

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
HIGIENE VETERINÁRIA E PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO  
DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**

**CLÁUDIA LEAL ANDRADE**

**HISTOPATOLOGIA E IDENTIFICAÇÃO DA  
*Escherichia coli* COMO AGENTE CAUSAL DA  
CELULITE AVIÁRIA EM FRANGOS DE CORTE**

**UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
FLUMINENSE**

**Niterói  
2005**

**CLÁUDIA LEAL ANDRADE**

**HISTOPATOLOGIA E IDENTIFICAÇÃO DA *Escherichia coli* COMO AGENTE CAUSAL DA CELULITE AVIÁRIA EM FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. ROGÉRIO TORTELLY

Co-orientador: Prof. Dr. LUIZ ANTONIO TRINDADE DE OLIVEIRA

Niterói

2005

**CLÁUDIA LEAL ANDRADE**

**HISTOPATOLOGIA E IDENTIFICAÇÃO DA *Escherichia coli* COMO AGENTE CAUSAL DA CELULITE AVIÁRIA EM FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovado em / / 2005

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Rogério Tortelly  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Dr. Róbson Maia Franco  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Dr. Rodrigo Caldas Menezes  
Fundação Oswaldo Cruz

Niterói/RJ

2005

Aos meus pais Wilson de Oliveira Andrade e Regina Leal Andrade, ao meu amigo Luis Alberto dos Santos Frota e, principalmente, ao meu namorado Gustavo Bernardo Ferreira pelo apoio e incentivo durante minha vida acadêmica.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu namorado Gustavo Bernardo Ferreira que sempre me apoiou e incentivou em todos os momentos, não me deixou desanimar, além de me ajudar a realizar esta dissertação.

Aos meus pais, de quem tanto me orgulho, por tornarem tudo isto possível e por terem me ensinado a ter determinação e paciência.

Ao meu orientador e amigo Rogério Tortelly que sempre acreditou na minha capacidade, e aconselhou-me nas mais difíceis decisões.

Aos meus irmãos Cíntia, Leonardo, Carla e Mariana, pelo companheirismo e lealdade, e pelo suporte diário.

A minha sobrinha e afilhada Thainá por existir e tornar meu mundo melhor.

Ao meu amigo Luis Alberto dos Santos Frota, a quem muito devo esta vitória, pelo incentivo ao longo da vida.

Aos meus amigos Ana Delta e Sidney Ferreira pela torcida.

Às minhas amigas para todo o sempre, Alessandra Cuiñas, Aline Pacheco, Ana Carolina de Andrade, Danielle Barbosa, Lucimar Martins, Mônica Macedo e Simone Amado, pela amizade incondicional.

Às minha amigas Amanda, Mariana, Roberta e Tatiana pela dedicação, apoio e companheirismo, há muito tempo cativado.

Aos amigos Anton, Heloísa, Käthe, Luís Felipe, Eny, Raphael, Leonardo e Cláudia pelos momentos de descontração e amadurecimento.

Aos amigos do Serviço de Anatomia Patológica Prof. Jefferson Andrade dos Santos, pelo momentos de reflexão e alegria.

Ao professor Róbson Maia Franco pela inestimável ajuda e incentivo.

Ao professor Luis Antonio Trindade de Oliveira e aos colegas do departamento de Controle Microbiológico de P. O. A., pela assistência na elaboração do trabalho.

Ao professor Elmiro Rosendo do Nascimento pela ajuda estatística.

A equipe do SIF 4430 pelo apoio na coleta de material.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro durante o desenvolvimento desta dissertação.

## SUMÁRIO

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**, p. 7

**LISTA DE TABELAS**, p. 9

**RESUMO**, p. 10

**ABSTRACT**, p. 11

**1 INTRODUÇÃO**, p. 12

**2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**, p. 14

2.1 ECONOMIA AVÍCOLA BRASILEIRA, p. 14

2.2 INSPEÇÃO *POST MORTEM* EM FRANGOS DE CORTE, p. 17

2.3 ANATOMIA TEGUMENTAR DA AVE, p. 18

2.3.1 PENAS, p. 18

2.3.2 PELE, p. 18

2.4 LESÕES CUTÂNEAS, p. 19

2.4.1 DERMATITES, p. 21

2.5 CELULITE AVIÁRIA, p. 22

2.5.1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS DA CELULITE AVIÁRIA, p. 27

2.5.2 ASPECTOS MICROSCÓPICOS DA CELULITE AVIÁRIA, p. 28

2.6 *Escherichia coli* E CELULITE AVIÁRIA, p. 29

**3 MATERIAL E MÉTODOS**, p. 34

3.1 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA, p. 35

3.2 ANÁLISE BACTERIOLÓGICA, p. 36

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA, p. 37

**4 RESULTADOS**, p. 39

4.1 ANATOMOPATOLÓGICO, p. 39

4.2 BACTERIOLÓGICO, p. 44

4.3 ESTATÍSTICO, p. 46

**5 DISCUSSÃO**, p. 50**6 CONCLUSÃO**, p. 55**7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, p. 56

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Esquema de identificação da *Escherichia coli* utilizado em adaptação ao método de Quinn et al. (1994), p. 38

FIGURA 2 – Comparação entre a carcaça com lesão de celulite na região de abdome e coxa (esquerda) e a carcaça controle sem alteração macroscópica (direita), p. 40

FIGURA 3 – Localização atípica da lesão de celulite na região do peito, p. 40

FIGURA 4 – Frango. Celulite. Presença de placas amarelas, firmes e destacáveis no subcutâneo, p. 41

FIGURA 5 – Frango. Celulite. Área hemorrágica na musculatura de peito afetada pela celulite, p. 41

FIGURA 6 – Frango. Celulite. Placa de fibrina com restos celulares circundados por macrófagos e fibrose. H. E. Obj. 10X, p. 42

FIGURA 7 – Frango. Celulite. Placa fibrino-caseosa (a) envolta por uma barreira de histiócitos (seta) circundado pelo tecido fibroso (b). H. E. Obj. 4X, p. 42

FIGURA 8 – Frango. Celulite. Infiltrado inflamatório rico em heterófilos no tecido subcutâneo (seta). H. E. Obj. 10X, p. 43



FIGURA 9 – Frango. Celulite. Infiltrado inflamatório na musculatura regional. H. E.  
Obj.10X, p. 43

FIGURA 10 – Principais alterações microscópicas encontradas em frangos de corte  
com suspeita de celulite – 2004, p. 44

FIGURA 11 – Placa de ágar sangue apresentando colônia com halo de hemólise,  
p. 45

FIGURA 12 – Placa de ágar MacConkey apresentando colônias roxas, p. 45

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Comparação entre as metodologias utilizadas na análise bacteriológica das amostras, p. 47

TABELA 2 – Comparação entre os meios de cultura utilizados no isolamento da *E.coli*, p. 47

TABELA 3 – Correspondência entre as lesões microscópicas da celulite e a suspeita macroscópica da doença, p. 47

TABELA 4 – Comparação entre o número de isolamentos de *E. coli* e os períodos de coleta das amostras, p. 48

TABELA 5 – Comparação entre as metodologias utilizadas no isolamento da *E. coli* e de outras bactérias, utilizando o meio de cultura ágar sangue, p. 48

TABELA 6 – Comparação entre as metodologias utilizadas no isolamento da *E. coli* e de outras bactérias, utilizando o meio de cultura ágar MacConkey, p. 49

## RESUMO

A celulite aviária é uma das maiores causas de condenação de frangos de corte, causando enormes prejuízos econômicos na indústria avícola. Além disso, a enfermidade está associada a bactérias como a *Escherichia coli*, sendo, então, ainda mais relevante. O presente estudo consiste na descrição das lesões típicas de celulite e sua comparação com o isolamento da bactéria. Foram coletados 30 fragmentos com suspeita macroscópica de celulite e 30 controles. A partir destas amostras foram realizadas análises bacteriológicas e histopatológicas. Das 30 amostras suspeitas de celulite, todas foram compatíveis com a microscopia, enquanto que as amostras controle, somente uma apresentou características histológicas da doença. Das amostras com confirmação histopatológica, 76,6% foram positivas para a presença de *E. coli*. Como a inspeção sanitária realizada nos matadouros é essencialmente macroscópica, a análise histopatológica é uma importante ferramenta para descrever a lesão e confirmar o diagnóstico, além de comprovar que a associação do exame macroscópico e da localização da lesão é a forma mais prática de se obter a correta e rápida diferenciação das demais doenças cutâneas.

Palavras chaves: frangos, celulite, *Escherichia coli*, histopatologia.

## ABSTRACT

Avian cellulitis is one of the most important causes of broilers condemnation, causing huge economic losses. Besides, the disease is associated to bacteria, such as *Escherichia coli*, being very relevant for this reason. The aim of this study is to describe the lesions of cellulitis and compare them with their isolates. A total of 30 birds were selected based on the presence of skin lesions similar to those of cellulitis and 30 were control samples. Skin with gross findings were collected for bacterial and pathological analyses, as well the control ones. All the 30 suspicious samples matched the histopathological features, while among the control, only one of them had characteristics of cellulitis. Among the samples with histopathological findings, 76,6% were positive for *E. coli*. Regarding that the sanitary inspection done in the slaughterhouses is essentially by gross lesions, the histopathological analysis is a very useful and important tool to describe the lesions and to confirm the diagnosis, besides of proving that the association between macroscopic examination and the location of the lesion is the most practical way to obtain a correct and fast differentiation of the other cutaneous diseases.

Key Words: broilers, *Escherichia coli*, cellulitis, histopathology.

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria avícola tem importância significativa na economia mundial, e no Brasil, movimentada bilhões de dólares por ano. Em 2004, a avicultura brasileira alcançou uma produção recorde de 8,5 milhões de toneladas de carne de frango, 10,3% maior que o volume de 2003, quando produziu 7,8 milhões de toneladas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS – ABEF, 2005; AVICULTURA INDUSTRIAL, 2005; UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA – UBA, 2005). Atualmente, a produção avícola é eficiente e de alta produtividade, baseada em um sistema técnico-científico avançado, com otimização da produção, oferecendo proteína de boa qualidade a baixo custo. Com todo esse crescimento econômico e evolução na produção, a preocupação com os aspectos sanitários também aumentaram, e com isso, o aprimoramento tecnológico deve estar associado à evolução nas pesquisas relacionadas à sanidade das aves.

Muitas enfermidades causam grandes prejuízos à indústria avícola, já que, de acordo com critério de julgamento do médico veterinário, essas doenças acarretam condenações das carcaças e/ou vísceras na linha de inspeção, durante o abate das aves. De acordo com a Normativa nº 210 de 10/11/98 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1998), qualquer órgão ou partes da carcaça que estiverem afetados por um processo inflamatório, como a celulite, deverá ser retirado, e se existir evidência de caráter sistêmico da patologia, a carcaça e as vísceras deverão ser condenadas na sua totalidade.

Apesar do ótimo desempenho nos últimos anos, a avicultura apresenta problemas com relação à sanidade das aves. Em função do tipo de criação, em escala industrial dos frangos de corte, as enfermidades cutâneas vêm se tornando cada vez mais frequentes, com crescentes prejuízos à avicultura. Estes danos são

causados pela condenação parcial ou total das carcaças nos matadouros, com redução no valor do produto final, despesas com mão-de-obra adicional e equipamentos, redução na velocidade de processamento das carcaças e gastos com limpeza e desinfecção das instalações.

Dentre essas enfermidades, destaca-se a celulite aviária, uma das maiores causas de condenação total de frangos de corte em todo o mundo, acarretando perdas econômicas consideráveis. A principal delas é com a condenação total das carcaças, porém, as partes rejeitadas na condenação parcial também estão incluídas nesse montante, pois diminuem o aproveitamento das mesmas.

A celulite é definida como um processo inflamatório que pode resultar na presença de um exsudato purulento agudo no tecido subcutâneo, e, é tipicamente, observada na região da coxa e baixo abdome (ELFADIL, et al., 1996c).

Além de sua importância econômica, a celulite é preocupante em termos de Saúde Pública, tendo em vista que inúmeros microrganismos estão envolvidos neste processo, principalmente a *Escherichia coli*, que pode ser isolada na maioria das lesões (MESSIER et al., 1993; ONDERKA et al., 1997), associada ou não a outros microrganismos (PEIGHAMBARI et al., 1995b). Tal bactéria é tida como agente causal da enfermidade em questão.

Acredita-se que a celulite resulte de uma quebra na integridade da pele, como um ferimento traumático ou outra abrasão cutânea, permitindo que as bactérias entrem e colonizem o tecido subcutâneo (NORTON, 1997).

O estudo objetivou caracterizar as alterações macro e microscópicas da enfermidade em frangos, indicar as principais localizações em frangos de corte na linha de abate e comprovar o papel da *E. coli* na gênese do processo inflamatório.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 ECONOMIA AVÍCOLA BRASILEIRA**

O agronegócio brasileiro é uma atividade próspera, segura e rentável. É moderno, eficiente e competitivo, sendo responsável por 33% do Produto Interno Bruto (PIB), 42% das exportações totais e 37% dos empregos brasileiros. Nos últimos anos, poucos países tiveram um crescimento tão expressivo no comércio internacional quanto o Brasil. O país é um dos líderes mundiais na produção e exportação de vários produtos agropecuários. O bom desempenho do setor e a oferta crescente de empregos na cadeia produtiva não podem ser atribuídos apenas à vocação brasileira. O desenvolvimento científico-tecnológico e a modernização da atividade rural obtidos por intermédio de pesquisas e da expansão da indústria de máquinas e implementos, contribuíram igualmente para transformar o país em uma das mais respeitáveis plataformas mundiais do agronegócio. A adoção de programas de sanidade animal, garantindo a produção de alimentos saudáveis, também ajudou o país a alcançar essa condição. O clima privilegiado, o solo fértil, a disponibilidade de água e a inigualável biodiversidade, além da mão-de-obra qualificada, dão ao Brasil uma condição singular para o desenvolvimento da agropecuária e de todas as demais atividades relacionadas ao setor (BRASIL, 2005).

Neste cenário, a indústria avícola representa atualmente um dos mais importantes setores do agronegócio no Brasil. O país, no ano de 2004, teve uma produção recorde de 8,5 milhões de toneladas de carne de frangos (Quadro 1), dos quais 2,4 milhões foram exportados. Isso gerou uma receita de US\$ 2,5 bilhões, representando um crescimento econômico de 44% sobre o ano anterior, quando o Brasil ultrapassou as exportações americanas de carne de frango, em receita

(ABEF, 2005). Em 2004, além de lucrar outra vez mais que os americanos, o país passou à frente no volume total da carne embarcada (Quadro 2), confirmando-se como uma excelência mundial na produção de proteína animal (AVISITE, 2005).

QUADRO 1 – Produção de carne de frango no período de 2000 a 2004 (em mil toneladas)

	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>
<b>EUA</b>	13.703	14.033	14.467	14.696	15.312
<b>CHINA</b>	9.269	9.278	9.558	9.898	9.700
<b>BRASIL</b>	5.980	6.567	7.449	7.645	8.105
<b>UNIÃO EUROPEIA</b>	7.606	7.883	7.788	7.520	7.695
<b>TOTAL</b>	50.474	52.240	54.065	54.254	55.233

Fonte: ABEF, 2005

QUADRO 2 – Exportação mundial de carne de frango no período de 2000 a 2004 (em mil toneladas)

	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>
<b>BRASIL</b>	870	1.226	1.577	1.903	2.469
<b>EUA</b>	2.231	2.520	2.180	2.232	1.976
<b>UNIÃO EUROPEIA</b>	849	764	877	793	805
<b>CHINA</b>	464	489	438	388	250
<b>TOTAL</b>	4.889	5.594	5.747	6.071	5.798

Fonte: ABEF, 2005

Não só em receita o país se destacou, pois em volume as vendas externas atingiram 2,4 milhões de toneladas (Quadro 3), uma alta de 26% em relação ao ano de 2003. Este desempenho representa mais um recorde do setor, consolidando a posição do Brasil como o maior exportador mundial de carne de frango. Atualmente, o país ocupa o primeiro lugar absoluto tanto em volume quanto em receita cambial, ocupando a carne de frango, o segundo lugar entre as exportações brasileiras do agronegócio, superado apenas pelo complexo da soja, e o sexto lugar na pauta geral. Em 2004, com uma participação mundial de 43%, o setor vendeu para 134



países, contra 122 no ano anterior, sendo o extremo oriente e a Ásia os principais mercados para o frango brasileiro (ABEF, 2005).

QUADRO 3 – Avicultura brasileira em 2004.

Número de aves abatidas	4,3 bilhões de cabeças
Produção de carne de frango	8,5 milhões de toneladas
Exportação de carne de frango	2,4 milhões de toneladas
Receita com as exportações	US\$ 2,5 bilhões
Consumo interno	6,1 milhões de toneladas
Consumo “per capita”	33,6 kg

Fonte: ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE AVICULTURA – APA / UBA, 2005

A análise por segmentos revela que os embarques de frangos inteiros somaram 974,5 milhões de toneladas, representando uma receita cambial de US\$ 801,8 milhões, em 2004. Já no segmento de frangos em cortes, com maior valor agregado, foram embarcadas 1,40 milhão de toneladas, com uma receita de US\$ 1,7 bilhão (UBA, 2005). Com relação ao frango inteiro, os preços médios, em 2004, eram de US\$ 823/tonelada, com crescimento de 6,5%. No produto em cortes, a valorização foi ainda maior, 20%, chegando a US\$ 1.167 a tonelada. Este desempenho confirma o sucesso da estratégia dos brasileiros em buscar o aumento da rentabilidade de nossas exportações, priorizando os produtos de maior valor agregado, como os cortes de frango e os produtos industrializados (ABEF, 2005).

QUADRO 4 – Brasil - Consumo de carne de frango (em quilos por habitante)

1999	2000	2001	2002	2003	2004
29,14	29,91	31,82	33,81	32,36	33,60

FONTE: ABEF / UBA / ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE PINTOS DE CORTE / AVICULTURA INDUSTRIAL, 2005

O frango é cada vez mais consumido pelos brasileiros. Tal fato se deve, principalmente, ao aumento ainda crescente, da produção de carne de frango no país. Em 2003, o consumo “per capita” foi de 33,34 kg/ano (Quadro 4), com uma produção de 5,9 milhões de toneladas (ABEF, 2005). Em 2004, a produção brasileira foi equivalente à cerca de 15% da produção mundial, com um consumo “per capita”

estimado em 33,6 kg/ hab, o que representa um aumento de 2,75% frente ao ano anterior (AVICULTURA INDUSTRIAL, 2005).

## 2.2 INSPEÇÃO *POST MORTEM* EM FRANGOS DE CORTE

Para alcançar a posição de liderança no mercado avícola mundial, o processamento e a inspeção industrial sofreram enormes evoluções no esforço de adequar os produtos às exigências do mercado. Isto inclui um rígido controle sanitário no abate, processamento, estocagem e expedição das aves, a fim de minimizar o risco de incidência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) e de garantir qualidade aos produtos.

É atribuição específica do médico veterinário, encarregado da inspeção federal, realizar a inspeção dos animais de açougue. A mesma é realizada individualmente durante o abate, através do exame macroscópico das carcaças e vísceras. A inspeção *post mortem* em frangos de corte é realizada logo após a eventração. Existem três linhas de inspeção: a linha de inspeção A refere-se ao exame interno da carcaça, através da visualização da cavidade celomática. A linha de inspeção B é o exame das vísceras, realizado através de visualização, palpação, percepção de odores e cortes. A linha de inspeção C é a avaliação das superfícies externas, como pele e articulações (BRASIL, 1998).

O processo requer tempo e iluminação suficientes. Como a produção é em larga escala, preconiza-se a inspeção por dois segundos, em cada linha, por ave. Portanto, o correto e rápido julgamento das carcaças é indispensável. Porém, às vezes, não basta uma simples inspeção visual, sendo necessário palpar e cortar determinadas partes. Na inspeção *post mortem* são considerados a consistência, aspecto, cor, tamanho e odor da lesão para seu diagnóstico macroscópico. Quando há necessidade, a ave é retirada da linha de inspeção e é colocada na área de Inspeção Final, onde é feito um exame mais apurado da lesão, podendo haver coleta de material para comprovação do diagnóstico (GROSSKLAUS, 1979).

Em uma ave com celulite, o inspetor, primeiramente, nota a pele espessada em uma área amarela-avermelhada. Um exame mais apurado da região revela uma placa de pus e fluido sob a pele, e petéquias na musculatura local.

Em alguns casos, a carcaça pode ser condenada parcialmente, mas, preconiza-se sua rejeição total, pois a *E. coli* é isolada dessas lesões e o risco de contaminação é considerado uma preocupação de saúde pública, pela contaminação de toda a carcaça (BOULIANNE, 1999).

## 2.3 ANATOMIA TEGUMENTAR DA AVE

### 2.3.1 PENAS

As penas são importantes especializações tegumentárias que ocorrem na evolução das aves, distinguindo-as das demais classes de vertebrados. A cobertura corporal composta por penas confere à ave proteção contra água e agentes físicos, além de manter sua temperatura interna em regiões de extremo frio. São estruturas isentas de vasos sanguíneos e terminações nervosas. As aves possuem a capacidade de regeneração das penas (BERCHIERI JR; MACARI, 2000).

Essas estruturas são formadas na derme por folículos que tem origem na camada epitelial (FALLAVENA, 2001). Crescem até alcançar seu tamanho máximo, e as características em relação à função. Seu desenvolvimento cíclico alterna períodos de crescimento e de repouso. A pena permanece no folículo como uma estrutura queratinizada, atendendo as necessidades de proteção e isolamento térmico até ser substituída. Existem muitos tipos de penas, sendo cada uma com uma função e características estruturais específicas (BERCHIERI JR; MACARI, 2000).

### 2.3.2 PELE

A pele é um órgão elástico, semitransparente e altamente especializado, que reveste toda a superfície corporal da ave. Este revestimento exerce funções importantes: protege o organismo animal contra o meio exterior, age como isolante térmico, protege os órgãos internos, além de ser um órgão sensorial por possuir terminações nervosas. A pele das aves é mais fina, exceto em áreas desprovidas de pena, flexível e com uma estrutura mais delicada que de outros vertebrados, pois a

cobertura externa de penas constitui a principal camada protetora do animal (BERCHIERI JR; MACARI, 2000).

Alguns tipos especializados de pele são observados em várias partes do corpo da ave. A crista e a barbela são os únicos tipos de pele naturalmente ricos em vascularização, enquanto que a pele das patas e dedos é constituída de tecido de revestimento resistente e queratinizado (BERCHIERI JR; MACARI, 2000). Nestas regiões, é firmemente unida às estruturas adjacentes, enquanto que em todo o corpo é frouxamente aderida (HODGES, 1974).

Diferentemente do que ocorre nos mamíferos, a principal característica anatômica da pele das aves é a ausência de glândulas sudoríparas e sebáceas. Existe uma glândula secretora de óleo, a glândula uropígea, localizada na base da cauda, além das glândulas do conduto auditivo e da região cloacal (FALLAVENA, 2001).

A epiderme é um epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, composto por uma camada externa de queratina, a camada córnea, e uma camada de células basais (HODGES, 1974).

A derme é composta de fibras colágenas, elásticas e reticulares entremeadas por componentes celulares como vasos sangüíneos e linfáticos, nervos, músculo liso, tecido adiposo e numerosas terminações nervosas (corpúsculos de Herbst). Estes últimos estão associados, principalmente, aos folículos das penas, que são invaginações da epiderme sem glândulas associadas (FALLAVENA, 2001).

Da derme emerge um tecido conjuntivo frouxo, sobreposto a fáscia muscular. Esta camada subcutânea, normalmente, contém acúmulos adiposos. Há diversos músculos associados a cada folículo plumoso, e por isso, há inúmeros filamentos de musculatura lisa na derme, especialmente nas regiões de penas. Há também músculos cutâneos e filamentos de musculatura voluntária, repousados na base da derme, perto da parede corpórea, que move a pele em resposta ao estímulo irritante (HODGES, 1974).

## 2.4 LESÕES CUTÂNEAS

As lesões cutâneas em frangos de corte muitas vezes são de etiologia ainda não esclarecida, porém, alguns fatores influem no aparecimento das mesmas, como

fatores genéticos, de manejo e imunodepressores. Os primeiros estão relacionados com o sexo do animal, pois se sabe que os machos apresentam velocidade de empenamento mais lento e são mais agressivos. Com isso, são mais afetados por lesões decorrentes de traumatismos. Os fatores de manejo são representados principalmente pela alta densidade populacional na criação dos frangos, pois favorece maior contato entre os animais. Alguns materiais de cama também podem causar lesões cutâneas, e a deterioração da cama favorece a multiplicação de microrganismos patogênicos que podem invadir a pele lesada. O programa de iluminação aumenta o período de atividade da ave, podendo haver maior ocorrência de lesões, enquanto que os fatores imunossupressores conferem à ave uma debilidade na resposta imunológica contra agentes infecciosos (BERCHIERI JR.; MACARI, 2000).

O diagnóstico através da avaliação macroscópica das enfermidades cutâneas em frangos de corte freqüentemente resulta em erros (FALLAVENA, 2001). Lesões provocadas por diferentes doenças podem ser muito semelhantes entre si, visto que a maioria apresenta espessamento e alterações de coloração e de aspecto da pele. Dependendo do grau de severidade, a dermatite e a celulite podem apresentar alterações muito similares (FALLAVENA et al., 2000).

Em função deste problema, em muitos países, o Serviço de Inspeção Veterinária nos matadouros costuma agrupar, nas planilhas de condenação de carcaças, diferentes enfermidades cutâneas em uma só categoria denominada “dermatite” ou “dermatose” (FALLAVENA et al., 2000). A tendência é classificar a celulite como uma categoria, pois mais de 30% das condenações em frangos de corte têm sido associada a esta lesão (SILVA; MOTA, 2003).

O exame microscópico é a maneira mais adequada para o diagnóstico das doenças cutâneas em frangos de corte, estudos indicam que a associação entre o aspecto macroscópico da lesão e sua localização no corpo da ave pode inferir a provável enfermidade, comprovada na histologia (FALLAVENA, 2001).

Essa associação parece ser a melhor forma de identificar a doença cutânea em frangos de corte nas linhas de Inspeção Veterinária dos matadouros, quando se exige diagnóstico rápido e seguro da enfermidade.

#### 2.4.1 DERMATITES

Normalmente, as dermatites estão associadas à alta densidade populacional na criação, com ambiente propício a traumas e maior tempo de contato com a cama. Na dermatite por contato, as lesões são ulcerativas e de cor castanho ou negro, enquanto que na dermatite traumática, são cobertas de crostas secas lineares ou circulares. Na região afetada, na maioria das vezes, há um espessamento e coloração amarelo-acastanhado na pele (BERCHIERI JR.; MACARI, 2000).

Lesões de dermatite podem ter crostas marrons ou pretas sobre a superfície do esterno e plantar dos pés. (GREENE<sup>1</sup> et al., 1985 apud NORTON, 1997) Normalmente, progredem para ulcerações que podem atingir a derme em casos mais severos (SILVA; MOTA, 2003).

Microscopicamente, há restos basofílicos na camada córnea e infiltração difusa e focal de heterófilos na derme. As crostas são constituídas de massas de núcleos picnóticos e de restos celulares. Colônias bacterianas podem estar presentes e a epiderme pode estar ulcerada com restos inflamatórios (BERCHIERI JR.; MACARI, 2000).

Em casos menos severos, massas superficiais de células necróticas são observadas na epiderme, bem como discretos infiltrados inflamatórios na derme. Nos mais severos, são observadas ulcerações repletas de “debris” e o infiltrado é intenso. Frequentemente, colônias de cocos Gram positivos são vistos (FALLAVENA et al., 2000).

Casos avançados de dermatite ou de celulite que resultem na perda da integridade da pele podem ser de difícil diferenciação. Ambas podem, sob condições específicas, progredir para processos infecciosos idênticos no subcutâneo. A dermatite pode ser vista facilmente na granja, envolvendo frequentemente grandes áreas da superfície da pele. De outro lado, a celulite normalmente é acompanhada de lesões pequenas, com arranhões bem cicatrizados, que podem ou não ser vistos na inspeção detalhada (NORTON, 1997).

---

<sup>1</sup> GREENE, J. A.; MCCRAKEN, R. M.; EVANS, R. T. A contact dermatitis of broilers: clinical and pathological findings. *Avian Pathology*, v. 14, p. 23-28, 1985.

## 2.5 CELULITE AVIÁRIA

Celulite aviária é o termo utilizado para a inflamação purulenta aguda do tecido subcutâneo (ODERKIRK, 1997). Geralmente, está localizada na região ventral do abdome e na coxa (ALLAN, 2004a; ODERKIRK, 1997), com tendência a ser unilateral (MESSIER et al, 1993; ELFADIL et al., 1996a). É caracterizada pela presença de exsudato purulento, espessamento da derme e formação de placas fibrino-caseosas subcutâneas (NORTON; BILGILI; McMURTREY, 1997; JEFFREY; CHIN; SINGER, 1999). Planos teciduais são separados, e o tecido muscular adjacente pode estar envolvido (MESSIER et al, 1993).

Muitas vezes, a celulite está associada a serosite, ou seja, aerossaculite, pericardite, perihepatite, peritonite e salpingite (ELFADIL et al., 1996a; ONDERKA et al., 1997), e a ascite (SILVA; MOTA, 2003). Entretanto, como o diagnóstico destas condições ocorre em pontos diferentes na linha de processamento, não é possível determinar se lesões de serosite ocorrem antes, depois, ou simultaneamente com a celulite (ELFADIL et al., 1996a).

Bielby (1996) chamou de celulite úmida a lesão que não vai além da pele, para a camada subcutânea e é menor que um centímetro de diâmetro; e celulite moderada a severa, maior que um centímetro, como uma lesão no subcutâneo que pode envolver necrose da gordura, miosite, vasculite local e outros sinais sistêmicos, podendo se estender em todas as direções. Os sinais sistêmicos são perihepatite, aerossaculite, pericardite e osteomielite, e ocorrem em até 30% das aves com celulite pelo mesmo sorotipo de *E. coli*, mas também podem ser causadas por outros sorotipos. Inicialmente, Norton; Bilgili e McMurtrey (1997) descreveram a celulite aviária dividida em dois tipos, de acordo com sua origem e localização: a celulite tipo I era descrita na região do umbigo, estando relacionado á incubação; e a celulite tipo II estava presente em outras áreas, relacionada com arranhões ocorridos durante seu crescimento. Porém, essas classificações foram descartadas por falta de fundamentação científica (BERCHIERI JR; MACARI, 2000; FALLAVENA, 2001).

Em doença reproduzida experimentalmente, Peighambari et al. (1995a) demonstraram que danos na superfície da pele são requisitos para o início da infecção, e somente o trauma nesta não é o suficiente para desencadear a lesão, indicando que ações para reduzir tais contusões podem significar à redução da

celulite aviária. Apesar de provar que há necessidade da lesão na pele para ocorrer a doença, Norton (1997) mostrou que não basta a pele estar arranhada e em contato íntimo com a bactéria, e sim, ser inoculada no sítio da lesão.

Como algumas lesões são difusas e não há uma definida delimitação macroscópica, muitos microrganismos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Pausteurella haemolytica*, *Lactobacillus* sp, *Proteus vulgaris*, entre outros, são encontrados além dos limites estabelecidos durante a retirada da parte afetada na inspeção *post mortem* (KUMOR et al., 1998), o que exalta a condição disseminante da doença, e que deve ser valorizado em detrimento da estética da lesão.

Pesquisas sobre a celulite aviária demonstraram que a bactéria *Escherichia coli* é a mais freqüentemente encontrada nas lesões (ODERKIRK, 1997; GOMIS et al., 2000; FALLAVENA, 2001). Messier et al. (1993) isolaram a bactéria em 88,1% das amostras, sendo que, em 62,5% destas, foi a única bactéria isolada. Gomis et al. (1997b) isolaram *E. coli* de 75% das lesões de aves que reproduziram experimentalmente a doença. Em outro estudo, 83,3% das lesões de celulite foram positivas para a presença de *E. coli* (ONDERKA et al., 1997).

Muitos sorotipos de *E. coli* são encontrados, mas o O78 é predominante (MESSIER et al., 1993; NORTON; BILGILI; McMURTREY, 1997; SILVA; MOTA, 2003), o que preocupa, visto que este sorotipo é associado com cepas de *E. coli* enterotoxigênica nos homens (MESSIER et al., 1993). Além disso, algumas aves desenvolveram outras complicações da infecção por *E. coli*, indicando que a bactéria entrando na pele, pode alcançar a circulação sanguínea e causa infecção em diferentes órgãos (PEIGHAMBARI et al., 1995a).

Em frangos de corte, a possível associação entre bactérias e lesões desse tipo foi primeiramente reportada em 1984, quando foram isoladas a *E. coli*, e ocasionalmente a *Pausteurella multocida*. (RANDALL et al., 1984) Desde então, a celulite tem sido a maior causa de condenações em frangos de corte em todo o mundo. Nos EUA, as perdas totais chegam a 40 milhões de dólares anuais (FALLAVENA, 2001).

O aumento da prevalência da celulite é relacionado a vários fatores, como o manejo no incubatório, criação e apanha (ELFADIL et al., 1996b). Assim como nas doenças cutâneas em geral, os machos ou certas linhagens são os mais acometidos pela celulite devido ao comportamento agressivo, rápido crescimento e ao lento



empenamento. Pouco se conhece sobre suas causas, porém alguns fatores predisõem à celulite, como os envolvidos com as demais lesões cutâneas. Uma dieta deficiente em cisteína e metionina pode provocar nervosismo e dificuldade de empenamento nas aves. Também haverá maior deposição de gordura no tecido subcutâneo, conferindo à pele uma maciez e maior susceptibilidade a arranhões. A qualidade da cama aviária também é responsável pelo aparecimento da lesão, pois o material pode favorecer o crescimento bacteriano, além de ferir a pele das aves (ODERKIRK, 1997).

Atualmente, devido ao aprimoramento genético, o frango tem um abdome que é mais exposto a arranhões, empenamento lento, que diminui a proteção da pele, aumentando a vulnerabilidade desta a agressões mecânicas (BOULIANNE, 1999). Como a celulite é secundária a arranhões na pele, é provável que a bactéria esteja presente na cama. A infecção ocorre seguida de danos causados na pele, que permitem a entrada da bactéria. É necessária a presença de arranhões na pele para desencadear o processo (ODERKIRK, 1997; NORTON; MACKLIN; McMURTREY, 1999), mas somente estes ferimentos não são suficientes para causar celulite, pois outros fatores predisponentes parecem ser necessários (ALLAN, 2004a). Para que haja o desenvolvimento da doença, uma grande quantidade de bactérias precisa entrar em contato com a pele lesada (ODERKIRK, 1997; KUMOR, 1998; FALLAVENA, 2000). Quanto maior o número de bactérias, maior a chance de ocorrer a lesão. (ALLAN, 2004a).

O contato próximo entre as aves na granja e a qualidade da cama podem facilitar a injúria na pele. A frequência de lesões cutâneas tem sido associada a fatores que implicam em contato íntimo das aves. Alta densidade pode causar quebra e perda de penas, e assim, causar ferimentos na pele (PEIGHAMBARI et al, 1995a).

Embora vários sorotipos de *E. coli* possam causar a celulite quando injetados no tecido subcutâneo, os sorotipos isolados de casos de campo tendem a apresentar maior propensão à produção da doença quando utilizados em modelos experimentais em laboratório. Isso parece indicar que alguns sorotipos específicos podem acarretar problemas mais graves para os produtores quando se estabelecem em um ambiente avícola (FALLAVENA, 2001). Tais fatores foram evidenciados, experimentalmente, com reprodução da enfermidade, em um modelo onde 100% das aves inoculadas no subcutâneo com *E. coli* oriundas de lesões de celulite,

desenvolveram lesões características. Muitos artigos indicaram que a *E. coli* oriunda de celulite reproduz a doença mais rapidamente (NORTON; MACKLIN; MCMURTREY, 1997).

Os resultados de Elfadil et al. (1996a) sugerem que a infecção inicia-se aproximadamente na quarta semana de idade. Já Norton; Bilgili e McMurtrey (1997) mostraram, em um modelo reproduzido, que a celulite pode se desenvolver rapidamente, sendo detectada em até 18 horas após a inoculação, sugerindo que as lesões podem ocorrer na fase final da vida da ave. A rapidez com que as lesões podem aparecer indica que é necessária muita atenção nos últimos dias de vida das aves (JEFFREY; CHIN; SINGER, 1999).

A densidade máxima na granja e o manejo dos lotes antes do abate podem ser de importância significativa na etiologia da doença. Limpeza da incubadora e a qualidade do pinto precisam ser mantidas como pontos de controle para o desenvolvimento de um sistema imune saudável na ave. Embora nenhuma patogenia seja explicada para a celulite, geralmente, qualquer insulto à integridade da pele deve ser considerado como rota significativa da patogenia da doença (NORTON, 1997).

Fallavena (2001) sugeriu que a utilização de suplementos nutricionais pode melhorar a função imunológica e que os mesmos poderiam ser úteis na diminuição das lesões, como é o caso da vitamina E e/ou fontes complexas de zinco, na redução do número de casos de celulite. A vitamina E, em baixas concentrações, inibe a formação de celulite nas aves com ferimentos na derme (MACKLIN et al., 2000).

A celulite também foi descrita em codornas. Nestes casos, talvez a doença seja consequência da pasteurelose, que causou osteomielite e claudicação, favorecendo o aparecimento de abrasões na pele. O exame histológico destas aves revelou um infiltrado linfóide severo no tecido subcutâneo, com linfócitos e heterófilos no estroma fibromuscular, e desta lesão foi isolada a bactéria *E. coli* (BURNS et al., 2003). A celulite também foi descrita em perus (JEFFREY et al., 1993; BIELBY, 1996; OLKOWSKI et al., 1999; GOMIS et al., 2002), onde é encontrada ocasionalmente secundária à pele danificada ou à dermatite por contato, e tem lesões similares àquelas vistas em frangos (OLKOWSKI et al., 1999; GOMIS et al., 2002). O exame bacteriológico das lesões em perus obtiveram baixos

isolamentos de *E. coli* ou de qualquer outra bactéria, sugerindo que a doença nestas aves não tem origem bacteriana (GOMIS et al., 2002; ALLAN, 2004b).

As aves afetadas parecem são grandes, saudáveis e com crescimento normal, mas exibem placas caseosas sob a pele, vistas somente no processamento das mesmas. Isto faz com que a celulite seja quase impossível de se identificar antes do abate, pois geralmente requer a exposição do tecido subcutâneo. Apesar de não haver sinais clínicos associados com a celulite em aves vivas, a presença da lesão resulta na condenação de parte ou a totalidade da carcaça durante a inspeção *post mortem* (MESSIER et al., 1993; ELFADIL; VAILLANCOURT; MEEK, 1996c; GOMIS et al., 2000). Já, as aves com outras doenças concomitantes, pericardite, aerossaculite, osteomielite, poliserosite, artrite ou hepatite, apresentam-se pequenas e com musculatura pouco desenvolvida (GOMIS et al., 1997a). As condenações por celulite são maiores em lotes com problemas sanitários, como ascite, aerossaculite, peritonite e pericardite (KUMOR et al., 1998).

A aparência das lesões torna a doença de fácil identificação para os veterinários inspetores na linha de abate. Isso pode explicar o excelente entrosamento entre patologistas e inspetores (ELFADIL et al., 1996a). Como a lesão está associada a grandes quantidades de *E. coli*, condena-se a carcaça inteira antes da evisceração, para prevenir contaminação cruzada em outros indivíduos na linha de processamento (GOMIS et al., 2002).

A ocorrência exata da celulite no mundo é desconhecida, pois há um excesso de nomes atribuídos à doença em vários países, sem uma classificação padrão. Em alguns países, está incluída no grupo de toxicemia ou doenças septicêmicas, em outros está inserida nos processos inflamatórios ou infecciosos, além de ser considerada por muitos como dermatite (KUMOR et al., 1998).

Os resultados de um estudo mostraram que o processo inflamatório ocorre abaixo da derme, no tecido subcutâneo e na gordura subcutânea, e poucos focos de “debris” foram encontrados na derme, além daqueles no subcutâneo. Logo, a celulite é o nome mais apropriado para esta condição, por referir-se a um processo inflamatório que pode levar a presença de um exsudato purulento (caseoso) no tecido subcutâneo (PEIGHAMBARI et al, 1995a).

### 2.5.1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS DA CELULITE AVIÁRIA

Na celulite em frangos de corte, a área mais freqüentemente afetada está situada entre a coxa e a região ventral do corpo. Como esta região é pouco vascularizada, as tentativas do organismo em livrar-se dos invasores levam a um aumento na espessura da pele e a alterações na coloração da mesma, que varia de amarelo-brilhante, amarelo-opaca a marrom-avermelhada. Ao corte da pele, nota-se edema subcutâneo, hemorragias musculares e exsudato purulento (FALLAVENA, 2001). Macroscopicamente, o aumento da espessura da pele é um achado freqüente em todas as doenças cutâneas, assim como a descoloração da pele, nódulos escuros nos folículos das penas e crostas (ONDERKA et al., 1997).

Andrade et al. (2003) caracterizaram a doença pelo espessamento da pele, crostas de coloração castanho-amarelada, superfície irregular e, ao corte, pelo fluido gelatinoso no subcutâneo com exsudato purulento e, principalmente, pelas lâminas fibrino-caseosas de cor amarela, firmes e destacáveis presentes entre o tecido subcutâneo e a musculatura.

A presença desta placa fibrinosa entre a musculatura e o tecido subcutâneo é o aspecto mais característico da lesão (ELFADIL et al., 1996a; FALLAVENA, 2001). Apesar de serem típicas da celulite e normalmente usadas no diagnóstico macroscópico da doença, tais placas nem sempre estão presentes (BERCHIERI JR; MACARI, 2000; FALLAVENA et al., 2000).

A superfície da pele afetada tem coloração desbotada, que varia de amarelo brilhante a vermelho-amarronzado, facilitando sua identificação, desde que as penas tenham sido removidas. O envolvimento da pele na lesão também varia, e algumas aves podem ou não apresentar lesão na pele (SINGER et al., 2001), mas normalmente, esta se encontra edemaciada no local da inflamação. Kumor et al. (1998) citam que a escaldagem favorece a visualização das lesões por enaltecer a alteração de cor na área afetada. O tamanho varia de um a dez centímetros de diâmetro, porém a maioria é de tamanho médio a grande (ALLAN, 2004a; SINGER et al., 2001). As pequenas lesões podem facilmente passar despercebidas. Normalmente, há arranhões e uma crosta fibrinosa na pele sobreposta a celulite. Na pele aberta, há vários graus de edema subcutâneo, hemorragia muscular e exsudato

subcutâneo, que podem ser localizados ou se estender sob a coxa até o peito e as costas (ELFADIL et al., 1996a).

As lesões de celulite induzidas por *E. coli* podem variar consideravelmente na morfologia, de um exsudato fibrinoso úmido a uma formação bem definida de placas fibrino-caseosas. O exsudato torna-se uma placa seca, firme e fina, com aderência à face interna da pele ou a fáscia muscular abaixo (JEFFREY; CHIN; SINGER, 1999).

#### 2.5.2 ASPECTOS MICROSCÓPICOS DA CELULITE AVIÁRIA

A celulite apresenta-se como uma lesão granulomatosa, com placas fibrino-caseosas envolvidas por uma cápsula de tecido conjuntivo contendo células inflamatórias, barreira de células gigantes e macrófagos (FALLAVENA et al., 2000). A celulite é uma inflamação difusa no tecido subcutâneo, acompanhada de hiperqueratose, hiperplasia e úlceras da epiderme, além de marcante neovascularização da derme com granulomas. As lâminas são constituídas por fibrina com restos celulares, constantemente envolvidas por histiócitos e células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho (ANDRADE et al., 2003). Fallavena (2001) descreve que a lesão é formada por massas de restos celulares necróticos e bandas de fibrina, que são, geralmente, circundados por tecido conjuntivo contendo heterófilos, linfócitos e macrófagos. Esta, em casos mais severos, está envolta por uma camada de fibroblastos em proliferação.

Silva e Mota (2003) citam a presença de hemorragia ou congestão e inflamação circundada por tecido conjuntivo formando granulomas, abscessos e placas fibrosantes, nas lesões de celulite.

As lesões são ulcerações focais na epiderme, com espessamento fibrinoso da derme e com infiltrado difuso de linfócitos e heterófilos, na derme e no tecido subcutâneo. Placas fibrino-caseosas e granulomas podem estar presentes. Às vezes, células inflamatórias invadem a musculatura subcutânea e há congestão dos capilares (ONDERKA et al., 1997).

## 2.6 *Escherichia coli* E CELULITE AVIÁRIA

No grupo de coliformes totais, incluem-se as bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. A definição de coliformes termotolerantes restringe-se aos membros desse grupo, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5°C. (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997). A *E. coli* é a bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a  $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  em 24 horas, produz indol a partir do triptofano, é oxidase negativa, não hidroliza a uréia e apresenta atividade das enzimas  $\beta$  galactosidase e  $\beta$  glucuronidase, sendo considerada o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos (BRASIL, 2004). É excretada nas fezes, e pode sobreviver nas partículas fecais, poeira e água por semanas ou meses (QUINN et al., 1994). É um microrganismo ubíquo, e seu nicho ecológico normal é o trato intestinal. A *E. coli* pode ser encontrada na cama aviária da granja, na poeira, na água, na ração e no intestino de aves saudáveis. Tem habilidade de crescer rapidamente e usa uma grande variedade de tipos de materiais como nutrientes.

A bactéria é muito comum como agente de infecção secundária em frangos, mas pode ser um agente primário. Nem todas *E. coli* tem capacidade de causar a celulite. A bactéria capaz de causar a doença deve ter características especiais, tais como os fatores de virulência. Estes fatores têm sido descritos, mas nenhum, isoladamente, é determinante em uma cadeia virulenta. Muitas pesquisas procuram discriminar os padrões sorológicos da *E. coli* da celulite. Infelizmente, os sorotipos têm variado amplamente, tornando problemático o desenvolvimento de uma vacina. Os isolados de celulite pertencem a uma variedade de sorogrupos O, sendo os sorogrupos O1, O2, e O78 os mais comuns. Entretanto, muitos sorogrupos não são tipificáveis, dificultando sua classificação (ALLAN, 2004a).

Messier et al. (1993), Jeffrey; Chin e Singer (1999) e Jeffrey et al. (2002) isolaram diferentes sorotipos de *E. coli* de celulite, sendo que a maioria foi O78. Gomis et al. (1997a) isolaram *E. coli* de 97,5% das aves com celulite. Sobretudo, Gomis et al. (2001) encontraram 100% de *E. coli* nas lesões de aves com celulite, destas o sorogrupo O78 foi o mais isolado, mesmo 68% não sendo tipificada. Dentre

as aves que também apresentaram lesões em outros tecidos, a bactéria foi isolada em 69,4%. Destes isolamentos, 44% eram do mesmo sorogrupo O, encontrado em todas as lesões, inclusive nas de celulite, sendo os sorogrupos O78, O1 e O2 mais comumente identificados, somando 60% dos isolamentos. Onderka et al. (1997) encontraram *E. coli* em 83% das lesões de celulite e também em outros órgãos testados. Nenhum sorogrupo O foi predominantemente isolado, sugerindo que a mesma bactéria possa causar tanto a celulite como outras doenças aviárias.

No estudo de Peighambari et al. (1995b), os seis grupos mais comuns de *E. coli* incriminados como agentes causais de celulite aviária foram O78, O2, O115, O (21,83), O161 e O1. Neste trabalho, 25% dos isolamentos não foram tipificados, 40% pertenciam aos sorogrupos O1, O2, O78, combinados, e 35% foram de outros sorogrupos. Estes, somados aos não tipificados, foram maioria nos isolamentos. Nenhum isolamento de fezes de frangos pertenceu a esses grupos O. Os grupos O78, O2 e O1 são freqüentemente associados com infecção septicêmica em frangos, ou seja, são patogênicos (PEIGHAMBARI et al., 1995b). Para Ngeleka et al. (1996), somente 38% dos isolamentos de celulite foram tipificados, destes, O25 e O78 foram os mais freqüentemente isolados. A maioria dos isolamentos de *E. coli* não foi tipificada (JEFFREY et al., 2002). Devido à diversidade de sorotipos de *E. coli* envolvendo a celulite, como também a presença de sorotipos não-tipificáveis, a sorotipagem torna-se problemática para o desenvolvimento de uma vacina (NORTON, 1997).

São conhecidas seis classes de *E. coli* que podem causar infecções oportunistas, como gastroenterite no homem: *E. coli* enteropatogênica clássica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), e a *E. coli* difusamente aderente (DAEC) (APHA, 2001).

Vários sorogrupos de *E. coli* causam infecções em aves, incluindo a celulite, e estão envolvidos com infecções intestinais e extra-intestinais em humanos. Logo, sua presença em carcaças de aves pode constituir risco à saúde do consumidor (SILVA; MOTA, 2003).

Os membros da família *Enterobacteriaceae* possuem lipossacarídeos na camada externa da parede celular, que são importantes endotoxinas, sendo liberadas quando a célula morre e é lisada. As bactérias mais patogênicas dessa família têm outros fatores de virulência. Os antígenos capsulares K são

polissacarídeos, os antígenos somáticos O são carboidratos e os antígenos flagelares H e fimbrial são proteínas (QUINN et al., 1994). Inúmeros fatores de patogenicidade foram examinados na tentativa de distinguir a *E. coli* oriunda da celulite. O esquema de classificação tenta diferenciar a bactéria, utilizando a presença de fatores de virulência ou as formas com que estes fatores são combinados, oferecendo indireto, mas valioso, discernimento para a patogenia da doença. Propriedades adesivas às células, como pili ou fimbrias, produção de aerobactina, habilidade de permanecer em soro aviário, produção de colicina V e a produção de cápsula K1 têm sido sugeridos como fatores de virulência da *E. coli* aviária causadora de celulite (ALLAN, 2004a; NORTON, 1997; GOMIS et al., 2001). Produção de hemolisina e citotoxina, implicados na virulência da *E. coli* humana extra-intestinal patogênica, ainda não havia sido descrita em *E. coli* aviária patogênica com propriedades associadas à virulência (ALLAN, 2004a; GOMIS et al., 2001). Porém, Salvadori; Santos e Yano (2004) descreveram uma citotoxina denominada “*E. coli* vacuolating factor” (ECVF) produzida por *E. coli* isolada de celulite aviária, que induz a vacuolização celular em células de origem aviária. A toxina estimula a liberação da citocina inflamatória (TNF), em uma relação tempo-dependente. De acordo com Brito et al. (2003), as amostras de *E. coli* isoladas de lesões de celulite, assim como as amostras de fezes, são capazes de reproduzir experimentalmente a enfermidade, mas essas pertencem a clones específicos e promovem um maior processo inflamatório local e com frequência evoluem para um quadro septicêmico. Nenhuma *E. coli* isolada de celulite produz hemolisina, indicando que a produção não é um fator importante na sua etiologia (GOMIS et al., 2000).

A presença de fatores exclusivos tem sido usada para distinguir a *E. coli* que é responsável pelas doenças de um hospedeiro específico e de compartimentos corpóreos daquelas que não são associadas a esta doença. A hipótese que a *E. coli* da celulite é diferente das outras patogênicas e podem ser diferenciadas por testes de virulência não foi demonstrada, pois os fatores de virulência exclusivos à celulite não foram identificados. Ou seja, a limitação da lesão ao tecido subcutâneo após a infecção por *E. coli* não é devido à redução da virulência por parte da bactéria, mas pode ser moderada pela porta de entrada ou defesas do hospedeiro (JEFFREY et al., 2002).



Alguns sorogrupos isolados de aves com celulite (O2 e O78) são freqüentemente reportados em outras enfermidades de aves como aerossaculite e síndrome da cabeça inchada. Estas observações sugerem que cadeias de *E. coli* que causam a celulite e outras síndromes podem ter relacionamento clonal. O resultado indicou que as cadeias de *E. coli* que causam a celulite têm características fenotípicas e genotípicas e fatores de virulência similares àquelas encontradas em cadeias que induzem infecção generalizada em aves (NGELEKA et al., 1996). Gomis et al. (2001) encontraram celulite relacionada à colibacilose em 34,6% dos frangos. Alguns tipos isolados de lesões de celulite têm uma semelhança genética com aqueles que causam septicemia e meningite em humanos (KUMOR et al., 1998). Esta estreita relação já é motivo de grande investigação sobre a doença, pois pode constituir risco à saúde do consumidor.

Os sorotipos de *E. coli* que causam a celulite são variados, logo pode haver variedade morfológica das lesões que essas cadeias produzem. Ou seja, diferentes cadeias da bactéria causam diferentes níveis de envolvimento da pele (SINGER et al., 2001). A bactéria adere pobremente às camadas superficiais da pele e mais extensivamente em camadas profundas, principalmente o sorotipo O78. Talvez, seja por isso que há necessidade da abrasão da pele das aves para reproduzir a doença experimentalmente (LECLERC et al., 2003).

Brito; Gaziri e Vidotto (2003) observaram que 88% de cepas de *E. coli* eram móveis e a bactéria isolada de celulite mostrou maior capacidade de reproduzir a lesão do que a de origem fecal.

Cama dura ou muito úmida durante as últimas semanas de crescimento são associados à alta prevalência de celulite. Uma cama muito úmida vai favorecer a multiplicação bacteriana (BOULIANNE, 1999).

Todas as enterobactérias crescem em meio ágar sangue e MacConkey, e estes meios são rotineiramente utilizados no isolamento destas bactérias no laboratório de diagnóstico. As reações no ágar MacConkey indicam se a bactéria fermenta ou não a lactose do meio. Embora, o ágar MacConkey seja um meio seletivo, é relativamente permissivo ao crescimento de outras bactérias Gram negativas bem como as enterobactérias. Como a *E. coli* é lactose positiva, xilose positiva, H<sub>2</sub>S negativa, neste meio, suas colônias são de coloração rosa brilhante. O ágar MacConkey tem a lactose como carboidrato a ser fermentado, vermelho neutro como indicador de pH, sais biliares e cristal violeta como inibidores de Gram

positivos, logo, a bactéria, ao crescer, fermenta a lactose, havendo formação de produtos metabólicos ácidos e as colônias são rosas. Em cepas de *E. coli* mucóides, as colônias têm uma cor rosa mais forte. O “Triple Sugar Iron” (TSI) é somente um meio indicativo não seletivo, e não contém inibidor. Possui glicose, lactose e sacarose como açúcares a serem fermentados, e vermelho de fenol como indicador de pH. Ao crescer neste meio, a *E. coli* produz ácidos pela fermentação da glicose, lactose e sacarose, tornando a base e o bisel amarelos. No meio ágar sangue, as colônias de *E. coli* são redondas, brilhantes e branco-acinzentadas, podendo ou não ter halo de hemólise.

Na microscopia ótica, a *E. coli* é vista como pequeno bastonete Gram negativo (QUINN, 1994).

As cepas de *E. coli* são citrato-negativas, ou seja, não crescem no meio de Simmons, logo não há mudança da coloração do meio (RIBEIRO; SOARES, 2000).

Com o crescimento da *E. coli*, o meio MILi torna-se amarelo, pela fermentação da glicose, e depois roxo-acinzentado pela descarboxilação da lisina, apresentando ou não motilidade de crescimento no meio. Após a leitura dos testes, verifica-se a produção de indol adicionando-se três gotas do reagente de Kovacs ao meio. (TOLEDO; FONTES; TRABULSI, 1982a).

No meio EPM, a *E. coli* fermenta a glicose, acidificando o meio e virando o indicador de bromotimol para amarelo. Na maioria das culturas, há produção de gás, que é visualizada pela presença de bolhas no fundo do tubo. Como a bactéria produz urease, há alcalinização da base do meio, e o indicador vira para azul ou amarelo-esverdeado. A *E. coli* não produz 1-triptofano desaminase ou H<sub>2</sub>S, logo, não há formação de coloração verde escuro na superfície ou preta na base (TOLEDO; FONTES; TRABULSI, 1982b).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Durante a inspeção *post mortem* em um matadouro do Estado de São Paulo, foram colhidos fragmentos de pele de frangos de corte, com aspecto irregular, espessado e com alteração de coloração. O período de coleta dividiu-se em duas fases: uma primeira viagem entre os dias 12 e 14 de novembro de 2004, e a segunda viagem entre os dias 18 e 20 de janeiro de 2005. Em cada dia, foram colhidas cinco amostras de pele lesadas e cinco amostras controle da carcaça subsequente a da ave suspeita. Como as lesões não podem ser visualizadas na carcaça intacta, utilizaram-se essas alterações no tegumento dos frangos como indicadores de celulite.

Os fragmentos estavam localizados na região ventral do abdome e coxa, sempre unilateralmente. Os frangos tinham idade aproximada de 45 dias. As lesões foram mensuradas e descritas macroscopicamente, e, de cada uma, foi retirado um fragmento para exame histopatológico e outro para o exame bacteriológico. Dos casos controle foi retirado um fragmento de local e tamanho equivalente ao retirado dos frangos suspeitos. As amostras de pele destinadas à microscopia foram identificadas e fixadas em formol a 10% e remetidas ao Serviço de Anatomia Patológica Veterinária Professor Jefferson Andrade dos Santos para processamento pelas técnicas habituais para inclusão em parafina e coloração pelo método hematoxilina-eosina. Para o exame bacteriológico, os fragmentos foram colocados, assepticamente, em sacos previamente esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos, e selados por seladora industrial. Os sacos foram identificados, colocados em gelo e remetidos ao Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Fluminense, onde foi realizado exame bacteriológico.

### 3.1 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Consistiu nas etapas de clivagem, desidratação, diafanização, impregnação pela parafina, inclusão, microtomia, desparafinização, hidratação, coloração e montagem das lâminas de microscopia. A clivagem foi realizada com um bisturi, permitindo obtenção de amostras com aproximadamente 0,3 milímetros de espessura, do material coletado. Os fragmentos foram clivados de maneira que regiões alteradas e não alteradas foram coletadas, sendo então identificadas e acondicionadas em recipientes plásticos próprios para as técnicas, chamados cassetes. A desidratação consistiu na imersão do material em três banhos de álcool etílico com concentrações crescentes, de 70° GI até 100° GI, sendo uma hora em cada álcool. A desidratação objetivou a retirada da água do tecido, visto que água e parafina são imiscíveis. A diafanização com xilol tem por finalidade retirar todo o álcool, uma vez que este também não é miscível em parafina, sendo realizado em dois banhos, de uma hora cada. A impregnação pela parafina foi realizada para que o material adquirisse consistência, permitindo a execução de cortes finos e seriados. Nesta etapa, mergulhou-se o material em dois recipientes contendo parafina líquida na estufa a 58°C – 60°C, por uma hora cada. Posteriormente, o material foi retirado dos cassetes plásticos e colocado em caixas de papel previamente identificadas. Foi colocada parafina líquida nas caixas, sendo o material incluído. Ao formar um bloco solidificado, realizaram-se cortes com 4,0 a 6,0 micrômetros de espessura, para facilitar a coloração e a visualização. O corte foi colocado em banho-maria a 58°C – 60°C, para que ocorresse sua distensão, e retirado já com a lâmina de microscopia. As lâminas com os cortes permaneceram na estufa, por 24 horas, a 56°C, para retirar do tecido a parafina excedente, porém a estufa não a removeu totalmente, sendo necessário a desparafinização com solvente da parafina, o xilol, para que o corante pudesse penetrar na célula. Em seguida, o tecido foi hidratado e as lâminas foram coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (H&E) (MEYER; FRANKS, 1986). A montagem das lâminas coradas se deu pela sobreposição das lamínulas sobre as mesmas, utilizando o Bálsamo-do-Canadá. O estudo histopatológico baseou-se na observação das lâminas coradas e identificadas, em microscópio óptico.

### 3.2 ANÁLISE BACTERIOLÓGICA

Os fragmentos de pele foram recebidos em caixas isotérmicas com gelo, no Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Fluminense. No primeiro dia, as cinco amostras com suspeita de celulite e as cinco amostras controle do primeiro dia de colheita foram analisadas. No dia seguinte, as amostras do segundo dia de colheita foram analisadas, e o mesmo ocorreu com as amostras do terceiro dia. A metodologia utilizada foi uma adaptação àquela descrita por Quinn et al. (1994).

Todo o material utilizado na análise bacteriológica foi previamente submetido à esterilização em autoclave por 121°C/15 min. A bancada onde foi realizada a análise bacteriológica foi desinfetada com algodão embebido com álcool a 70%, assim como os instrumentos utilizados. Após a retirada do saco da refrigeração, o mesmo foi desinfetado com algodão embebido em álcool a 70%. As extremidades da tesoura e da pinça dente-de-rato foram flambadas na chama do bico de Bunsen, antes de serem utilizadas para abertura do saco com as amostras. Com auxílio de uma espátula flambada, o fragmento foi cauterizado para diminuição da carga bacteriana inicial. Utilizando a tesoura e a pinça, foi realizada uma abertura da pele para exposição da camada profunda do tecido subcutâneo, onde, com três zaragatoas estéreis, retirou-se o material a ser analisado. Com uma das zaragatoas, inoculou-se o material em um tubo contendo o meio caldo soja triptona (Oxoid nº CM129), para enriquecimento não seletivo. Com outra, inoculou-se em placa com o meio Ágar sangue, composto de meio Ágar columbia (Merck nº 10455) com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Com a terceira zaragatoa, retirou-se o material para a semeadura em placa com o meio ágar MacConkey lactose (Merck nº 5465). Após incubação a 37°C por 24 horas, realizou-se a leitura das placas, de onde se retirou uma Unidade Formadora de Colônia (UFC) típica de *Escherichia coli*, de cada uma delas. Na placa de ágar sangue, a UFC da *E.coli* é branca com ou sem halo de hemólise. No meio ágar MacConkey, a UFC é rosa ou roxa e úmida. Do caldo soja triptona, semeou-se o material em meio ágar sangue e ágar MacConkey. De cada placa, semeou-se a UFC em meio inclinado de TSI (Merck nº 3915), que foi incubado a 37°C por 24 horas. Neste meio, a *Escherichia coli* utiliza a glicose, tornando o meio amarelo e produzindo gás. Se confirmada a presença de *E. coli*, esta era retirada com auxílio de uma alça de platina flambada, e era realizada a

semeadura em caldo soja triptona, sendo incubada a 37°C/24 h para a seriação bioquímica.

A partir das culturas puras em caldo soja triptona, confeccionou-se esfregaços em lâminas, corados pelo método de Gram e visualizados ao microscópio. Confirmando-se a presença de bastonetes Gram negativos, eram realizadas as provas bioquímicas para confirmação do microrganismo.

Primeiramente, realizou-se a prova do indol e mobilidade em meio SIM (Merck nº 5470) e a prova do citrato em meio de Simmons (Merck nº 2501).

O teste de citrato foi realizado com a inoculação de uma alçada da cultura em ágar citrato de Simmons a 35°C por 24 horas, e então foi observado se houve ou não crescimento bacteriano. Após a incubação por picada no meio SIM por 24h a 37°C, algumas culturas de *E. coli* apresentaram crescimento difuso no meio, porém não houve formação de cor negra, por não formar H<sub>2</sub>S. As culturas indol positivas e citrato negativas foram repicadas em meio MILi, para os testes de motilidade, produção de indol e lisina descarboxilase, que identificam os vários gêneros da família *Enterobacteriaceae*, e em meio EPM, para os testes de formação de gás a partir da glicose, H<sub>2</sub>S, urease e triptofano desaminase.

### 3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistix versão 3.1. Utilizou-se o teste de Qui-quadrado de McNemar para simetria nas comparações entre a utilização do método direto e com enriquecimento não-seletivo; e o teste Qui-quadrado de independência para as comparações entre os períodos de coleta e entre os meios de cultura semeados. Em todas as análises, adotou-se erro tipo 1 ( $\alpha$ ) de 5% (0,05) (THRUSFIELD, 2003).

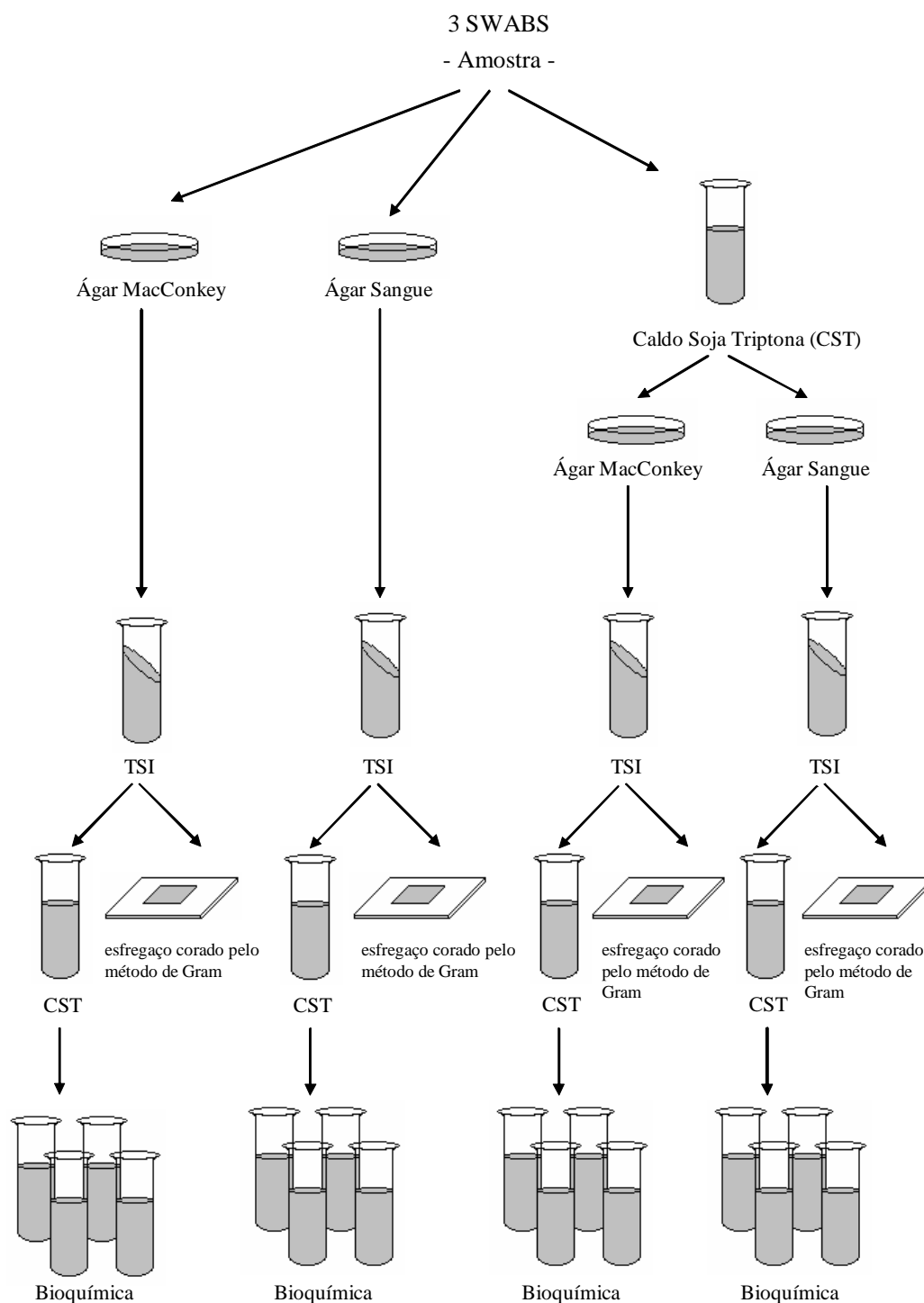


FIGURA 1 – Esquema de identificação da *Escherichia coli* utilizado em adaptação ao método de Quinn et al. (1994).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ANATOMOPATOLÓGICO

As principais alterações macroscópicas da celulite nos frangos de corte estudados foram o espessamento da pele, alterações na coloração e irregularidade da superfície cutânea. Todas estas características foram tidas como indicadores de celulite e pré-requisitos para a escolha das aves suspeitas. As lesões variavam de tamanho entre cinco e dez centímetros, sempre unilateralmente. Dentre as 30 amostras suspeitas coletadas, 29 estavam presentes na região de abdome e coxa (Figura 2), e uma no peito (Figura 3). A coloração da pele variou entre amarelo pálido e amarelo-avermelhado. Ao corte, notou-se a presença de fluido gelatinoso e placas amarelas destacáveis no subcutâneo (Figura 4), e em alguns casos, a musculatura adjacente estava visivelmente comprometida (Figura 5). Nas amostras controle, não foram observadas alterações dignas de nota.

Com a leitura das lâminas, foram encontradas alterações que indicam o diagnóstico positivo para celulite. Dentre os 30 casos suspeitos macroscopicamente, todos apresentavam características histopatológicas da doença, tais como: espessamento de pele, a qual também se apresentava irregular e com coloração amarelo-avermelhada. Ao corte, no tecido subcutâneo, havia um fluido purulento, geralmente associado a placas amarelas, duras, e destacáveis. Microscopicamente, as lesões de celulite eram representadas por: infiltrado de heterófilos, ora por placas fibrinosas ricas em restos celulares no subcutâneo (Figura 6), ora por um infiltrado inflamatório de histiócitos (Figura 7), células gigantes multinucleadas, heterófilos (figura 8) e fibrose, além de espessamento da derme, com tecido de granulação. O processo freqüentemente ocasionava necrose da derme, esteatonecrose e





FIGURA 2 – Comparação entre a carcaça com lesão de celulite na região de abdome e coxa (esquerda) e a carcaça controle sem alteração macroscópica (direita).

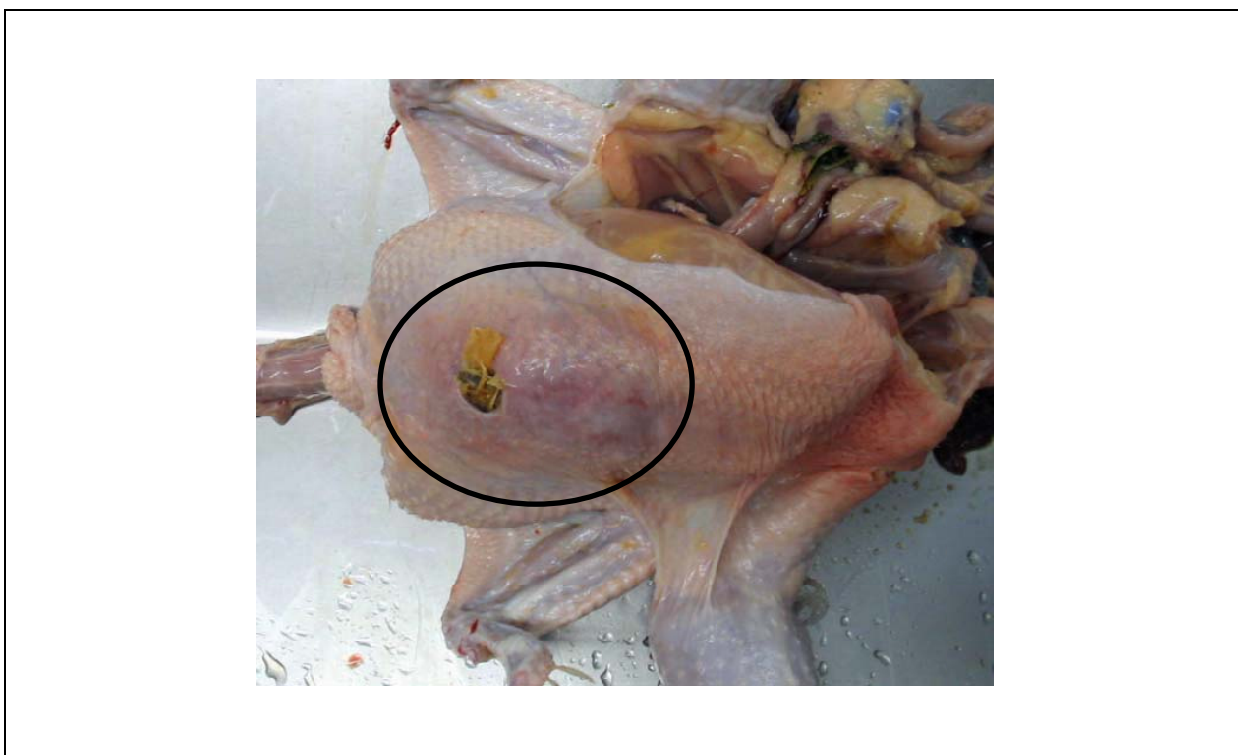


FIGURA 3 – Localização atípica da lesão de celulite na região do peito.



FIGURA 4 – Frango. Celulite. Presença de placas amarelas, firmes e destacáveis no subcutâneo.



FIGURA 5 – Frango. Celulite. Área hemorrágica na musculatura de peito afetada pela celulite.

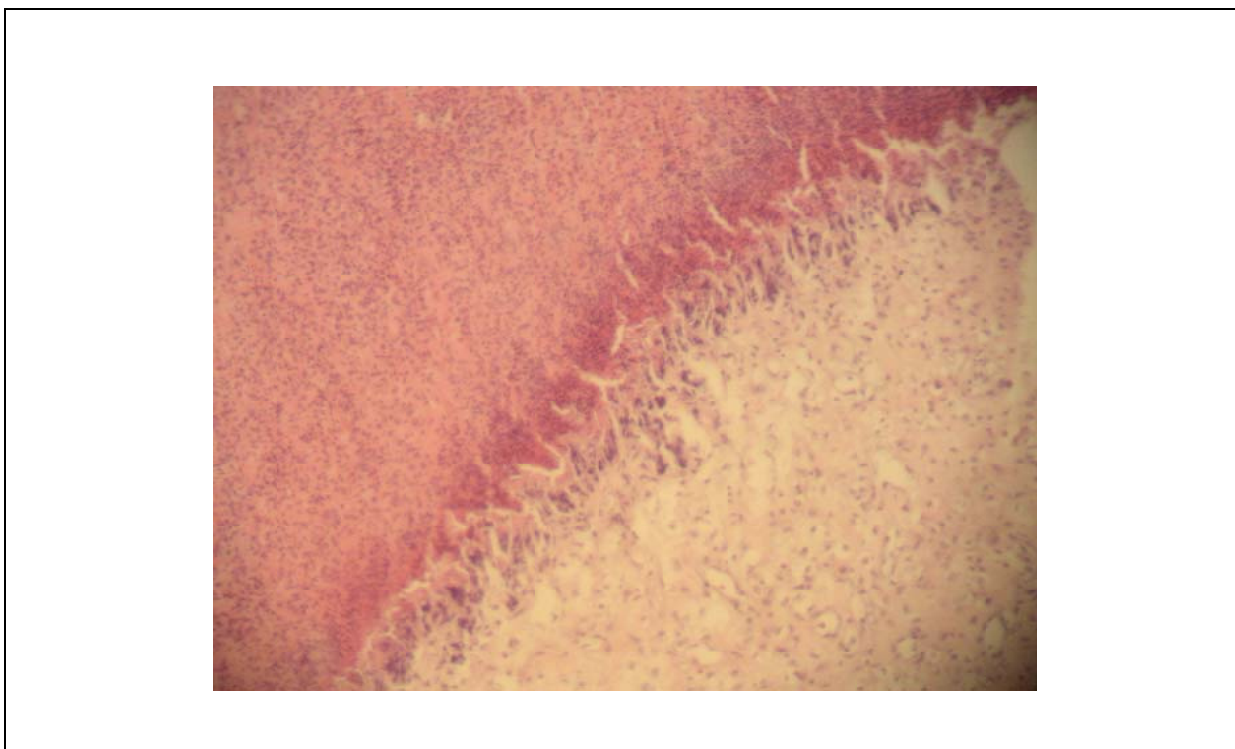


FIGURA 6 – Frango. Celulite. Placa de fibrina com restos celulares circundados por macrófagos e fibrose. H. E. Obj. 10X.

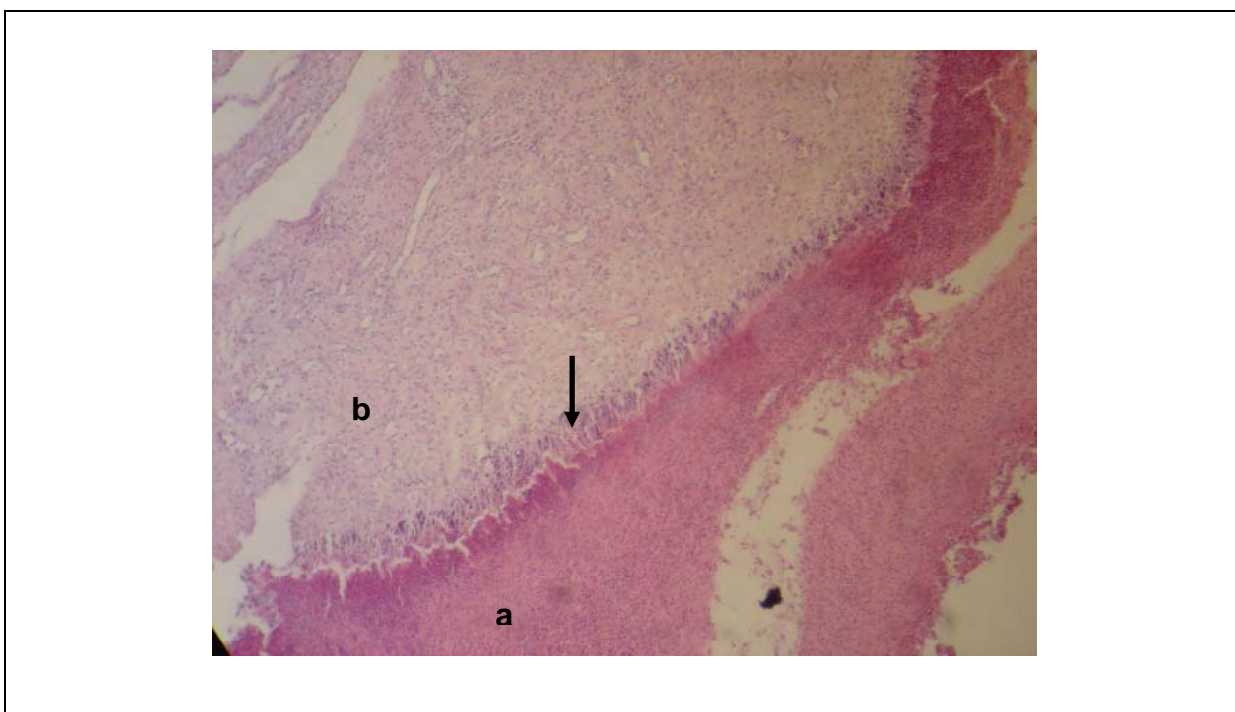


FIGURA 7 – Frango. Celulite. Placa fibrino-caseosa (a) envolta por uma barreira de histiócitos (seta) circundado pelo tecido fibroso (b). H. E. Obj. 4X.

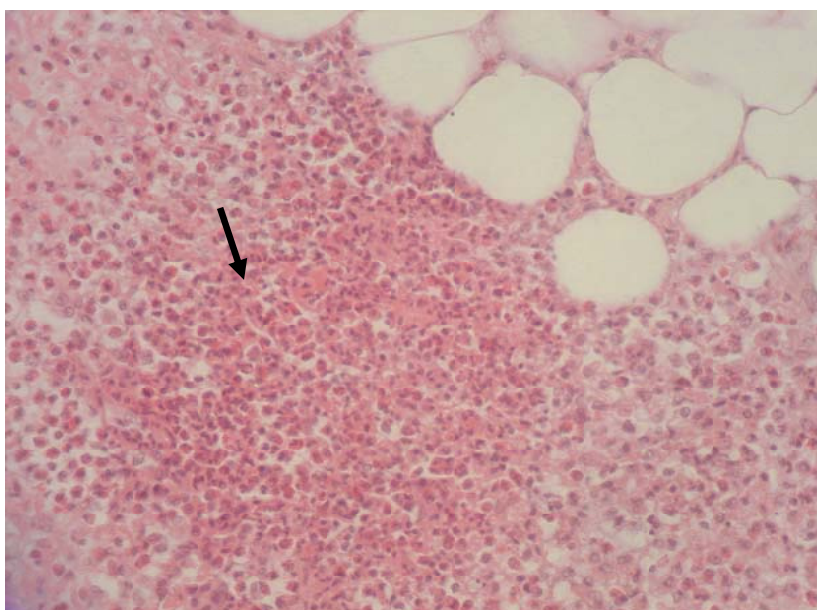


FIGURA 8 – Frango. Celulite. Infiltrado inflamatório rico em heterófilos no tecido subcutâneo (seta). H. E. Obj. 10X.

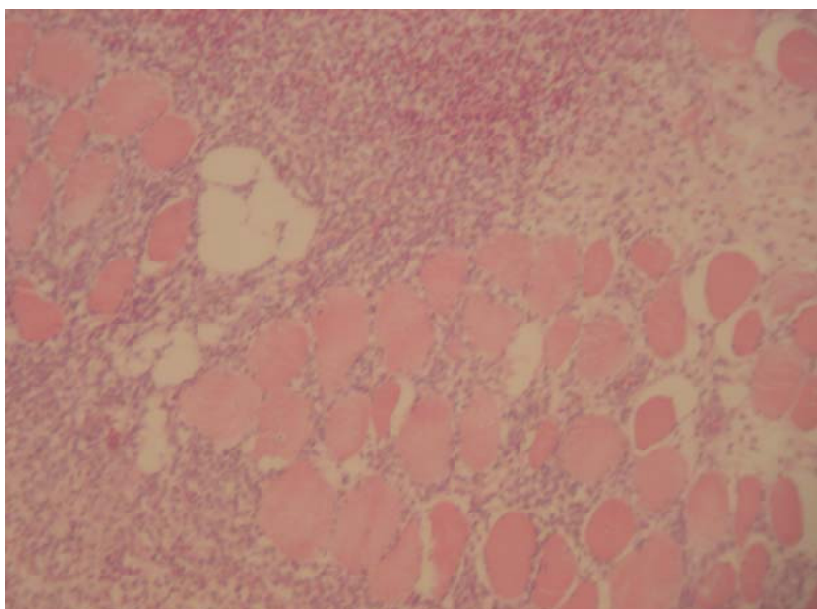


FIGURA 9 – Frango. Celulite. Infiltrado inflamatório na musculatura regional. H. E. Obj.10X.

infiltrava a musculatura regional (Figura 9), destruindo-a. Muitas vezes, havia presença de células inflamatórias na região perivascular.

A frequência de aparecimento destas alterações está representada na figura a seguir.

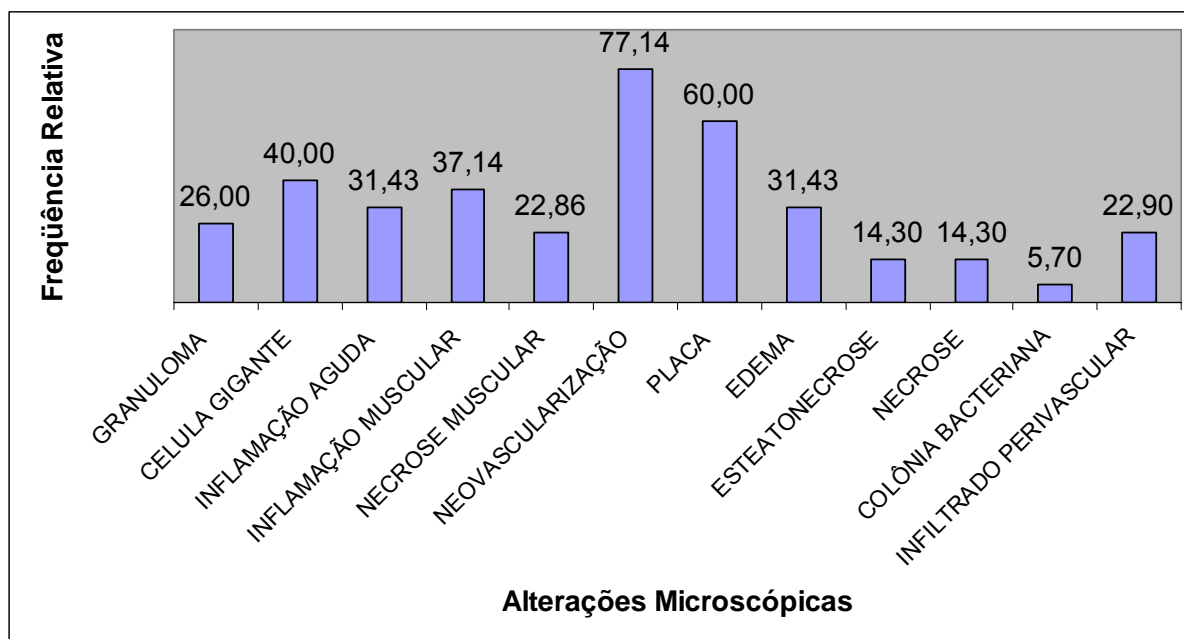


FIGURA 10 – Principais alterações microscópicas encontradas em frangos de corte com suspeita de celulite – 2004.

#### 4.2 BACTERIOLÓGICO

No ágar sangue, houve formação de UFC brancas brilhantes, muitas vezes com halo de hemólise (Figura 11). No meio de cultura ágar MacConkey, as UFC apresentaram coloração rosa, e às vezes, roxa (Figura 12).

Com o crescimento de *E. coli*, no meio TSI houve formação de uma coloração amarela na base e no ápice do tubo, com formação de gás e sem a formação de H<sub>2</sub>S, que seria evidenciado pela coloração preta.

Nas lâminas coradas pelo método de coloração de Gram, foram observados pequenos bastonetes Gram negativos.

As culturas de *E. coli* não cresceram em meio citrato de Simmons.

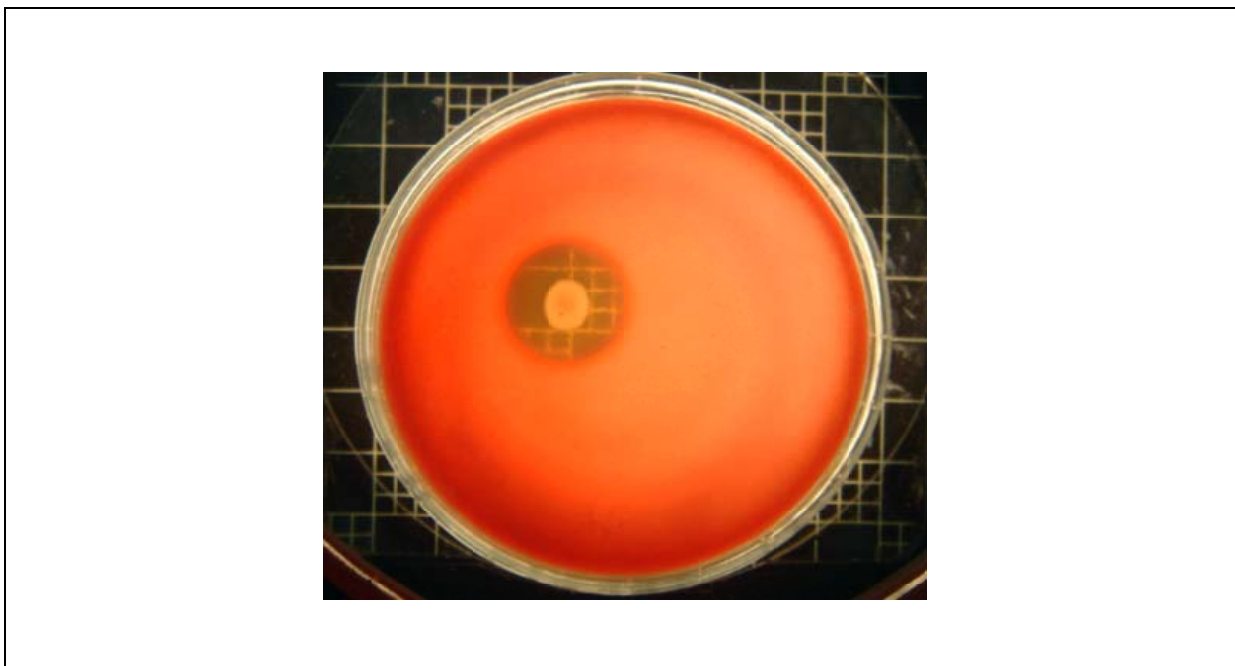


FIGURA 11 – Placa de ágar sangue apresentando colônia com halo de hemólise.

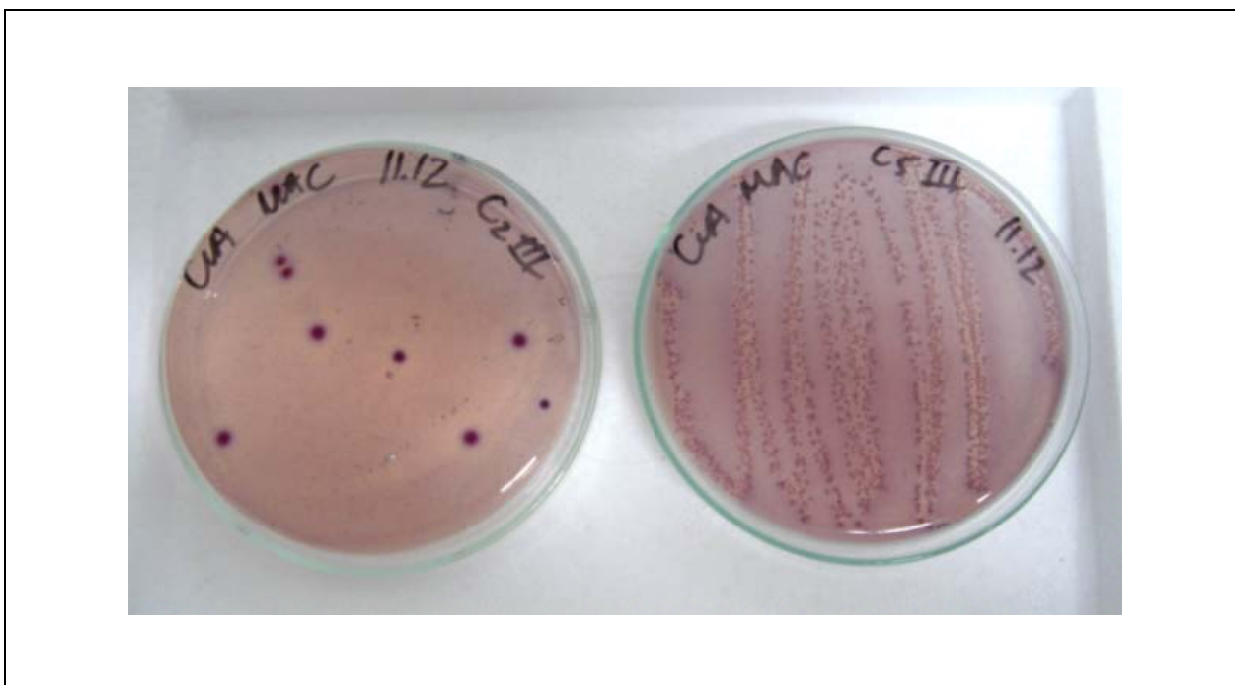


FIGURA 12 – Placa de ágar MacConkey apresentando colônias roxas.

No meio SIM, não houve formação de coloração preta, e em muitas vezes houve crescimento difuso no meio de cultura. Como as cepas de *E. coli* são indol positivas, ao adicionar três gotas do reagente de Kovacs na cultura, houve desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio.

Em culturas de *E. coli*, o meio MILi apresentou coloração roxo-acinzentado, muitas vezes, com crescimento difuso da bactéria, e houve formação de um anel vermelho na superfície do meio após a adição de três gotas do reagente de Kovacs.

No meio EPM, a coloração foi amarelo-esverdeado, com formação de bolhas de gás em todos os tubos positivos para *E. coli*.

Utilizando a metodologia direta, sem prévia semeadura em meio indicador não-seletivo, os isolamentos de *E. coli* em casos suspeitos somaram 48 e em casos controle somaram 24. E enriquecendo a cultura antes da semeadura em ágar sangue e ágar MacConkey, foram isoladas 41 culturas de *E. coli* de casos suspeitos e 34 de casos controle. Do total de isolamentos, 44 culturas de *E. coli* oriunda de casos suspeitos foram isolados utilizando a semeadura em placa de ágar sangue, e 45 de ágar MacConkey. Dos casos controle, foram isoladas 31 UFC de *E. coli* provenientes de ágar sangue e 27 de placa de ágar MacConkey.

De forma geral, das 30 amostras comprovadas microscopicamente de celulite, 23 foram positivas na identificação de *E. coli*, e das amostras controle, 18 confirmaram a presença da bactéria.

#### 4.3 ESTATÍSTICO

Comparando os tratamentos utilizados na bacteriologia, houve diferença estatística significativa entre a frequência de isolamento de *E. coli* nos métodos direto e com prévio enriquecimento não-seletivo nas aves com celulite e sem celulite, sendo a maior frequência para os casos de isolamento direto ( $p < 0,05$ ), pelo teste de qui-quadrado de McNemar.

TABELA 1 – Comparação entre as metodologias utilizadas na análise bacteriológica das amostras.

Análise Bacteriológica	Casos suspeitos	Casos controle
Direta	48	24
Com enriquecimento	41	34
Total	89	58

$p < 0,05$  pelo teste de McNemar

Entre os isolamentos de *E. coli* nos meios ágar sangue e com ágar MacConkey, não houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre os meios, segundo o teste de McNemar.

TABELA 2 – Comparação entre os meios de cultura utilizados no isolamento da *E.coli*.

Meios de Cultura	Casos suspeitos	Casos controle
Ágar sangue	44	31
Ágar MacConkey	45	27
Total	89	58

$p > 0,05$  pelo teste de McNemar

Comparando a avaliação macroscópica da celulite com a comprovação histopatológica, através de suas lesões características, constatou-se que dentre os 30 casos suspeitos de celulite, 100% apresentaram alterações microscópicas compatíveis; e dentre os casos controle, sem a lesão visível de celulite, somente um caso mostrou lesões histológicas da lesão, em grau leve, evidenciando um estágio inicial da doença.

TABELA 3 – Correspondência entre as lesões microscópicas da celulite e a suspeita macroscópica da doença.

Lesões Microscópicas	Casos suspeitos	Casos controle
Frangos com celulite	30	1
Frangos sem celulite	0	29

Ao analisar se houve variação entre o primeiro período de coleta e o segundo período de coleta, constatou-se que houve diferença estatística significativa



( $p < 0,05$ ) nos isolamentos entre os dois períodos. O maior número de isolamentos de *E. coli* e de outras bactérias foi na primeira viagem.

TABELA 4 – Comparação entre o número de isolamentos de *E. coli* e os períodos de coleta das amostras.

Isolamentos	Viagem 1	Viagem 2
<i>E. coli</i> +	32	25
<i>E. coli</i> -	25	26
outras bactérias	17	3

$p < 0,05$  pelo teste de qui-quadrado de independência

Analisando o meio ágar sangue e a metodologia utilizada na bacteriologia, com o teste de Qui-quadrado para independência, verificou-se que houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre estes.

TABELA 5 – Comparação entre as metodologias utilizadas no isolamento da *E. coli* e de outras bactérias, utilizando o meio de cultura ágar sangue.

Isolamento em ágar sangue	<i>E. coli</i> +	<i>E. coli</i> -	Outras bactérias
Direto + e enriquecido +	18	12	2
Direto +	27	25	9
Enriquecido +	32	20	8
Direto - e enriquecido -	19	27	45

$p > 0,05$  pelo teste de qui-quadrado de independência

No meio ágar MacConkey, verificou-se que a metodologia utilizada variou significativamente ( $p > 0,05$ ) nos isolamentos de *E. coli* e outras bactérias.

TABELA 6 – Comparação entre as metodologias utilizadas no isolamento da *E. coli* e de outras bactérias, utilizando o meio de cultura ágar MacConkey.

Isolamento em ágar MacConkey	<i>E. coli</i> +	<i>E. coli</i> -	Outras bactérias
Direto + e enriquecido +	12	9	4
Direto +	28	23	9
Enriquecido +	29	25	6
Direto - e enriquecido -	15	21	49

p>0,05 pelo teste de qui-quadrado de independência

## 5 DISCUSSÃO

Assim como observado por Allan (2004a), somente em um caso estudado, a lesão ocorreu na região de peito, sugerindo que a celulite encontrada no matadouro não está relacionada a onfalite, e sim a injúrias na pele. Carr et al. (1996), relata que em frangos, a celulite causada por *E. coli* pode afetar a pele ao redor da cloaca e coxas, e às vezes, o dorso. A localização atípica da celulite foi irrelevante neste trabalho, pois apenas um caso apresentou-se em outro local senão a região usual de aparecimento. Tanto neste trabalho, como o de Fallavena et al. (2000), a celulite foi mais encontrada no abdome das aves, o que não ocorre nas demais doenças cutâneas, sendo portanto, um item diferencial no seu diagnóstico.

Neste estudo, a maioria das lesões estava presente na região caudal e da coxa, assim como ocorreu no trabalho de Peighambari et al (1995b) e de Gomis et al. (2001), que observaram que as lesões macroscópicas de celulite eram predominantes na área abdominal, com lesões similares na coxa e na região caudal. Em poucas aves, a celulite consistia de fluido amarelado contendo massas semi-sólidas amarelas. Tal estágio de desenvolvimento também foi observado neste estudo, sendo considerado como estágio inicial de desenvolvimento da doença, quando há uma organização tecidual, tendendo a formar as placas típicas da celulite.

Peighambari et al. (1995b), algumas vezes, observaram que ambos os lados da carcaça estavam envolvidos. Tal dado não foi observado neste estudo, onde todas as lesões eram unilaterais.

A presença da placa amarela frouxamente aderida ao tecido subcutâneo foi um aspecto comum na maioria das amostras deste trabalho. Porém, Fallavena et al. (2000) observaram que, a celulite estava relacionada em 72% com arranhões, 86% com espessamento da pele e 61% com coloração amarelo-amarronzada, ou seja,

com muitas alterações inespecíficas. Entretanto, ao associar as alterações microscópicas com a localização na carcaça, pode-se determinar o correto diagnóstico da enfermidade. Neste estudo, as amostras com celulite estavam presentes na região ventral e de coxa e apresentaram alterações histopatológicas comuns às doenças cutâneas, como infiltrado inflamatório agudo, tecido de granulação, além das características placas de fibrina e restos celulares.

Fallavena et al., (2000) afirmaram que, embora sejam consideradas características, as alterações macroscópicas não são específicas, e, deste modo, o exame realizado no matadouro não permitiria a classificação das enfermidades cutâneas somente através da análise macroscópica. Por isto, a histopatologia é tão importante para sua diferenciação, pois 61% das lesões apresentaram uma característica típica da celulite. De acordo com os achados deste estudo, a inspeção visual realizada no momento do abate pode ser de grande acuidade em estágios avançados da doença, pois há desenvolvimento das placas fibrinosas sob a pele.

Fallavena (2001) também relata que a utilização de exames histológicos indicou que o aumento da espessura da pele é um achado freqüente em muitas doenças cutâneas, assim como as alterações na coloração, nódulos escuros nos folículos das penas e formação de crostas. Porém, o próprio autor assume que a localização das lesões é decisiva na classificação da doença, pois a celulite aviária é mais comum no abdome, ao contrário de outras doenças cutâneas. Tal afirmativa foi comprovada neste estudo, pois quase a totalidade das lesões estava presente na região mais incriminada.

Neste trabalho, as lesões microscópicas foram características e inferiram o correto diagnóstico da doença, dando subsídios para que a equipe da inspeção possa realizar o correto julgamento da carcaça. Segundo Onderka et al. (1997), a aparência da celulite parece realmente facilitar o correto reconhecimento da lesão pelos inspetores na planta de processamento.

Onderka (1997), assim como foi observado neste estudo, encontrou a presença de granulomas e placas fibrino-caseosas, e em algumas aves, células inflamatórias invadiram o músculo subcutâneo com proeminência de capilares congestos.

Carr et al. (1996) observaram que os perus com celulite estavam anoréxicos, deprimidos, e havia formação de vesículas, hiperqueratose e necrose, ao contrário do observado em frangos, os quais permanecem com bom estado nutricional. A

derme e subcutis estavam distendidas com material amorfo eosinofílico com infiltrado de heterófilos e macrófagos. Muitos vasos sangüíneos da derme e subcutis estavam rodeados por linfócitos, macrófagos e heterófilos. A superfície da pele dos perus estava intacta e as lesões estavam confinadas ao tecido subcutâneo, que apresentava um exsudato fibrino-caseoso com coloração amarelada a vermelho-amarronzada. Tal alteração é característica da celulite, e foi uma constante nas amostras colhidas. Esta condição é vista no abate, e a carcaça é condenada parcial ou totalmente, dependendo da extensão da lesão, assim como em frangos.

Apesar de Onderka (1997) citar que, no seu estudo das lesões de celulite, 30% foram consideradas aptas à condenação parcial, pois podiam ser removidas sem perigo de contaminar o resto da carcaça, Peighambari et al. (1995a) observaram que a retirada da parte afetada nem sempre é segura, pois algumas aves desenvolvem outras complicações por infecção com *E. coli*, indicando que a bactéria entrando pela pele, às vezes, alcança a circulação sangüínea e causa infecção em diferentes órgãos. Allan (1994a) também observou que isolados de *E. coli* oriundos da celulite são capazes de causar doenças sistêmicas em frangos de corte.

Dáí a importância da doença em termos sanitários, pois haveria disseminação da bactéria por toda a carcaça, e não somente na região subcutânea. Kumor et al. (1998) relatam que os microrganismos são encontrados além dos limites macroscópicos, logo o correto julgamento da lesão deve ser realizado, valorizando não só a estética da lesão, como também a preocupação sanitária envolvendo a questão. A partir disto, presume-se que há uma maior preocupação sanitária com relação a maneira mais segura de se identificar a enfermidade, e assim, minimizar os riscos envolvidos. O envolvimento bacteriano foi confirmado neste estudo, pois mais de 70% das amostras com alterações macroscópicas evidenciaram a *E. coli*.

Em consonância com Gomis et al. (2000), além do valor econômico, a celulite definitivamente é preocupante quanto à higiene dos alimentos, visto que a *E. coli* pode ser isolada em grande quantidade das lesões. Dentre as 51 lesões de celulite, a *E. coli* foi isolada em 92%, e 76,6%, neste estudo. Isto é bastante preocupante, uma vez que pode haver a contaminação cruzada na linha de processamento, mesmo depois da retirada das lesões de celulite, devido à disseminação bacteriana.

Gomis et al. (2001) mostraram que os isolamentos de *E. coli* dos frangos com celulite exibiram alta resistência a inúmeros antibióticos freqüentemente usados na

indústria avícola. Uma relação indesejável pode ocorrer, futuramente, com o uso de antibióticos pelos produtores de frangos na tentativa de compensar as perdas devido à celulite. De acordo com Gomis et al. (2000), esta abordagem tem sério comprometimento porque há um potencial para que a bactéria facilmente alcance o homem através dos produtos avícolas. A possibilidade da resistência sendo transferida aos microrganismos contaminantes de alimentos deve ser matéria de preocupação, pois pode comprometer a saúde de toda a população.

Segundo Boulianne (1999), a celulite aviária pode ser diminuída através da melhoria do empenamento das aves, por temperaturas adequadas na granja e da diminuição da incidência de arranhões e da carga bacteriana do ambiente através de práticas de limpeza. Outra medida proposta por Macklin et al. (2000), está relacionada à melhoria do sistema imune das aves, prevenindo a colonização bacteriana ou, uma vez estabelecida, que possa ser rapidamente removida.

Os resultados de um estudo, realizado por Peighambari et al. (1995a), mostraram que o processo inflamatório ocorre abaixo da derme, no tecido e na gordura subcutânea, e poucos focos de “debris” foram encontrados na derme, além daqueles no subcutâneo. Logo, a celulite seria o nome mais apropriado para esta condição, por referir-se a um processo inflamatório que pode levar a presença de um exsudato purulento (caseoso) no tecido subcutâneo. Porém, em muitos matadouros não há uma categoria para esta enfermidade, incluindo-a em outras doenças cutâneas. Uma consequência dessa classificação única é a falta de dados epidemiológicos, que indisponibiliza informações relevantes sobre a ocorrência das diversas enfermidades, e nos oferece uma falsa realidade. Tais dados contribuiriam para o esclarecimento de aspectos ligados à etiologia de algumas das mais importantes doenças de pele.

Logo, a localização da lesão pode indicar o diagnóstico da maioria das doenças cutâneas, quando associada às alterações macroscópicas. Porém, segundo Berchieri Jr. e Macari (2000), alguns autores acreditam que, apesar da importância do aspecto macroscópico que é característico em várias doenças cutâneas, não há uma confirmação histopatológica do diagnóstico realizado na linha de inspeção dos matadouros, o que tem preocupado o Serviço de Inspeção Federal. Tal fato não foi observado no estudo da celulite, pois todos os achados macroscópicos obtiveram comprovação microscópica, atestando o correto julgamento pelos inspetores veterinários.

Segundo Norton (1997), arranhões ou outros danos à pele são necessários para a instalação da doença, mas não suficientes para ela ocorrer, e que uma dose mínima de bactéria é requerida para que a infecção ocorra. Portanto, todas as formas de se diminuir o contato entre as aves, ou melhorar a qualidade da cama aviária são primordiais no controle da celulite.

Oderkirk (1997) recomenda que qualquer medida que diminua a atividade das aves na granja, além de uma boa limpeza e desinfecção do local favorece a redução da ocorrência da celulite. Programas inadequados de iluminação permitem que as aves fiquem mais tempo acordadas, e com isso, maior a chance de haver arranhões. Temperatura e ventilação inadequadas também irão fazer com que as aves fiquem concentradas em certas áreas, aumentando o contato entre elas. O autor sugeriu medidas de controle da doença, como: promover crescimento de penas, reduzir a carga bacteriana, a taxa de crescimento, estresse, a atividade e movimentos da ave, o contato entre as aves, manter ótima qualidade da cama, utilizar o programa de iluminação e ventilação adequados, e utilizar uma correta formulação nutritiva na ração. O controle de todas as doenças cutâneas deve envolver a prevenção dos arranhões, a diminuição de patógenos e a manutenção do perfeito funcionamento imunológico dos frangos de corte.

Neste trabalho, as amostras de celulite positivas para *E. coli* totalizaram 76,6%. Este alto número de isolamentos também foi evidenciado em outros estudos: Gomis et al. (1997a) isolaram 97,5% de *E. coli* e Gomis et al. (2001) isolaram 100%. No estudo de Onderka et al. (1997), *E. coli* estava presente em 83% das lesões. Isto demonstra que tal bactéria está intimamente incriminada na patogenia da doença, sendo relacionada como o principal agente causal da doença.

## 6 CONCLUSÃO

Tendo em vista o relato apresentado no presente estudo, concluímos que:

- ✓ O infiltrado rico em heterófilos caracteriza a fase inicial da enfermidade, devendo ser classificada como celulite úmida, enquanto que, a placa fibrinosa caracteriza celulite seca.
- ✓ A *E. coli* é o agente etiológico principal da celulite em frangos de corte, pois está presente em 76,6% das aves comprovadamente com a doença.
- ✓ Não houve diferença estatística significativa entre os dois meios de cultura utilizados.
- ✓ Houve diferença estatística significativa entre as duas metodologias empregadas no isolamento da *E. coli*, sendo o método direto, sem um indicador não-seletivo, o que obteve melhor resultado.
- ✓ As alterações macroscópicas associadas à localização das lesões na carcaça podem indicar a presença da celulite em frangos de corte.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE FRANGO – ABEF. Disponível em: <<http://www.abef.com.br>>. Acesso em: 16 mar. 2005.

ALLAN, B. Cellulitis: Its Microbiology. In: 22<sup>nd</sup> ANNUAL POULTRY SERVICE INDUSTRY WORKSHOP, 1997, Alberta. *Anais Eletrônicos...* Alberta, Canadá, 1997 Disponível em: <<http://www.agric.goc.ab.ca/>>. Acesso em: 28 mar. 2004a.

ALLAN, B. Identification and characterization of the causative agent of a new type of cellulitis in turkeys. Disponível em: <<http://www.westvet.com/cellulitis.htm>>. Acesso em: 01 set. 2004b.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4<sup>th</sup> ed. 2001. 676p.

ANDRADE, C. L. et al. Alterações Cutâneas em Frangos de Corte Encontradas na Linha de Inspeção em um Abatedouro sob Inspeção Federal no Estado de São Paulo. In: I CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS e VII CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, Belo Horizonte. *Anais...* São Paulo: Higiene Alimentar, 2003. 224p. p. 15.

ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE AVICULTURA – APA. Disponível em: <<http://www.apa.com.br>>. Acesso em: 16 mar. 2005.

ASSOCIAÇÃO PRODUTORES DE PINTO DE CORTE – APINCO. Disponível em: <<http://www.facta.org.br>> Acesso em: 16 mar. 2005.

AVICULTURA INDUSTRIAL. Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br>>. Acesso em: 14 mar. 2005.

AVISITE. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br>>. Acesso em: 16 mar. 2005.

BERCHIERI JR, A.; MACARI, M. *Doença das Aves*. Campinas: FACTA, 2000. 505p.

BIELBY, M. Economic losses in poultry industry due to cellulitis. In: 21<sup>st</sup> ANNUAL POULTRY SERVICE INDUSTRY WORKSHOP. 1996. Alberta. *Anais Eletrônicos...* 1996 Disponível em: <<http://www.agric.gov.ab.ca/livestock/poultry/psiw/psiw9704>>. Acesso em: 29 dez. 2003.

BOULIANNE, M. Cellulitis in broiler chickens. *Misset World Poultry*, v. 15, p. 56 – 59, 1999.

BRASIL. Normativa nº 210, de 10 de novembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 1998.

BRASIL. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. Estabelece procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, n.59, p. 266, 26 mar. 2004. Seção 1.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 30 mar. 2005.

BRITO, B. G.; VIDOTTO, M. C.; TAGLIARI, K. C.; LEITE, D. S. Clones de *Escherichia coli* causadores de celulite aviária. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/cet/1/26/index.shtm>>. Acesso em: 12 set. 2003.

BRITO, B. G.; GAZIRI, L. C. J.; VIDOTTO, M. C. Virulence factors and clonal relationship among *Escherichia coli* strains isolated from broiler chickens with cellulitis. *Infection and Immunity*, v. 71, n. 7, p. 4175-4177, 2003.

BURNS, K. E.; OTALORA, R.; GLISSON, J. R.; HOFACRE, C. L. Cellulitis in japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Avian Diseases*, v. 47, p. 211-214, 2003.

CARR, D.; SHAW, D.; HALVORSON, D. A.; RINGS, B.; ROEPKE, D. Excessive mortality in market-age turkeys associated with cellulitis. *Avian Diseases*, v. 40, p. 736-741, 1996.

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

ELFADIL, A. A.; VAILLANCOURT, J. P.; MEEK, A. H.; GYLES, C. L. A prospective study of cellulitis in broiler chickens in Southern Ontario. *Avian Diseases*, v. 40, p. 677-698, 1996b.

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, 1996c.

FALLAVENA, L. C. B. Lesões Cutâneas em Frangos de Corte: Causas, Diagnóstico e Controle. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA. 2001. *Anais... Apinco*, 2001. p. 205-216.

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

GOMIS, S. M.; GOODHOPE, R.; KUMOR, L.; CADDY, N.; RIDDELL, C.; POTTER, A. A.; ALLAN, B. J. Isolation of *Escherichia coli* from cellulitis and other lesions of the same bird in broilers at slaughter. *Can Vet. Journal*, v. 38, p. 159-162, 1997a.

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

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

GOMIS, S. M.; RIDDELL, C.; POTTER, A. A.; ALLAN, B. J. Phenotypic and genotypic characterization of virulence factors of *Escherichia coli* isolated from broiler chickens with simultaneous occurrence of cellulitis and other colibacillosis lesions. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 65, p. 1-6, 2001.

GOMIS, S.; AMOAKO, K.; NGELEKA, M.; BELANGER, L.; ALTHOUSE, B.; KUMOR, L.; WATERS, E.; STEPHENS, S.; RIDDELL, C.; POTTER, A.; ALLAN, B. Histopathologic and bacteriologic evaluations of cellulitis detected in legs and caudal abdominal regions of turkeys. *Avian Diseases*, v. 46, n. 1, p. 192-197, 2002.

GROSSKLAUS, D. *Inspeccion Sanitaria de la Carne de Ave*. Zaragoza, España: Editorial Acribia, 1979, 354p.

HODGES, R. D. *Histology of the Fowl*. London, Academic press, 1974, 648p.

JEFFREY, J. S.; SHIVAPRASAD, H. L.; DURAN, L.; CARDONA, C. J.; CHARLTON, B. R. Facial cellulitis associated with fowl cholera in commercial turkeys. *Avian Diseases*, v. 37, p. 1121-1129, 1993.

JEFFREY, J. S.; CHIN, R. P.; SINGER, R. S. Assessing cellulitis pathogenicity of *Escherichia coli* isolates in broiler chickens assessed by an in vivo inoculation model. *Avian Diseases*, v. 43, p. 491 - 496, 1999.

JEFFREY, J. S.; NOLAN, L. K.; TONOOKA, K. H.; WOLFE, S.; GIDDINGS, C. W.; HORNE, S. M.; FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M.; EBERT, J. O.; ELIJAH, L. M.; BJORKLUND, G.; PFAFF-McDONOUGH, S. J.; SINGER, R. S.; DOETKOTT, C. Virulence factors of *Escherichia coli* from cellulitis or colisepticemia lesions in chickens. *Avian Diseases*, v. 46, p. 48-52, 2002.

KUMOR, L. W.; OLKOWSKI, A. A.; GOMIS, S. M.; ALLAN, B. J. Cellulitis in broilers chickens: epidemiological trends, meat hygiene, and possible human health implications. *Avian Diseases*, v. 42, p. 285-291, 1998.

LECLERC, B.; FAIRBROTHER, J. M.; BOULIANNE, M.; MESSIER, S. Evaluation of the adhesive capacity of *Escherichia coli* isolates associated with avian cellulitis. *Avian Diseases*, v. 47, p. 21-31, 2003.

MACKLIN, K. S.; NORTON, R. A.; HESS, J. B.; BILGILI, S. F. The effect of vitamin E on cellulitis in broiler chickens experiencing scratches in a challenge model. *Avian Diseases*, v. 44, p. 701-705, 2000.

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

MEYER, D. J.; FRANKS, S. P. *Clinical Cytology Part 1: Management of Tissue Specimens*. M.V.P., p. 440-445, 1986.

NGELEKA, M.; KWAGA, J. K. P.; WHITE, D. G.; WHITTAM, T. S.; RIDDELL, C.; GOODHOPE, R.; POTTER, A. A.; ALLAN, B. *Escherichia coli* cellulitis in broiler chickens: clonal relationships amongs strais 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, n. 4, 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.; MACKLIN, K. S.; McMURTREY, B. L. Evaluation of Scratches as an Essential Element in the Development of Avian Cellulitis in Broiler Chickens. *Avian Diseases*, v. 43, n. 2, p. 320-325, 1999.

ODERKIRK, A. Broiler Cellulitis. *Poultry Fact Sheet*, Nova Escócia, Canada: Poultry ServiceIndustry, 1997. Disponível em: <<http://www.gov.ns.ca/nsaf/elibrary/archive/lives/poultry/broilers/celulite>>. Acesso em: 29 dez. 2003.

OLKOWSKI, A. A.; KUMOR, L.; JOHNSON, D.; BIELBY, M.; CHIRINO-TREJO, M.; CLASSEN, H. L. Cellulitis lesions in commercial turkeys identified during processing. *The Veterinary Record*, v. 145, p. 228-229, 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.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby, London, 1994. 648 p.

RANDALL, C. J.; MEAKINS, P. A.; HARRIS, M. P.; WATT, D. J. A new skin disease in broilers? *The Veterinary Record*, v. 114, 1984.

RIBEIRO, M. C. & SOARES, M. M. S. R. *Microbiologia Prática: Roteiro e Manual – Bactérias e Fungos*. Ed. Atheneu, São Paulo, 2000. 112p.

SALVADORI, M. R.; SANTOS, L. M. B.; YANO, T. Indução e modulação de resposta inflamatória em frangos pela citotoxina ECVF produzida por *E. coli* isolada de celulite aviária. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/cet/1/16/index.shtm>>. Acesso em: 16 mar. 2004.

SILVA, E. N.; MOTA, M. P. Celulite em Frangos de Corte. 2003. Disponível em <[http://www.fatec.com.br/trabtec/celulite\\_em\\_frangos\\_de\\_corte.htm](http://www.fatec.com.br/trabtec/celulite_em_frangos_de_corte.htm)>. Acesso em: 27 nov. 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. Livraria Varela: São Paulo, 1997. 295 p.

SINGER, R. S.; ATWILL, E. R.; CARPENTER, T. E.; JEFFREY, J. S.; JOHNSON, W. O.; HIRSH, D. C. Selection bias in epidemiological studies of infectious diseases using *Escherichia coli* and avian cellulitis as an example. *Epidemiology and Infection*, v. 126, n. 1, p. 139-145, 2001.

THRUSFIELD, M. *Veterinary Epidemiology*, 2<sup>a</sup> ed., Blackwell Science: Oxford, 2003. 483p.

TOLEDO, M. R. F.; FONTES, C. F.; TRABULSI, L. R. MILi – Um meio para realização dos testes de motilidade, indol e lisina descarboxilase. *Revista de Microbiologia*, v. 13, n. 3, p. 230-235, 1982a.

TOLEDO, M. R. F.; FONTES, C. F.; TRABULSI, L. R. EPM – Modificação do meio de Rugai e Araújo para a realização simultânea dos testes de produção de gás a partir da glicose, H<sub>2</sub>S, urease e triptofano. *Revista de Microbiologia*, v. 13, n. 4, p. 309-315, 1982b.

UNIÃO BRASILEIRA DOS AVICULTORES – UBA. Relatório Anual 2004-2005. Disponível em: <<http://www.uba.org.br/>>. Acesso em: 30 mar. 2005.