

Colibacilosis en avicultura: Situación actual

Introducción

Las enfermedades que afectan al sector avícola tienen gran influencia sobre los parámetros productivos o zootécnicos, y en algunos casos en Salud Pública. Suponen importantes pérdidas económicas por la mortalidad animal, los retrasos del crecimiento, el coste de los tratamientos veterinarios, los descensos en la producción por disminuciones del porcentaje de puesta o por alteraciones en la calidad del huevo, siendo no aptos para su comercialización. Los gastos derivados del control de estas enfermedades suponen una gran inversión para la industria avícola.

El origen de las enfermedades es muy variado: manejo, genético, nutricional, bacteriano, vírico, parasitario, fúngico, etc. Es importante destacar que cualquier causa que origine estrés puede desencadenar la aparición de una enfermedad, ya que el sistema inmune del animal se encuentra comprometido (Dho-Moulin, 1993; Gross, 1994; Buxadé *et al.*, 2000).

Hay enfermedades que aunque no tienen relación directa con la disminución o alteración de parámetros productivos, actúan como factores predisponentes para el desarrollo de otras enfermedades que sí pueden influir a este nivel.

Colibacilosis: consideraciones generales

E. coli es la especie bacteriana predominante de la microbiota normal aerobia y anaerobia facultativa del aparato digestivo de la mayor parte de los animales y del hombre (Margall *et al.*, 1997; Schroeder *et al.*, 2004; Todar, 2008) y por tanto, se elimina por las heces al exterior.

Según la segunda edición del manual Bergey (Garrity *et al.*, 2004), el género *Escherichia* está incluido dentro del Filum *Proteobacteria*, Clase *Gammaproteobacteria*, Orden *Enterobacteriales*, y Familia *Enterobacteriaceae*.

Escherichia coli (*E. coli*) es la especie tipo del género *Escherichia* (Blanco *et al.*, 2002; Barnes *et al.*, 2003), cuyas características generales son las siguientes:

- Bacilos Gram negativos, catalasa positivos y oxidasa negativos.
- No formadores de esporos.
- Anaerobios facultativos, con un amplio rango de temperatura de incubación.
- Pueden ser inmóviles o móviles gracias a flagelos peritricos.

- Presentan necesidades nutricionales muy básicas y sencillas.

El criterio que se ha utilizado durante muchos años para diferenciar los *E. coli* patógenos de los comensales, ha sido la determinación del antígeno somático. Ha sido necesario conocer la fórmula antigénica completa, así como la determinación de otras características de virulencia (genes de virulencia), para considerar a una cepa como patógena. (Margall *et al.*, 1997; Delicato *et al.*, 2003; Mellata *et al.*, 2003; Ewers *et al.*, 2005; Todar, 2008).

Colibacilosis aviar

La capacidad de *E. coli* para producir enfermedad en las aves domésticas es conocida desde finales del siglo pasado. En 1885, Theodor Escherich consiguió aislar *E. coli* en muestras clínicas humanas, denominándolo inicialmente como *Bacterium coli commune* (Blanco *et al.*, 1996; Todar, 2008).

Es una enfermedad muy importante en avicultura. Supone un serio problema en relación con la salud animal y es una de las principales causas de enfermedad, mortalidad y pérdidas económicas en las granjas avícolas. Este hecho se debe a la frecuencia de su presentación y a la disminución de índices productivos y de bienestar animal. (Barnes *et al.*, 2003; Vandekerchove *et al.*, 2004c; Monroy *et al.*, 2005).

A pesar de la importancia de la enfermedad, se desconocen muchos de los mecanismos de virulencia de las cepas aviarias de *E. coli* (Johnson *et al.*, 2004). En años recientes se han descubierto varios genes implicados en mecanismos de virulencia de la bacteria, adquiriendo los *E. coli* patógenos aviarios la denominación específica de APEC, *Avian Pathogenic Escherichia coli* (da Silveira *et al.*, 2002).

Epidemiología de la colibacilosis aviar

La mayor parte de los cuadros clínicos de colibacilosis son de origen respiratorio (Dho-Moulin *et al.*, 2007), aunque no se descarta que algunos sucedan al atravesar las bacterias la pared intestinal (Blanco *et al.*, 1996a, 2002; Ewers *et al.*, 2004).

La colibacilosis suele ser considerada como una enfermedad secundaria, originada por un estado de inmunodepresión debida a otras enfermedades víricas o bacterianas como Bronquitis Infecciosa, Enfermedad de Newcastle, Enfermedad de Gumboro, Micoplasmosis, Clostridiosis, etc. (Nakamura *et al.*, 1990; Barnes *et al.*, 2003; Mellata *et al.*, 2003).

La presencia de lesiones primarias, como daños en los cilios traqueales y alteraciones en el sistema respiratorio, facilitarían la entrada, colonización y diseminación secundaria de *E. coli*.

Existen otros factores (no víricos ni bacterianos) que incrementan la susceptibilidad de las aves para padecer una infección por *E. coli* (Barnes *et al.*, 2003). Se representan de un modo resumido en la siguiente tabla (Tabla 1).

Tabla 1. Factores predisponentes para el desarrollo de una infección por *E. coli* (Barnes *et al.*, 2003)

FACTORES PREDISPONENTES	
PARASITOS	<i>Ascaridia dissimilis</i> , <i>Ascaridia galli</i> , <i>Eimeria brunetti</i> , <i>Eimeria tenella</i> , <i>Cryptosporidium baileyi</i> , <i>Histomonas meleagridis</i> , <i>D. gallinae</i> .
AMBIENTALES	Agua contaminada, exceso de partículas de polvo, restricciones de agua y/o comida, ventilación inadecuada, gases, temperaturas extremas, exceso de ruido, superpoblación, etc.
FISIOLOGICOS	Edad, periodo de pico de puesta, estrés, picaje, nerviosismo.

A pesar de considerarse como una enfermedad secundaria, autores como Nakamura *et al.*, (1992a); Barnes *et al.*, (2003) y Vandekerchove *et al.*, (2004a, 2004c) describen la colibacilosis aviar como una entidad propia, defendiendo a *E. coli* como un agente patógeno primario. Numerosos autores hacen referencia al origen cloacal de las cepas patógenas causantes de septicemias en aves. Las cepas patógenas presentan unas características diferenciales que no siempre poseen los aislados comensales ni aquellas cepas con baja o escasa patogenicidad. Hay estudios en los que se indica que el 10-15% de la población de bacterias coliformes intestinales pertenece a serotipos patógenos (Barnes *et al.*, 2003).

Las cepas patógenas pueden diseminarse ampliamente por la formación de aerosoles a partir de las heces contaminadas y adherirse a las células del epitelio del tracto respiratorio superior mediante fimbrias F1, iniciándose la colonización bacteriana (Dozois *et al.*, 1994; McPeake *et al.*, 2005).

Sintomatología y lesiones

La característica clínica más importante de la colibacilosis aviar es la colisepticemia y se produce por la afectación de numerosos órganos internos como el corazón, hígado, bazo, ovario, etc. (Gross, 1991, 1994; Barnes *et al.*, 1997; Dho-Moulin *et al.*, 1999; Chansiripornchai *et al.*, 2001; Ewers *et al.*, 2003; Jordan *et al.*, 2005; Landman *et al.*, 2006; Dho-Moulin *et al.*, 2007).

Existe una gran diferencia entre las variedades de *E. coli* y su habilidad para causar enfermedad, entre los dos extremos se encuentran todos los rangos de patogenicidad.

Los síntomas varían con el lugar preferente de localización de la infección, reconociéndose las siguientes formas:

- **Forma respiratoria**

La colibacilosis aviar, suele iniciarse a nivel del tracto respiratorio. Cuando *E. coli* atraviesa la mucosa del tracto respiratorio y alcanza el torrente circulatorio, se origina una infección sistémica generalizada o colisepticemia, donde se observan (Figura 1) lesiones como perihepatitis, peritonitis y pericarditis fibrinosa (Blanco *et al.*, 1996a; Kariyawasam *et al.*, 2002; Barnes *et al.*, 2003; Mellata *et al.*, 2003a; Vandekerchove *et al.*, 2004c; McPeake *et al.*, 2005; Dho-Moulin *et al.*, 2007). A nivel respiratorio las lesiones se localizan en la tráquea, pulmones y sacos aéreos, pudiendo presentar estos últimos un aspecto opaco y con exudado caseoso de intensidad variable (Barnes *et al.*, 2003). Suele afectar a animales jóvenes, de forma aguda, alcanzándose valores aproximados del 50% de morbilidad y del 5-10% de mortalidad. Entre los síntomas clínicos que se manifiestan, se puede observar dificultad respiratoria o disnea acompañada de estertores.

Figura 1. Perihepatitis y pericarditis fibrinosa por *E. coli* (cortesía D. M. Pizarro)

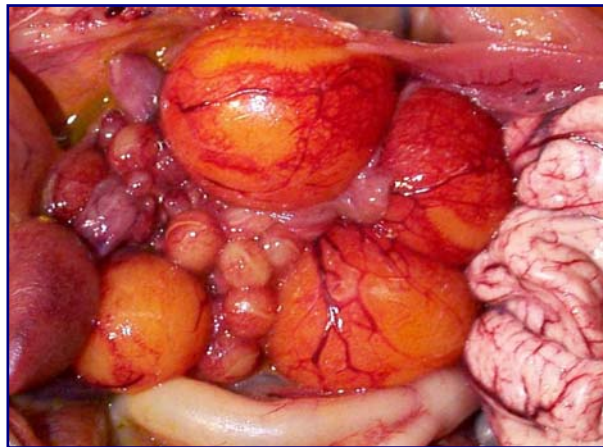


- **Forma genital o reproductora**

La principal vía de infección del oviducto suele producirse por contaminación fecal a partir de la cloaca. También están descritas otras vías de infección como la producida a partir del tracto respiratorio por invasión, diseminación y colonización de órganos internos e incluso por el paso de las bacterias a través del lumen intestinal (Landman *et al.*, 2006). Se han descrito casos de infecciones ascendentes desde el oviducto a la cavidad peritoneal, cursando con

peritonitis (Trampel *et al.*, 2007). Es una enfermedad crónica y de curso lento, con una mortalidad en torno al 2-3%. Los rendimientos productivos de las gallinas ponedoras disminuyen ya que se produce una leve caída de la puesta (Vandekerchove *et al.*, 2004c). El oviducto presenta una notable congestión y dilatación (Figura 2) de la mucosa pudiendo encontrar un contenido purulento en el interior (Blanco *et al.*, 1996a), incluso masas caseosas, en animales mayores.

Figura 2. Inflamación y congestión hemorrágica del ovario y oviducto (cortesía D. A. Payés)



Problemática actual en las granjas avícolas

Es una evidencia que la colibacilosis aviar, de tipo primario o secundario, es un problema altamente importante para las granjas avícolas. Es una enfermedad muy frecuente que puede llegar a ocasionar pérdidas económicas muy elevadas, por la mortalidad animal que genera, los costes en tratamientos, disminuciones en la producción, etc.

Los tratamientos frente a la colibacilosis tienen “ciertas” limitaciones, ya que el número de resistencias a antimicrobianos ha aumentado mucho y los tratamientos pueden resultar ineficaces. En el caso de gallinas ponedoras, la colistina es el único antimicrobiano que presenta un periodo de retirada “cero” en huevos y de momento, no se han detectado resistencias importantes. Estudios realizados por Blanco *et al.*, (1997a); Filali *et al.*, (1988) y Geornaras *et al.*, (2002), demostraron que el 100% de los aislados clínicos estudiados presentaron perfiles de sensibilidad a la colistina. Sin embargo, Amara *et al.*, (1995), detectaron una proporción de aislados resistentes a la colistina del 0,4% y Giurov (1985), del 3,94%.

Es muy importante tener en cuenta que los brotes clínicos de colibacilosis en avicultura están originados por la acción conjunta de varias cepas de *E. coli*. La virulencia de *E. coli* es

multifactorial, es decir, depende de la acción combinada de numerosos factores o genes de virulencia (Blanco *et al.*, 2002; Kariyawasam *et al.*, 2002; Siek *et al.*, 2005; Johnson *et al.*, 2004).

Según esta afirmación, resulta importantísimo conocer cómo son las cepas patógenas para intentar controlar la enfermedad, es decir, caracterizar las cepas responsables de la colibacilosis.

En este documento se presentan algunos de los resultados obtenidos en un estudio comparativo entre cepas de *E. coli* de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras (Gibert, 2009).

Caracterización de cepas patógenas de *E. coli*

Los APEC (*E. coli* patógenos) están presentes en la microbiota normal del intestino, comportándose como patógenos oportunistas. Aprovechan períodos en los que las defensas de los animales se encuentran disminuidas para manifestar su acción patógena (Blanco *et al.*, 1996a, 1996c; Delicato *et al.*, 2003).

Existen atributos de virulencia en APEC que los diferencia de otros *E. coli* no patógenos, son los factores de virulencia que contribuyen conjuntamente a potenciar su patogenicidad.

Algunos factores son más prevalentes en cepas patógenas de *E. coli* (Ewers *et al.*, 2004, 2005; Johnson *et al.*, 2006a) pudiendo actuar como marcadores relativos de patogenicidad, permitiendo así detectar y caracterizar a las cepas patógenas. Esta característica podría ser utilizada como herramienta en la prevención de la colibacilosis aviar (La Ragione *et al.*, 2002; Delicado *et al.*, 2003; Mellata *et al.*, 2003; Skyberg *et al.*, 2003; Ewers *et al.*, 2005).

En el estudio se llevaron a cabo las siguientes determinaciones para la caracterización de cepas de *E. coli*:

1. Gracias a la **detección por PCR de la presencia/ausencia de factores de virulencia (*virulence factors*)** podemos caracterizar y clasificar a los aislados de *E. coli* en patotipos. Se define patotipo como la representación de una combinación de factores de virulencia detectados diferente (Delicato *et al.*, 2003).

Se seleccionaron un total de 6 genes de virulencia, obteniendo una gran cantidad de patotipos. Se determinaron un total de 22 patotipos diferentes en los aislados clínicos y en los de origen fecal, 25. Sin embargo, en ambos casos, existe un número mayoritario que es limitado. En concreto, seis patotipos abarcan el 78,7% de los aislados clínicos (de los

cuales, dos representan el 51,5%), lo que parece indicar una cierta predominancia de éstos entre los causantes de enfermedad.

La frecuencia de detección de los factores de virulencia estudiados en los aislados clínicos ha sido elevada, superior al 50% en todos los casos. En los aislados de origen fecal la detección ha sido, en general, inferior. Los patotipos en los que se han detectado cinco y seis factores de virulencia han sido los más frecuentemente obtenidos entre los aislados clínicos. Sin embargo, en los aislados de origen fecal, los patotipos en los que se han detectado dos y tres factores de virulencia han sido los más frecuentes.

El factor de virulencia *cvi*, ha sido detectado con una frecuencia significativamente superior en los aislados fecales que en los clínicos (90,9% frente a 62,4% respectivamente). Este hecho podría ser debido a que la producción de colicinas sea más necesaria a nivel intestinal que a nivel sistémico, como mecanismo de competencia y supervivencia intractestinal entre diferentes cepas de *E. coli*.

2. Otro método de clasificación es la **determinación del antígeno somático o serogrupo**.

Existen numerosos autores que afirman que aunque ciertos serogrupos (O1, O2 y O78) hayan sido considerados como los más frecuentemente implicados en colibacilosis aviar, realmente el número de serogrupos es muy elevado (Barnes *et al.*, 2003; Delicato *et al.*, 2003; Mellata *et al.*, 2003; Rosario *et al.*, 2004; Ewers *et al.*, 2005; McPeake *et al.*, 2005; Mokady *et al.*, 2005; Siek *et al.*, 2005a, 2005b; Vandekerchove *et al.*, 2005; Kawano *et al.*, 2006).

En nuestro estudio se obtuvieron un total de doce serogrupos diferentes, lo que revela una elevada heterogeneidad. Se puede considerar la existencia de un grupo mayoritario formado por cinco serogrupos (O78, O88, O1, O20 y O2) que representa el **57,8%** del total de los aislados clínicos. Los serogrupos O78, O88, O20 y O2 se caracterizan por estar integrados, en su mayoría, por aislados en los que se han determinado todos los factores de virulencia estudiados (patotipo nº1) o todos excepto el factor *fyuA* (patotipo nº 2).

3. Mediante la **Caracterización molecular de los aislados por Electroforesis en Campo Pulsado (PFGE)** se obtienen patrones legibles de bandas (pulsotipos) que permiten la comparación de los distintos aislados y la determinación de su relación genética, de los vínculos epidemiológicos entre las cepas. Es un sistema de tipado genético que se basa en el análisis del ADN cromosómico. En los aislados de origen clínico, el 61,1% de los pulsotipos obtenidos está integrado por una única cepa. Lo mismo sucede con los aislados

de origen fecal, donde el 88% de los pulsotipos incluyen una única cepa. En general, nuestros resultados coinciden con la bibliografía consultada, donde se menciona la elevada heterogenicidad existente entre los aislados de *E. coli*.

Una vez caracterizados los aislados de *E. coli* por estos tres métodos, se realizó un estudio individual de los brotes clínicos. La conclusión más relevante que se puede extraer de los resultados obtenidos es la **elevada diversidad y heterogenicidad** de las cepas responsables de la colibacilosis.

En el estudio individual de los brotes clínicos, se puede concluir que aproximadamente el 45% de los brotes estudiados, se deben a una cepa mayoritaria que representa un porcentaje mayor del 50% de los aislados. Esto significa que, los brotes de colibacilosis aviar son en su mayoría y según nuestros datos, causados por más de una cepa.

La gran diversidad y heterogenicidad de *E. coli* demostrada en este estudio sugiere, como punto indispensable, caracterizar y conocer cómo son las cepas de *E. coli* de nuestra granja para poder llevar a cabo un programa de inmunización lo más efectivo posible.

Bibliografía:

- Amara, A., Zakia, Z., and Bouzoubaa, K., "Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated in Morocco from chickens with colibacilosis" *Veterinary Microbiology*, 1995, 43: 325-330.
- Barnes, H. J., Gross, W. B., 1997 "Colibacillosis". *Diseases of poultry*, 9 edition.
- Barnes, H. J., Vaillancourt, J. P., Gross, W. B., "Colibacillosis" *Diseases of Poultry*, 2003, 11th Edition, Section II, Chapter 18
- Blanco, M., Blanco, J. E., Mora, A., Blanco, J., "*Escherichia coli* septicémicos aviares: serotipos, factores de virulencia, resistencia a antibióticos y desarrollo de vacunas" Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela (LUGO). *Medicina Veterinaria*, 1996a, vol. 13 n° 10.
- Blanco, J. E., Blanco, M., Mora, A., Croas, C., Blanco, J., "*Escherichia coli* septicémicos aviares: problemática en España" *Medicina Veterinaria*, 1996c, 13: 680-686
- Blanco, J., Blanco, M., Mora, A. and Blanco, J., "*Prevalence of Bacterial Resistance to quinolones and other antimicrobials among Avian Escherichia coli Strain isolated from septicemic and healthy chickens in Spain*" *Journal of clinical Microbiology*, 1997a, 2184-2185.
- Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J. E., Mora, A., Alonso, M. P., González, E. A., and Bernárdez, M. I., "Enterobacterias: características generales. Género *Escherichia*" *Manual de Microbiología Veterinaria*, S. Vadillo, S. Píriz and E. Mateos, 2002, capítulo 21: 301-325.
- Buxadé, C., "La gallina ponedora" 2000, 2ª Edición.
- Chansiripornchai, N., Ramasoota, P., Sasipreeyajan, J., Svenson, S. B., "Differentiation of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strains by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis" *Veterinary Microbiology*, 2001, 80: 75-93.
- Da Silveira, W., Ferreira, A., Brocchi, M., de Hollanda, L. M., Pestana de Castro, A., Tatsumi Yamada, A. and Lancellotti, M., "Biological Characteristics and pathogenicity of avian *Escherichia coli* strains" *Veterinary Microbiology*, 2002, 85: 47-53.

- Delicato, E. R., Guimaraes de Brito, B., Gaziri L. C. and Vidotto, M. C., "Virulence-associated genes in *Escherichia coli* isolates from poultry with colibacillosis" *Veterinary Microbiology*, 2003, 94: 97-103. Mellata et al., 2003
- Dho-Moulin, M., "Les *Escherichia coli* pathogènes des volailles." *Annales de Médecine Vétérinaire*, 1993, 137, 353-357.
- Dho-Moulin, M., and Fairbrother, J. M., "Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)" *Veterinary Research*, 1999, 30 (2-3): 299-316.
- Dho-Moulin, D., Répérant, M., Laurent, S., Brée, A., Mignon, S., Germon, P., Rasschaert, D and Schouler, C., "Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns" *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, Vol. 45, No. 10: 3366-3376.
- Dozois, C. M., Chanteloup, N., Dho-Moulin, M., Bree, A., Desautels, C., and Fairbrother, J. M., "Bacterial colonization and in vivo expression of F1 (Type-1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic *Escherichia coli*" *Avian Diseases*, 1994, 38: 231-239.
- Ewers, C., Janben, T., and Wieler, L. H., "Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC)" *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 2003, 116: 381-395.
- Ewers, C., Janben, T., Kiebling, S., Philipp, H. C., Wieler, L. H., "Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia en poultry" *Veterinary Microbiology*, 2004, 104: 91-101.
- Ewers, C., Janben, T., Kiebling, S., Philipp H. C., and Wieler, L. H., "Rapid detection of virulence-associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* by polymerase chain reaction" *Avian Diseases*, 2005, 49:269-273.
- Filali, E., Bell, J. G., Houadfi, M. E. I., Huggens, M. B., Cook, J. K., "Antibiotic resistance of *Escherichia coli* strain isolated from chickens with colisepticemia in Morocco" *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 1988, 11: 121-124.
- Garrity, G. M, Bell, J. A., Lilburn, T. G. "Taxonomic outline of the Prokaryotes". In "*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*" 2nd Edition (2004).
- Geornaras, I., Hastings, J. W., von Holy, A., "Genotypic analysis of *Escherichia coli* strains from poultry carcasses and their susceptibilities to antimicrobial agents" *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68 (9): 4698.
- Gibert, M. "Detección y caracterización de aislados de *Escherichia coli* de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras". Tesis Doctoral, 2009.
- Giurov, B., "Sensitivity to drugs of *Escherichia coli* strains isolated from poultry with colisepticemia" *Vet. Med. Nauki*. 1985; 22(5):16-24.
- Gross, W. B., Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., Reid, W. M., Yoder, H. W., "Colibacillosis" *Diseases of poultry*, 9 ed. Ames: Iowa States University Press, 1991, 138-144.
- Gross, W. G., "Diseases due to *Escherichia coli* in poultry" in: Gyles C. L. (Ed), *Escherichia coli* in domestic animals and humans, CAB International, Wallingford, 1994, 237-259.
- Johnson, T. J., Skyberg, J., and Nolan, L. K., "Multiple antimicrobial resistance region of a putative virulence plasmid from an *Escherichia coli* isolate incriminated in avian colibacillosis" *Avian Diseases*, 2004, 48 (2): 351-60.
- Johnson, T. J., Siek, K., E., Johnson, S., and Nolan, L. K., " DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid-encoded virulence genes among avian *Escherichia coli* strains" *Journal of Bacteriology*, 2006a, 745-758.
- Jordan, F. T., Williams, N. J., Wattret, A., and Jones, T., "Observations on salpingitis, peritonitis and salpingoperitonitis in a layer breeder flock". *The Veterinary Record*, 2005, 157(19): 573-7.
- Kariyawasam, S., Wilkie, B. N., Hunter, D. B., Gyles, C. L. "Systemic and mucosal antibody responses to selected cell surface antigens of avian pathogenic *Escherichia coli* in experimentally infected chickens" *Avian Diseases*, 2002, 46: 668-678.
- Kawano, M., Yaguchi, K., and Osawa, R., "Genotypic analyses of *Escherichia coli* isolated from chicken with colibacillosis and apparently healthy chickens in Japan" *Microbiology and Immunology*, 2006, 50 (12): 961-966.
- La Ragione, R. M., and Woodward, M. J., "Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticemia" *Research in Veterinary Science*, 2002, 73: 27-35.
- Landman, W. J., and Cornelissen, R. A., "*Escherichia coli* salpingitis and peritonitis in layer chickens: an overview" *Tijdschr Diergeneeskd*, 2006, 15; 131(22): 814-22.
- Nakamura, K., Yuasa, N., Abe, H., and Narita, M., "Effect of infectious bursal disease virus on infections produced by *Escherichia coli* of high and low virulence in chickens" *Avian Pathology*, 1990, 19 (4): 713-721.
- Nakamura, K., Cook, J. K. A., Frazier, J. A., and Narita, M., "*Escherichia coli* multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or *Escherichia coli*." *Avian Diseases*, 1992a, 36: 881-890.

- Margall, N., Domínguez, A., Prats, G., Salleras, L., “*Escherichia coli* Enterohemorrágico” Revista Española de Salud Pública, 1997, 71: 437-443.
- McPeake, S. J. W., Smyth, J. A., and Ball, H. J., “Characterisation of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) associated with colisepticaemia compared to faecal isolates from healthy birds” Veterinary Microbiology, 2005, 110: 245-253.
- Mellata, M., Dho-Moulin, M., Dozois, C. M., Curtiss, R., Peter, K. Brown, Pascal, A., Brée, A., Desautels, C., and Fairbrother, J. M., “Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* to serum and in pathogenicity” Infection and Immunity, 2003a, 536-540.
- Mokady, D., Gophna, U., and Ron, E. Z., “Extensive Gene Diversity in Septicemic *Escherichia coli* Strains” Journal of Clinical Microbiology, 2005, vol. 43, n° 1: 66–73.
- Monroy, M. A., Knöbl, T., Bottino, J. A., Astolfi, C. S., and Ferreira, A. J.,” Virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates obtained from broiler breeders with salpingitis” Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 2005, 28: 1-15.
- Rosario, C., López, A. C., Téllez, I. G., Navarro, O. A., Anderson, R. C., Eslava, C. C., “Serotyping and virulence genes detection en *Escherichia coli* isolated from fertile and infertile eggs, dead-in-shell embryos, and chickens with yolk sac infection” Avian Diseases, 2004, 48 (4): 791-802.
- Siek, K., Giddings, C. W., Doetkott, C., Johnson, T. J., and Nolan, L. K., “Characterizing the APEC pathotype” Veterinary Research, 2005a, 36, 241-256.
- Siek, K., Giddings, C. W., Doetkott, C., Johnson T. J., Fakhr, M. K., and Nolan, L. K., “Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis” Microbiology, 2005b, 151: 2097-2110.
- Schroeder, C. M., Meng, J., Zhao, S., DebRoy, C., Torcolini, J., Zhao, C., McDermott, P. F., Wagner, D. D., Walker, R. D., White, D. G.,” Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128, and O145 from animals and humans” Emerging Infectious Diseases, 2004, 8 (12):1409-14.
- Skyberg, J., Shelley, M., Horne, Giddings, C. W., Wooley, R. E., Gibbs, P. S., and Nolan, L. K., “Characterizing avian *Escherichia coli* isolates with multiplex polymerase chain reaction” Avian Diseases, 2003, 47: 1441-1447.
- Todar, K., “Pathogenic *E. coli*” en <http://www.textbookofbacteriology.net/> University of Wisconsin-Madison, Department of Bacteriology, 2008.
- Trampel, D. W., Wannemuehler, Y., Nolan, L. K., “Characterization of *Escherichia coli* isolates from peritonitis lesions in commercial laying hens” Avian Diseases, 2007, 51: 840-844.
- Vandekerchove, D., Herdt, P. D., Laevens, H., Butaye, P., Meulemans, G., and Pasmans, F., “Significance of interactions between *Escherichia coli* and respiratory pathogens in layer hen flocks suffering from colibacillosis-associated mortality” Avian Pathology, 2004a, 33(3): 298-302.
- Vandekerchove, D., De Herdt, P., Laevens, H. and Pasmans, F., “Colibacillosis in caged layer hens: characteristics of the disease and the aetiological agent” Avian Pathology, 2004c, 33(2): 117-125.
- Vandekerchove, D., Vandemaele, F., Adriaensen, C., Zaleska, M., Hernalsteens, J. P., De Baets, L., Butaye, P., Van Immerseel, F., Wattiau, P., Laevens, H., Mast, J., Goddeeris, B., and Pasmans, F., “Virulence associated traits in avian *Escherichia coli*: comparison between isolates from colibacillosis-affected and clinically healthy layer flocks” Veterinary Microbiology, 2005, 108: 75-87.