNØEN, T.; SCHWARZ, C.; PREIKSCHAT, P.; VOSS, M.; PHILIPP, H.C.; WIELER, L.H. Virulence-associated genes in avian pathogenic Escherichia coli (APEC) isolated from internal organs of poultry having died from colibacillosis. **International Journal Medical Microbiology**, v.291, p.371-378, 2001.
- JOHNSON, T.; WANNEMUEHLER, Y.; DOETKOTT, C.; JOHNSON, S.J.; ROSENBERGER, S.; NOLAN, L. Identification of minimal predictors of avian pathogenic Escherichia coli virulence for use as rapid diagnostic tool. **Journal of Clinical Microbiology**, v.46, p.3987-3996, 2008.
- KAHN, R.E.; MOROZOV, I.; FELDMANN, H.; RICHT, J.A. 6th International Conference on Emerging Zoonoses. **Zoonoses Public Health**, v.59, s.2, p.2-31, 2012. doi: 10.1111/j.1863-2378.2012.01539.x.
- KARIYAWASAM, S.; SCACCIANOCE, J.A.; NOLAN, L.K. Common and specific genomic sequences of avian and human extraintestinal pathogenic Escherichia coli as determined by genomic subtractive hybridization. **BMC Microbiology**, v.7, n.81, p.1-8, 2007.
- KNÖBL, T. **Caracterização Epidemiológica, molecular e de virulência de Escherichia coli sfa + isoladas de aves**. 2005. 78f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, 2005.
- KNÖBL, T.; MORENO, A.M.M.; PAIXÃO, R.; GOMES, T.A.T.; MIDOLLI, M.A.M.; 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, p.1-7, 2012.
- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCRECKENBERGER, W.C. **Diagnóstico microbiológico**. 5a. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 1465p.
- LAMBIE, N.; NGELEKA, M.; BROWN, G.; RYAN, J. Retrospective study on Escherichia coli infection in broiler subjected to postmortem examination and antibiotic resistance of isolates in Trinidad. **Avian Diseases**, v.44, p.155-160, 2000.
- LA RAGIONE, R.M.; WOODWARD, M.J. Virulence factors of Escherichia coli serotypes associated with avian colisepticaemia. **Research in Veterinary Science**, v.73, p.27-35, 2002.
- LEUNG, K.T.; MACKERETH, R.; TIEN, Y.C.; TOPP, E. A comparison of AFLP and ERIC-PCR analyses for discriminating Escherichia coli from cattle, pig and human sources. **FEMS Microbiology Ecology**, v.47, p.111-119, 2004.
- LOPEZ, E.; BLASQUEZ, J. Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on intrachromosomal homologous recombination in Escherichia coli. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.53, p.3411-3415, 2009.
- LYNNE, A. M.; KARIYAMASSAM, S.; WANNEMUEHLER, Y.; JOHNSON, S. J.; SINHA, A. S.; LYNNE, D. K.; MOON, H. W.; JORDAN, D. M.; LOGUE, C. M.; FOLEY, S. L.; NOLAN, L. K. Recombinant Iss as a potential vaccine for avian colibacillosis. **Avian Diseases**, v.56, p.192-199, 2012.
- MENÃO, M. C.; FERREIRA, C. S. A.; CASTRO, A. G. M.; KNÖBL, T.; PIANTINO FERREIRA, A. J. Sorogrupos de Escherichia coli isoladas de frangos com doença respiratória crônica. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, n.4, p.15-17, 2002.
- MILES, T.D.; MCLAUGHLIN, W.; BROWN, P.D. Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolates from broiler chickens and humans. **Veterinary Research**, v.2, n.7, 2006.
- MOULIN-SCHOULER, M.; RÉPÉRANT, M.; LAURENT, S.; BRÉE, A.; MIGNON-GRASTEAU, S.; GERMON, P.; RASSCHAERT, D.; SCHOULER, C. Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli strains of Avian and Human Origin: Link between phylogenetic groups and common virulence patterns. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, p.3366-3376, 2007.
- MUNIESA, M.; HAMMERL, J.A.; HERTWIG, S.; APPEL, B.; BRÜSSOW, H. Shiga toxin-producing Escherichia coli O104:H4: a new challenge for microbiology. **Applied in Environmental Microbiology**, v.78, n.12, p.4065-4073, 2012. doi: 10.1128/AEM.00217-12
- NAKAZATO, G.; CAMPOS, T. A.; STEHLING, E. G.; BROCCHI M.; SILVEIRA, W. D. Virulence factors of avian pathogenic Escherichia coli (APEC). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.7, p.479-486, 2009.
- NARDI A.R., SALVATORI M.R., COSWIG L.T., GATTI M.S., LEITE D.S., VALADARES G.F., NETO M.G., SHOCKEN-ITURRINO R.P., BLANCO J.E. & YANO T. Type 2 heatlabile enterotoxin (LTII) producing Escherichia coli isolated from ostriches with diarrhea. **Veterinary Microbiology**, v.105, p.245-249, 2005.
- NATARO, J.P.; KAPER, J.B. Diarrheagenic Escherichia coli. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.1, p.142-201, 1998.
- NORDSTROM, L.; LIU, C.M.; PRICE, L.B. Foodborne urinary tract infections: a new paradigm for antimicrobial-resistant foodborne illness. **Frontiers in Microbiology**, v.4, n.29, p.1-6, 2013.
- OBENG, A.S.; RICKARD, H.; NDI, O.; SEXTON, M.; BARTON, M. Antibiotic resistance, phylogenetic grouping and virulence potential of Escherichia coli isolated from the faeces of intensively farmed and free range poultry. **Veterinary Microbiology**, v.154, n.3-4, p. 305-315, 2012.
- ORSKOV F.; ORSKOV I. Escherichia coli serotyping and disease in man and animals. **Canadian Journal of Microbiology**, v.38, p.699-704, 1992.
- PÉREZ-CAPILLA T.; BAQUERO M.R.; GÓMEZ-GÓMEZ, J.M.; IONEL A.; MARTÍN S.; BLÁZQUEZ J. SOS-Independent induction of dinB transcription by B-lactam-mediated inhibition of cell wall synthesis in Escherichia coli. **Journal of Bacteriology**, v.187, p.1515-1518, 2005.
- PHILLIPS, I.; CASEWELL, M.; COX, T.; DE GROOT, B.; FRIIS, C.; JONES, R.; NIGHTINGALE, C.; PRESTON, R.; WADDELL, J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.53, p.28-52, 2004.
- PILIPCINEC, E. L.; TKACIKOVA, H. T.; NAAS, R.; CABADA; I. MIKULA. Isolation of verotoxigenic Escherichia coli O157 from poultry. **Folia Microbiologica**, v. 44, p.455-456, 1999.
- ITOUT, J.D.D. Extraintestinal pathogenic Escherichia coli: a combination of virulence with antibiotic resistance. **Frontiers in Microbiology**, v.3, n.9, p.1-7, 2012.

RÄTTÖ M.; VERHOEF R.; SUIHKO M.L.; BLANCO A.; SCHOLS H.A.; VORAGEN A.G.J.; WILTING R.; SIIKA-AHO M.; BUCHERT J. Colanic acid is an exopolysaccharide common to many enterobacteria isolated from paper-machine slimes. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v.33, p.359-367, 2006.

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

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

SALMON, S.A.; WATTS, J.L. Minimum inhibitory concentration determinations for various antimicrobial agents against 1570 bacterial isolates from turkey poults. **Avian Diseases**, v.44, p.85-98, 2000.

SESTI L.A.C. Biosseguridade em granjas de reprodutores. In: MACARI M. & MENDES A.A. **Manejo de matrizes de corte**. Facta: Campinas 2005. pp.243-321.

SMITH, J.L.; FRATAMICO, P.M.; GUNTHER, N.W. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.4, n.2, p.134-163, 2007.

SUSSMAN, M. *Escherichia coli* and human disease. In: Sussman, M. **Escherichia coli mechanisms of virulence**. Cambridge: University Press, 1997.

TADESSE, D.A.; ZHAO, S.; TONG, E.; AYERS, S.; SINGH, A.; BARTHOLOMEW, M.J. et al. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals. **Emerging Infectious Diseases**, v.18, p.741-749, 2012.

TAI P. Antibiótico usado em galinhas mata 1500 pessoas por ano na Europa. Disponível em <<http://www.dihitt.com/barra/antibiotico-usado-em-galinhas-mata-1500-pessoas-por-ano-na-europa-1>>. Acesso em: 21 Agosto de 2013.

TIVENDALE K.A.; ALLEN, J. L.; GINNS, C. A.; CRABB, B. S.; BROWNING, G. F. Association of *iss* and *iucA*, but not *tsh*, with plasmid-mediated virulence of avian pathogenic *Escherichia coli*. **Infection and Immunity**, v.72, p.6554-6560, 2004.

TIVENDALE K.A.; LOGUE C.M.; KARIYAWASAM S.; JORDAN D.; HUSSEIN A., LI G.; WANNEMUEHLER Y.; NOLAN L.K. Avian-pathogenic *Escherichia coli* strains are similar to neonatal meningitis *E. coli* strains and are able to cause meningitis in the rat model of human disease. **Infection and Immunity**, v.78, p.3412-3419, 2010.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4ª. Ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718p.

WINOKUR, PL; BRUEGGEMANN, A.; DE SALVO, D.L. Animal and human multidrug-resistant, cephalosporin-resistant *Salmonella* isolates expressing a plasmid-mediated CMY-2 AmpC beta-lactamase. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.44, p.2777-2783, 2000.

VANDEKERCHOVE, D.; DE HERDT, P.; LAEVENS, H.; PASMANS, F. Colibacillosis in caged layer hens: characteristics of the disease and the aetiological agent. **Avian Pathology**, v.33, n.2, p.117-125, 2004.

ZANATTA, G.F.; KANASHIRO, A.M.I.; CASTRO, A.G.M.; CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; PULICI, S.C.P. Susceptibilidade de amostras de *Escherichia coli* de origem aviária a antimicrobianos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.3, p.283-286, 2004.