

## Situação epidemiológica da micoplasmose aviária no Estado do Rio de Janeiro\*

Valéria Christina Magalhães Teixeira<sup>1,2+</sup>, Daniela de Queiroz Baptista<sup>2</sup>, Fernanda Carla Carlos<sup>1</sup>, Willker Rocha de Menezes<sup>1</sup>, Daniela Sabroza José<sup>1</sup>, Maria Lúcia Barreto<sup>1</sup>, Dayse Lima da Costa Abreu<sup>1</sup>, Virginia Léo de Almeida Pereira<sup>1</sup> e Elmiro Rosendo do Nascimento<sup>1</sup>

**ABSTRACT.** Teixeira V.C.M., Baptista D.Q., Carlos F.C., Menezes W.R., José D.S., Barreto M.L., Abreu D.L.C., Pereira V.L.A. & Nascimento E.R. [Epidemiological situation of avian mycoplasmosis in the State of Rio de Janeiro, Brazil.] Situação epidemiológica da micoplasmose aviária no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 37(4):379-385, 2015. Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24320-340, Brasil. E-mail: petlela@hotmail.com

This study was conducted to characterize the Mycoplasmosis epidemiological situation in Rio de Janeiro State. The state was divided into three regions considered significant in poultry production in the state and 252 samples of tracheal specimens were taken, using swabs dipped in 1.5ml of Frey medium and 2.5 ml of blood from 884 birds, in 47 flocks, from 11 broiler chickens farms, 6 laying hens farms and 1 broiler breeders farm, of which were evaluated 334 broilers, 205 laying hens and 345 broilers breeders. The serums were subjected to Rapid Serum Agglutination (RSA) and ELISA for detection of antibodies against *Mycoplasma gallisepticum* (MG) and *M. synoviae* (MS) and the swabs used in the polymerase chain reaction (PCR) for those agents detection. Were obtained by SAR for MG and MS in the 884 birds studied, frequencies of 14.25% (126/884) and 13.68% (121/884), respectively. By ELISA, were obtained 16.17% (143/884) for MG and 15.61% (138/884) for MS. According to the type of production, it was found in broilers chickens by SAR, 11.37% (38/334) for MG and 9.5% (32/334) for MS and in the ELISA, 9.28% (31/334) for MG and 9.88% (33/334) for MS. In laying chickens, the frequency of positive birds by SAR for MG and MS were in an amount of 42.92% (88/205) and 43.41% (89/205), respectively, and by ELISA, 54.63% (112/205) for MG and 49.75% (102/205) for MS. The broiler breeders shown to be negative for MG by SAR and by ELISA, but for MS, 0.86% (2/345) were positive only by ELISA. When comparing the frequencies for MG and MS in the flocks studied, by SAR, was obtained a total of positivity of 55.31% (26/47) for MG and 63.82% (30/47) for MS, and by ELISA, 51.06% (24/47) and 68.08% (32/47), respectively. For each type of production, was obtained for the broilers chickens a positivity to the SAR of 40% (10/25) for MG e 56% (14/25) for MS; and to the ELISA, 28% (7/25) e 60% (15/25) for MG and MS, respectively. In laying chickens was obtained values of 80% (16/20) for the MG and MS by SAR, whereas by ELISA, was ob-

---

\* Recebido em 15 de dezembro de 2014.

Aceito para publicação em 14 de maio de 2015.

<sup>1</sup> Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Tecnologia e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24320-340, Brasil.

<sup>+</sup> Autora para correspondência, E-mail: petlela@hotmail.com

<sup>2</sup> Médico-veterinário, Coordenação Estadual de Defesa Sanitária Animal, Secretaria Estadual Agricultura e Pecuária do Estado do Rio de Janeiro, Alameda São Boaventura, 770, Fonseca, Niterói, RJ 24120-191, Brasil.

tained 85% (17/20) for MG and 75% (15/20) for MS. In breeders, by ELISA both two flocks studied were positive only for MS. By PCR, the total of positivity for MG and MS were in an amount of 1.19% (3/252) and 9.92% (25/252), respectively. For each type of production, were obtained 0.78% (1/127) of positive for MS in broilers chickens. In laying hens chickens, the results were 2.6% (3/115) positive for MG and 20.86% (24/115) for MS. About the broiler breeders, there was no positivity by PCR. The frequency of positives for MG and MS, by PCR, in the total of the flocks studied were, respectively, 2.12% (1/47) and 21.27% (10/47). By type of production, were not found positive flocks for MG, however, for MS was obtained 4% (1/25) in the broilers. In laying chickens, it was verified that 5% (1/20) of the flocks were positive for MG and 45% (9/20) for MS. All flocks of broiler breeders were negative for MG and MS. Higher prevalence for MS were detected in the laying hens farms than in the broilers farms and breeders farm, such as by serology as by PCR. The prevalence of MG was higher in broilers chickens than in broilers breeders. There was high positivity in laying hens, whose data was not considered because included vaccinated chickens. There were differences in the results obtained for the broilers flocks and laying hens flocks and in the positivity among the flocks, which can be attributed to differences in farm building and structures, in the ambience and manger inherent to each type of production. In this research for MG and MS in poultry production, was obtained higher frequency of positive by ELISA than by SAR, with a low agreement between the tests.

KEY WORDS. *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, poultry, diagnosis.

**RESUMO.** Realizou-se um estudo para caracterizar a situação epidemiológica da Micoplasmose no Estado do Rio de Janeiro, o qual foi dividido em três regiões consideradas expressivas em produção avícola no Estado. Foram realizadas coletas de 252 espécimes de traqueia, utilizando suabes imersos em 1,5ml de meio de Frey e 2,5 ml de sangue de 884 aves, em 47 lotes, provenientes de 11 propriedades de criação de frangos de corte, 6 de postura e em 1 de matrizes pesadas, das quais foram avaliados 334 frangos de corte, 205 galinhas de postura e 345 matrizes pesadas. Os soros foram submetidos à Sorroaglutinação rápida (SAR) e ao ELISA para detecção de anticorpos contra MG e MS e os suabes utilizados na reação em cadeia pela polimerase (PCR), para detecção desses agentes. Foram obtidas à SAR para *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *M. synoviae* (MS) nas 884 aves estudadas, frequências de 14,25% (126/884) e 13,68% (121/884), respectivamente. Ao ELISA, foram obtidos 16,17% (143/884) para MG e 15,61% (138/884) para MS. De acordo com o tipo de produção, verificou-se nos frangos de corte pela SAR 11,37% (38/334) para MG e para MS, 9,5% (32/334) e no ELISA, 9,28% (31/334) para MG e 9,88% (33/334) para MS. Em galinhas de postura, as frequências de aves positivas à SAR para MG e MS foram de 42,92% (88/205) e 43,41% (89/205), respectivamente, e ao ELISA, 54,63% (112/205) para MG e 49,75% (102/205) para MS. As matrizes pesadas apresentaram-se negativas para MG à

SAR e ao ELISA, mas para MS, 0,86% (2/345) foram positivas apenas ao ELISA. Quando comparadas as frequências para MG e para MS nos lotes estudados, à SAR, obteve-se um total de positividade de 55,31% (26/47) para MG e 63,82% (30/47) para MS, e ao ELISA, 51,06% (24/47) e 68,08% (32/47), respectivamente. Por tipos de produção, obteve-se para os frangos de corte uma positividade à SAR de 40% (10/25) para MG e 56% (14/25) para MS; e ao ELISA, 28% (7/25) e 60% (15/25) para MG e MS, respectivamente. Em galinhas de postura, obteve-se valores de 80% (16/20) para MG e MS à SAR, enquanto que ao ELISA, obteve-se 85% (17/20) para MG e 75% (15/20) para MS. Nas matrizes, ao ELISA os dois lotes estudados foram positivos apenas para MS. À PCR, os coeficientes de positividade total das aves para MG e MS foram de 1,19% (3/252) e 9,92% (25/252), respectivamente. Por tipos de produção, foram obtidos 0,78% (1/127) de positividade para MS em frangos de corte. Nas galinhas de postura, os resultados foram 2,6% (3/115) positivos para MG e 20,86% (24/115) para MS. Quanto as matrizes, não houve positividade à PCR. A frequência de positivos para MG e MS, à PCR, no total de lotes estudados foi, respectivamente, 2,12% (1/47) e 21,27% (10/47). Por tipo de produção, não foram encontrados lotes positivos para MG, entretanto para MS obteve-se 4% (1/25) nos frangos. Na postura comercial, verificou-se que 5% (1/20) dos lotes foram positivos para MG e 45%

(9/20), para MS. Todos os lotes de matrizes pesadas foram negativos para MG e MS. Foi detectada maior prevalência para MS nas criações de postura que nas criações de frangos de corte e reprodução tanto pela sorologia como pela PCR. A prevalência de MG foi maior em frangos de corte que nas matrizes pesadas. Houve alta positividade em poedeiras comerciais, não sendo considerados esses dados porque incluíam galinhas vacinadas. Houve diferença nos resultados obtidos para as criações de frangos de corte e de postura comercial e na positividade entre os lotes, o que pode ser atribuído às diferenças nas instalações, na ambiência e no manejo inerentes ao tipo de produção. Na pesquisa para MG e MS nas criações avícolas, foi obtida maior frequência de positivos ao ELISA que à SAR, com uma fraca concordância entre os testes.

PALAVRAS-CHAVE. *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, avicultura, diagnóstico.

## INTRODUÇÃO

O Brasil se mantém desde 2004 na posição de maior exportador mundial de carne de frango, totalizando em 2013 a produção de 12.308 milhões de toneladas, com uma média nacional de consumo de 41,8Kg por habitante /ano. O mercado interno absorve 68,4% da produção, enquanto que 31,6% são destinados à exportação. Em relação à produção de ovos comerciais, ocorreu um aumento de 7,4%, comparado com 2012, chegando a um consumo per capita nacional de 168,7 unidades por habitante/ano e o Brasil se mantendo na sétima posição como produtor mundial (ABPA 2014).

O Estado do Rio de Janeiro já foi considerado o maior produtor nacional de carne de frango nas décadas de 1960 e 1970 (UBABEF 2011). Atualmente mantém um volume de produção muito aquém do registrado para outros estados da mesma região. A avicultura industrial do Estado abastece entre 25% a 30% da demanda fluminense de carne de frango e a produção de ovos não é suficiente para suprir a demanda do município do Rio de Janeiro, sendo abastecido por outros Estados do sudeste como Espírito Santo, Minas Gerais e São Paulo. Segundo dados fornecidos pela Coordenação Estadual do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) da Secretaria de Agricultura e Pecuária do Estado do Rio de Janeiro (SEAPEC) em entrevista, a avicultura fluminense é constituída por 20 empresas produtoras de frangos de corte, 6 de ovos comerciais e apenas uma granja de reprodução, produzindo ovos embrionados que são incubados no Espírito Santo para produção de pintos de corte. Paradoxalmente, o Rio de Janeiro é o segundo estado do país com maior valor de despesa média familiar com

alimentação, só perdendo para São Paulo (IBGE 2014), o que representa uma boa perspectiva para o incremento da atividade avícola através de tratativas para um programa de reestruturação da avicultura no Estado.

O PNSA foi criado no Brasil para regulamentar as ações de Defesa Sanitária em avicultura, e inclui o controle das micoplasmoses, dentre outros, preconizando medidas de biossegurança e indicação de exames laboratoriais visando o monitoramento e o diagnóstico eficiente e rápido dessas doenças de modo a permitir ações adequadas para conter a sua disseminação. Os testes laboratoriais recomendados pela legislação do PNSA são fundamentais para monitorar e conseqüentemente manter níveis satisfatórios da sanidade nos plantéis, assim como estabelecer critérios para certificações. (Brasil 1994, Brasil 2001). Estudos sorológicos viabilizam a pesquisa de anticorpos contra micoplasmas pelas técnicas de soraglutinação rápida em placas (SAR) e ELISA, dentre outras, enquanto que a reação em cadeia da polimerase (PCR), possibilita a detecção do patógeno nas estruturas analisadas com rapidez, especificidade e sensibilidade (Brasil 2001). Essa técnica tem o potencial de auxiliar a avicultura industrial a evitar perdas, pois pelo tempo reduzido de confirmação do diagnóstico, permite agilidade e rapidez no controle do agente, evasão e propagação no ambiente (Jarquin et al. 2009).

Das 20 espécies isoladas de aves, os principais agentes patogênicos para galinhas e perus são *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *M. synoviae* (MS), *M. meleagridis* (MM) e *M. iowae* (MI). A micoplasmose tem distribuição mundial e provoca perdas econômicas consideráveis devido aos prejuízos em frangos de corte e poedeiras comerciais que se acumulam desde a produção das matrizes, pela redução na eclodibilidade dos ovos até o abate, com a condenação de carcaças por aerossaculite, e a produção de ovos, com perda da qualidade interna e externa, além de outras perdas com profilaxia e uso de drogas terapêuticas (Mohammed et al. 1987, Hoerr et al. 1994, Nascimento & Pereira 2009). Em galinhas de postura, ressalta-se ainda uma anormalidade no ápice da casca ("Eggshell Apex Abnormalities" - EAA), que afeta a resistência das cascas, favorecendo as trincas e quebras, além de reduzir o tempo de armazenagem dos ovos (Feberwee et al. 2009, Brandão et al. 2014). Algumas estimativas indicam que mais de 80% das granjas de aves em todo o mundo são infectadas por MG e/ou MS, fazendo destas infecções as mais frequentes e dispendiosas para a avicultura (Shane 2005, CFSPH 2007, Nunes 2008). O monitoramento das infecções por *Mycoplasma* spp. pode fornecer subsídios para o aprimoramento da vigilância epidemiológica, possibilitando a avaliação de fatores de risco na ocorrência de micoplasmose. O presente estudo, portanto, teve por objetivo conhecer a situ-

ação epidemiológica da micoplasmose aviária no Estado do Rio de Janeiro e estimar as frequências das infecções por MG e MS em frangos de corte, galinhas de postura e matrizes.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi executado na Universidade Federal Fluminense (UFF) em parceria com a Coordenação de Defesa Sanitária Animal da SEAPEC, no período de maio de 2013 a outubro de 2014.

Para que fossem conhecidas as diferenças regionais da micoplasmose aviária, o Estado do Rio de Janeiro foi dividido em três regiões produtoras de aves, levando-se em consideração finalidades da produção, a concentração de aves e estabelecimentos avícolas de cada região que integram o polo avícola do Estado. Neste estudo, considerou-se a região 1, compreendendo os municípios de São José do Vale do Rio Preto, Teresópolis, Bom Jardim e Duas Barras, na região Serrana; região 2, formada pelos municípios de Rio Claro e Barra do Piraí representando a região do Médio Paraíba; e a região 3, referente ao Centro Sul Fluminense, composta pelo município de Paraíba do Sul, perfazendo um total de 18 propriedades estudadas em 7 municípios do Estado (Tabela 1).

O Estado do Rio de Janeiro tem 92 municípios, entretanto apenas 15 deles desenvolvem produção avícola para fins comerciais, conforme dados da SEAPEC e nesse caso, 8,69% (8/92) dos municípios foram avaliados. O delineamento amostral estimou um número mínimo de aves a serem examinadas dentro de cada lote estudado, de forma a permitir que pelo menos uma galinha ou frango de corte positivo fosse detectado, caso a micoplasmose estivesse presente. Segundo dados do IBGE sobre a pecuária em 2012 (Quadro 1), o Estado do Rio de Janeiro tem 11.129.766 de aves (galos, frangas, frangos e pintos) e 1.013.635 galinhas (IBGE 2014). As 18 propriedades estudadas tinham um total de 2.657.194 aves e foram investigados 47 lotes, totalizando 774.390 aves, nos 8 municípios em que foram realizadas as coletas. O cálculo da amostragem foi realizado considerando-se uma prevalência estimada de 25% (P) para a micoplasmose pela análise de resultados anteriores (Minharro et al. 2001, Cardoso et al. 2003, Mendonça et al. 2004, Buchala et al. 2006, Santos et al. 2007), um intervalo de

confiança (IC) de 95%, um erro amostral de 5% e cálculo amostral por tipo de produção (corte, postura e matrizes), utilizando a fórmula  $n = Z^2 \cdot P \cdot Q / E^2$  (Thrusfield 2004). A amostragem obtida foi 864, sendo utilizado 20 aves a mais na tentativa de correção de erro amostral. Em cada um dos 47 lotes com população estimada de 500 aves (N), foram selecionadas pelo menos 11 aves, tendo em vista o intervalo de confiança (IC) de 95% de acordo com a fórmula  $n = [1 - (1-IC)^{1/D}] \times [N - (D - 1) / 2]$ , onde D é igual a 25% de N. Garantindo que se houver ave infectada ela será selecionada (Thrusfield 2004).

A análise estatística foi feita pelos Testes não paramétricos de G: Independência para a comparação da positividade entre lotes em galinhas de postura e Kruskal-Wallis para frangos de corte, todos ao nível de 95% de intervalo de confiança (Thrusfield 2004).

Foram realizadas coletas de 252 espécimes de traqueia, utilizando suabes imersos em 1,5ml de meio de Frey e 2,5 ml de sangue de 884 aves, provenientes de 11 propriedades de criação de frangos de corte, 6 de postura e em 1 de matrizes pesadas (Tabela 1).

As alíquotas de sangue foram centrifugadas e os soros obtidos, inativados a 56°C por 30 minutos, e na sequência submetidos à prova de soroglutinação rápida em placa (SAR) e ao ELISA.

Para a SAR, foram utilizados antígenos comerciais para MG e MS e soros-controles positivo e negativo (INATA, MG, Brasil). Foram adicionadas partes iguais (0,25ml) de antígeno e soro em placa de vidro quadriculada, homogeneizando por até 2 minutos. O resultado foi verificado pela presença ou não de grumos, indicando a reação antígeno-anticorpo, e comparação aos soros-controles. Primeiramente, todos soros foram testados sem diluição e aqueles que apresentaram reatividade frente aos antígenos testados, foram diluídos na proporção de 1:5 e 1:10 e novamente submetidos à SAR. Foram considerados positivos para MG e/ou MS os soros que apresentaram aglutinação na diluição 1:10 (Brasil 1994b).

Para a detecção de anticorpos específicos para MG e MS pelo ELISA, foram utilizados os "kits" comerciais da série Flock Chek® (IDEXX Laboratories, Inc., EUA), conforme as instruções do fabricante.

Os 252 espécimes de traqueia foram submetidas à PCR para detecção de MG e/ou MS. A extração de

Tabela 1. Número de propriedades, de produtores, de lotes e de espécimes clínicos de galinhas analisados para diagnóstico da micoplasmose aviária por tipo de produção avícola e municípios de localização no Rio de Janeiro de maio de 2013 a outubro de 2014.

Tipo de produção	Municípios	Propriedades	Produtores	Lotes	Soros	Suabes	Total de aves nos lotes amostrados	Total de aves nas granjas
Matrizes	Paraíba do Sul	1	1	2	345	10	135.082	552.942
Postura Corte	São José do Vale do Rio Preto	6	6	20	205	115	139.820	168.000
	Barra do Piraí	1	1	5	59	25	130.330	740.863
	Bom Jardim	2	2	2	31	11	15.500	40.000
	Duas Barras	1	1	2	31	10	36.500	63.000
	Rio Claro	1	1	7	85	34	166.173	501.389
	São José do Vale do Rio Preto	4	2	6	85	32	95.000	256.000
	Teresópolis	2	1	3	43	15	55.985	335.000
Total	7	18	15	47	884	252	774.390	2.657.194

DNA foi feita pelo método de fenol-clorofórmio, conforme técnica adaptada de Sambrook et. (1989). Para a amplifica o foram utilizados pares *primers* específicos MG (MGB1: CGT GGA TAT CTT TAG TTC CAG CTG C; MGB2: GTA GCA AGT TAT AAT TTC CAG GCA T(NASCIMENTO,1991); e MS (MS-f: GAG AAG CAA AAT AGT GAT ATC A; MS-r: CAG TCG TCT CCG AAG TTA ACA A (LAUERMAN,1998) que amplificam fragmentos de 481 pb e 207pb, respectivamente. As re o es contiveram: 4 L de DNA ,15,2/ L de água para PCR (Ludwig Biotec), 2,5 L tampão 10X (Ludwig Biotec), 1,0/ L MgCl<sub>2</sub> 50mM/ L (Ludwig Biotec), 1,2 / L dNTPs 10mM (Ludwig Biotec), 0,5 dos primers BI e B2 100pmol e MSf e MSr 100pmol (Ludwig Biotec), Taq DNA 5U/  L, totalizando 25 L. Para cada mistura foi utilizado um controle negativo (sem DNA) e um controle positivo, utilizando uma cepa ATCC 15302 de MG ou ATCC 25204 para MS. A ciclagem utilizada foi: desnatura o inicial de 94 C por 5 min; 40 ciclos compostos de desnatura o de 94 C por 1 min, anelamento de 50 C (MS) ou 55 C (MG) por 1 min e extensão de 72 C por 2 min; seguidos de extensão final de 72 C por 10 min.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As frequências de re o es positivas obtidas   SAR para MG e MS nas 884 aves estudadas, foram de 14,25% (126/884) e 13,68% (121/884), respectivamente. Ao ELISA, foram obtidos 16,17% (143/884) para MG e 15,61% (138/884) para MS. Não houve concordância ente os testes pelo Método Kappa ( $p < 0,05$ ). Quando testadas pela SAR, o risco das aves de postura serem positivas para MS foi sete vezes maior quando comparado com as aves de corte e pelo ELISA, esse risco aumentou para nove vezes (Odds Ratio,  $p < 0,0001$ ).

Caracterizando-se os resultados de acordo com o tipo de produ o, verificou-se nos frangos de corte pela SAR valores para MG de 11,37% (38/334) e para MS, 9,5% (32/334). J  no ELISA, obteve-se 9,28% (31/334) para MG e 9,88% (33/334) para MS.

Em galinhas de postura, as frequências de aves positivas   SAR para MG e MS foram de 42,92% (88/205) e 43,41% (89/205), respectivamente, e ao ELISA, 54,63% (112/205) para MG e 49,75%

(102/205) para MS (Tabela 1). Considerando-se que as aves foram vacinadas contra MG, não se pode concluir que os resultados sorológicos são dados de prevalência. A menor frequência de aves positivas para MG pela SAR em rela o ao ELISA, foram similares ao resultado obtido por Correzola et al. (2012) que relataram 86,3% de aves positivas para MG   SAR e ao ELISA, 88,4%, quando estudaram galinhas de postura vacinadas e não vacinadas na região de Bastos no estado de São Paulo. A diferença percentual entre os resultados destes estudos pode estar relacionada às idades das galinhas estudadas e   cepa vacinal utilizada, que foi MG-70 no Rio de Janeiro e MG ts-11 no trabalho realizado em Bastos, SP. A ocorrência de galinhas de postura soropositivas para MS foi maior em compara o com as galinhas soropositivas para MG pela SAR, apesar das aves serem vacinadas contra MG. Buchala et al. (2006), também descrevem uma maior prevalência para MS em galinhas de fundo de quintal, ou criatórios informais no Estado de São Paulo. As frequências encontradas por esse autor foram de 40,6% para MS e de 30,3% para MG, percentuais mais próximos aos obtidos neste trabalho, embora não tenha sido mencionada vacina o nas galinhas caipiras.

As matrizes pesadas apresentaram-se negativas para MG   SAR e ao ELISA, mas para MS, foram negativas   SAR e positivas ao ELISA em 0,86% (2/345) (Tabela 2).

Quando comparadas, as frequências para MG e para MS nos 47 lotes estudados pelas mesmas provas sorológicas, obteve-se um total de positividade para MG   SAR de 55,31% (26/47) e para MS, 63,82% (30/47). Ao ELISA, foram encontrados 51,06% (24/47) e 68,08% (32/47), respectivamente (Tabela 2).

Relacionando-se a positividade dos lotes aos diferentes tipos de produ o estudados, obteve-se para os frangos de corte uma positividade   SAR de 40% (10/25) para MG e de 56% (14/25) para MS; e ao ELISA, 28% (7/25) para MG e 60% (15/25) para MS.

Tabela 2. Frequência de *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *M. synoviae* (MS) pela Soroaglutina o Rápida (SAR) e ELISA em galinhas comerciais (*Gallus gallus*) no Estado do Rio de Janeiro, maio/2013 a outubro/2014.

Tipo de produ�o		SAR						ELISA				Total de aves	Total de lotes		
		MG		Freq MG+	MS		Freq MG+	MG		MS	Freq MG+				
		+	-		+	-		+	-						
Postura	Aves	88	117	42,92%	89	116	43,41%	112	93	54,63%	102	103	49,75%	205	20
	Lotes	16	04	80%	16	04	80%	17	03	85%	15	05	75,00%		
Corte	Aves	38	296	11,37%	32	302	9,5%	31	303	9,28%	33	301	9,88%	334	25
	Lotes	10	15	40%	14	11	56%	07	18	28%	15	10	60%		
Matrizes	Aves	0	345	0%	0	345	0%	0	345	0%	3	342	0,86%	345	02
	Lotes	0	02	0%	0	02	0%	0	02	0%	2	02	100%		
Total	Aves	126	758	14,25%	121	763	13,68%	143	741	16,17%	138	746	15,61%	884	47
	Lotes	26	21	55,31%	30	17	63,82%	24	23	51,06%	32	15	68,08%		

Tabela 3. Frequência de *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *M. synoviae* (MS) pela PCR em galinhas comerciais (*Gallus gallus*) no Estado do Rio de Janeiro, , maio/2013 a outubro/2014.

Tipo de produção		PCR				Total de aves	Total de lotes	
		MG		MS				
Postura	Aves	3	112	2,6%	24	228	20,86%	115
	Lotes	1	19	5%	9	11	45%	
Corte	Aves	0	127	0%	1	126	0,78%	127
	Lotes	0	25	0%	1	24	4%	
Matrizes	Aves	0	10	0%	0	10	0%	10
	Lotes	0	02	0%	0	02	0%	
Total	Aves	3	249	1,19%	25	227	9,92%	252
	Lotes	1	46	2,12%	10	37	21,27%	

Em lotes de postura, obteve-se valores de 80% (16/20) para MG e MS à SAR, enquanto que ao ELISA, obteve-se 85% (17/20) para MG e 75% (15/20) para MS. Nas matrizes foi obtida positividade ao ELISA apenas para MS nos dois lotes estudados.

Na análise de lotes de aves de postura positivos e negativos para MG e MS pela SAR e pelo ELISA, a diferença foi significativa ( $p < 0,0001$ ) quando analisadas pelo Teste G:Independencia. Nos lotes de frangos de corte também ocorreu variabilidade entre os lotes em relação à positividade quando realizada a mesma análise e também pelo Teste de Krukal-Wallis ( $p < 0,05$ ). A positividade maior encontrada nas criações de postura confirma os resultados obtidos por Danelli et al. (1999), que encontraram maior número de aves positivas no setor de poedeiras quando avaliou 111 galinhas oriundas de três diferentes tipos de produção, não obtendo diferenças significativas entre SAR e ELISA para MG. Pelo Teste de Krukal-Wallis, foi observada variação na positividade para MS em lotes de postura comercial e de corte pela SAR, entre o tipo de produção e entre os lotes, sendo a positividade para MS maior no segmento de postura do que no de corte ( $p < 0,05$ ), porém quando essa mesma análise foi aplicada para o ELISA, não houve diferença.

Quando analisadas por PCR, os coeficientes de positividade para MG e MS no total das aves foram de 1,19% (3/252) e 9,92% (25/252), respectivamente (Tabela 2). A frequência total de aves positivas para MS à PCR foi maior que a de MG, o que está de acordo com Ventura et al (2012), que mencionaram ter obtido valores maiores para MS (47,3%) em relação à MG (39,6%), quando pesquisaram 91 amostras de traqueias provenientes de aves de corte, postura e reprodução na Colômbia. Barros et al (2014) também corroboraram com esses achados quando obtiveram valores de 29,17% para MS e 4,17% para MG na avaliação pela PCR de 90 fran-

gos de corte e 30 galinhas de postura em Pernambuco. A maior prevalência dos resultados encontrados por esses autores, pode ser atribuída ao fato das amostras estudadas terem sido obtidas de aves com e sem problemas respiratórios.

Estudando-se as aves quanto as suas diferentes aptidões de produção, foram obtidos 0,78% (1/127) de positividade para MS nos frangos de corte. Nas galinhas de postura, observou-se para MG e MS, respectivamente, 2,6% (3/115) e 20,86% (24/115). Quanto as matrizes, não houve positividade nas aves pela PCR (Tabela 3).

Avaliando-se os lotes estudados, a frequência total de positivos para MG e MS à PCR foi, respectivamente, 2,12% (1/47) e 21,27% (10/47). Na análise pelos tipos de produção, não foram encontrados lotes de frangos de corte positivos para MG, entretanto para MS obteve-se 4% (1/25). Entre os lotes de postura comercial, verificou-se que 5% (1/20) foram positivos para MG e 45% (9/20), para MS. Todos os lotes de matrizes pesadas foram negativos para MG e MS (Tabela 3).

## CONCLUSÕES

Foi detectada maior prevalência para MS nas criações de postura que nas criações de frangos de corte e reprodução tanto pela sorologia como pela PCR.

A prevalência de MG foi maior em frangos de corte que nas matrizes pesadas. Houve alta positividade em poedeiras comerciais, não sendo considerados esses dados porque incluíam galinhas vacinadas.

Houve diferença nos resultados obtidos para as criações de frangos de corte e de postura comercial e na positividade entre os lotes, o pode ser atribuído às diferenças nas instalações, na ambiência e no manejo inerentes ao tipo de produção.

Na pesquisa para MG e MS nas criações avícolas, foi obtida maior frequência de positivos ao ELI-

SA que   SAR, com uma fraca concordância entre os testes.

Os lotes de matrizes foram considerados livres de micoplasma pela SAR e PCR.

## REFERÊNCIAS

- ABPA. Associa o Brasileira de Proteina Animal. Disponível em: [http://www.ubabef.com.br/publicacoes?m=75&date=2014-03/](http://www.ubabef.com.br/publicacoes?m=75&date=2014-03) Acesso em: 28/11/2014.
- Barros M.R., Nascimento N.R., Silva J.S., Júnior J.W.P., Santos S.B., Machado L.S., Silva R.C.F. & Mota R.A. Occurrence of *Mycoplasma synoviae* on commercial poultry farms of Pernambuco, Brazil. *Pesq Vet. Bras.* 34:953-956, 2014.
- Brasil. Portaria Ministerial N  193, de setembro de 1994. Institui o Programa Nacional de Sanidade Avícola no âmbito da SDA e cria o Comit  Consultivo do Programa de Sanidade Avícola. Diário Oficial da União, se o 1, 1994.
- Brasil. Portaria n  208, de 20 de dezembro de 1994. Aprova as Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratório de Diagnóstico das Micoplasmoses Avi rias do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, se o 1, 1994.
- Brasil. Instru o normativa n  44, de 23 de agosto de 2001. Aprova as normas técnicas para o controle e certifica o de núcleos e estabelecimento avícola para a Micoplasmose Aviária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, se o 1, 2001.
- Brandão M.D., Santos F.F., Machado L.S., Verinaud M.S., Oliveira J.M., Soares N.M., Nascimento E.R. & Pereira V.L. The effect of eggshell apex abnormalities on table egg quality during storage in 2 seasons of the year. *Poult Sci.* 2014 Oct;93(10):2657-62. doi: 10.3382/ps.2014-03991. Epub 2014 Aug 1.
- Buchala F.G., Ishizuka M.M., Mathias L.A. & Berchieri A.J., Castro A.G.M., Cardoso A.L.S.P., Tessari E.N.C. & Kanashiro A.M.I. Detec o de resposta sorológica contra micoplasma em aves de cria r rios de "fundo de quintal" próximos a explora es comerciais do estado de São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 73:143-148, 2006.
- Cardoso A.L.S.P., Tessari E.N.C., Castro A.G.M., Kanashiro A.M.I. & Stoppa G.F.Z. Monitoria sorológica da micoplasmose em plantéis de aves reprodutoras no Brasil através do teste de soroaglutina o rápida. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 73:23-26, 2006.
- Correzola L.M., Buchala F.G., Vitagliano S.M.M., Jordão R.S., Buim M.R. & Fava C. Del. Rea es sorológicas contra *Mycoplasma gallisepticum* em aves de postura de granjas comerciais no estado de São Paulo. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, SP, 28:041-047, 2012.
- CFSPH. The Center For Food Security and Public Health. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). Iowa: The Center For Food Security & Public Health - Iowa State University (CFSPH), 2007. Disponível em: <[http://www.cfsph.iastate.edu/factsheets/pdfs/avian\\_mycoplasmosis\\_mycoplasma\\_gallisepticum.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/factsheets/pdfs/avian_mycoplasmosis_mycoplasma_gallisepticum.pdf)> Acessado em 01 de jul. 2014.
- Danelli M.G.M., Nascimento E.R., Ferraz P.N., Menezes P.C.P., Lignon G.B. & Nascimento M.G.F. Desempenho dos testes de soroaglutina o rápida e ELISA frente ao isolamento no diagnóstico de *Mycoplasma gallisepticum* em galinhas. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 21:101-104, 1999.
- Ferberwee A., Dewit J.J. & Landman W.J.M. Induction of eggshell apex abnormalities by *M. synoviae*: field and experimental studies. *Avian Pathology*, 38:77-85, 2009.
- Hoerr F.J., Lockaby S.B. & Bickford A.A. Poultry Mycoplasma. Workshop-Histopathology, California, 1994. p.1-12.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de Dados. Estados@. Unidades da Federa o. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estados@/> Acesso em: 01/12/2014.
- Jarqu n R., Schultz J., Hannig I. & Ricke S.C. Development of a real-time polymerase chain reaction assay for the simultaneous detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* under industry conditions. *Avian diseases*, [online], 53:73-79, 2009. Disponível em: <http://cat.inist.fr/?amodele=affichn&cpsid=21291100>. Acesso em 21 de nov. 2014. Doi: 10.1637/8445-080808-reg.1.
- Lauerman L.H. Nucleic acid amplification assays for diagnosis of animal diseases. Auburn: American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, 1998.
- Leeson S. Potential of modifying poultry products. *J. Appl. Poultry Res.*, 2:380-384, 1993.
- Mendonça G.A., Nascimento E.R., Lignon G.B. & Pólo P.A. O emprego das provas de SAR e HI como rotina laboratorial para evidenciac o de *Mycoplasma gallisepticum* (MG). Trabalho apresentado na Conferência Apinco de ciências e tecnologia avícolas, Campinas. *Rev. Bras. Ciên. Av c.*, Supl.6:177, 2004. (Resumos)
- Minharro S., Linhares G.F.C., Andrade M.A., Rocha P.T. & Santana A.P. Envolvimento de *Escherichia coli*, de *Mycoplasma gallisepticum* e de *Mycoplasma synoviae* em lesões de sacos aéreos em frangos abatidos no estado de Goiás. *Ciên. Anim. Bras.*, 2:111-117, 2001.
- Mohammed H.O., Carpenter T.E. & Yamamoto R. Economic impact of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial layer flocks. *Avian Diseases* 31:477-82, 1987.
- Nascimento E.R. & Pereira V.L.A. Micoplasmoses, p.485-502. In: Berchieri A.J., Silva E.N., Fabio D.J., Sesti L. & Zuanaze M.A.F. (Eds), *Doen as das Aves*. FACTA, Campinas, 2009.
- Nascimento E.R., Yamamoto R., Herrick K.R. & Tait R.C. Polymerase Chain Reaction for Detection of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Diseases* 35:62-69, 1991.
- Nardi C.P.P., Lima A.L. M. & Baptista F. *Mycoplasma gallisepticum* in free-range chicken from Northern Tocantins State, Brazil. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 7:5271-5273, 2013.
- Nunes A.G.B. Anticorpos Anti-Salmonella pullorum, Anti-Mycoplasma gallisepticum e Anti-Mycoplasma synoviae, em Galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de Fundo de Quintal de Propriedades Rurais do Município de São José do Egito, Estado de Pernambuco. Monografia (Gradua o em Medicina Veterinária), Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande. Patos/PB, 2008. 36f.
- Sambrook J., Fritschi E.F. & Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 1989.
- Surai P.F. Selenium in Nutrition and Health. Univ. Press, Nottingham, UK. 2005.
- Santos B.M., Marín-Gómez S.Y., Yuliet S. & Paula A.C.B. Confiabilidade de um teste de triagem para micoplasmose aviária. *Vet. Zootec.* 1:18-23, 2007.
- Shane M.S. Handbook on Poultry Diseases. 2  ed. American Soybean Association, USA, 2005.
- Thrusfield M. Epidemiologia Veterinária. 2  ed. Editora Roca Ltda, São Paulo, 2004. 556p.
- UBABEF. União Brasileira de Avicultura e Exportadores de Frango. A saga da avicultura brasileira: como o Brasil se tornou o maior exportador mundial de carne de frango / [coordena o Sergio Costa; tradu o Vice Versa Tradu o Escrita e Interpreta o]. - Rio de Janeiro: Insight; São Paulo: UBABEF, 2011. 120p.
- Ventura C.E., Ramírez G. & Vera V. Detection and Differentiation of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* by PCR from Tracheal Swabs from Birds with Respiratory Symptoms. *Acta Biol. Colomb.*, 17:525-536, 2012.